

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique  
Université de Jijel



Faculté des Sciences  
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

# Mémoire

De fin D'Etudes En Vue de L'obtention du Diplôme D'études  
Universitaire Appliquées (D.E.U.A)

Option : Contrôle de Qualité et Analyses

Thème

*Les Champignons*

Membre du jury:

Encadreur : M<sup>elle</sup>. Laggoune/S

Examineur : Mr.Boudjerda



Présenté par :

- BOUDJERIHA Fatiha
- BOUANIKA Fairouz
- ZENADI Akila

Promotion 2008

## *Remerciement*

*Nous remercions dieu de tout puissant, qui nous a donné du courage et*

*De la Volonté, d'avoir réussi dans nos études.*

*Nous retenons à remercier toute personne qui a contribué de*

*Près ou loin à la réalisation de ce mémoire*

*Plus particulièrement :*

*Notre encadreur Melle LAGGOUNE SOHLEA qui nous encadré et*

*Soutenu par ses conseils, sa compréhension,*

*Sa gentillesse, ses encouragements nous tenons aussi à remercier*

*Les membres du jury d'avoir accepté d'examiner*

*Ce mémoire MR BOUDJERDA DJAMAL.*

*En fin notre respect à tous les enseignements de l'institut*

*Biologie de L'université de jijel.*

*Fatima\*\*\* Firouz\*\*\* Akila*

## SOMMAIRE

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Chapitre I : Généralité sur les moisissure</b>	
I-1- Introduction .....	2
I-2- Rappel sur les champignons .....	2
I-3- Définition des moisissures .....	3
I-4- Place des moisissures dans le monde Microbien .....	3
a- Protistes unicellulaires .....	3
b- Protistes pluricellulaires .....	3
c- Protistes Coénocytiques .....	3
I-5- Etude des moisissures .....	3
I-5-1- Caractères généraux .....	3
I-5-2- Classification des moisissures .....	4
a- Les Mastigomycotina .....	4
b- Les Zygomycotina .....	4
c- Les Ascomycotina .....	5
d- Les Basidiomycotina .....	5
e- Les Deuteromycotina (champignons imparfaits ou Fungi imperfecti) .....	5
I-5-3- Métabolisme des moisissures .....	5
A- Métabolites primaires .....	5
B- Métabolites secondaire .....	6
I-5-4- Mode de développement .....	6
I-5-5- La reproduction .....	7
A- Reproduction asexuée .....	7
B- Reproduction sexuée .....	7
I-6- La physiologie et les facteurs favorisant la contamination des aliments par les moisissures .....	8
I-6-1- La température .....	8
I-6-2- La teneur en eau .....	8
I-6-3- L'atmosphère gazeuse .....	9
I-6-4- L'influence de la nature de substrat .....	9
I-6-5- Le pH .....	10
I-6-6- La lumière .....	10

I-7- Prélèvements et méthodes d'identification des moisissures .....	10
<b>Chapitre II : L'influence des moisissures sur les aliments</b>	
II-1- Introduction .....	12
II-2- Altération des aliments .....	12
II-3- Différents origines de l'altération .....	12
II-4- Le mécanisme de l'altération .....	13
II-4-1- Les glucides .....	13
II-4-2- Les protéines .....	13
II-4-3- Les corps gras .....	14
II-5- Exemple sur le devenir des aliments contaminés par les moisissures produits alimentaires .....	14
A/ Céréales et dérivés .....	14
B/ Produits laitiers .....	14
C/ Viandes et charcuteries .....	15
D/ Œufs .....	15
E/ Oléagineux et tourteaux .....	15
F/ Légumes et fruits .....	15
G/ Boissons .....	15
II-6- Les espèces les plus répandus dans la production des mycotoxines .....	15
II-6-1- Les espèces toxigènes .....	16
A/ Les Aspergillus .....	16
B/ Les Fusarium .....	16
C/ Les pénicillium .....	16
II-6-2- Différents types de mycotoxines et leurs effets sur la santé humaine .....	16
A- Aflatoxine .....	17
B- Trichothécènes .....	17
C- Ochratoxine .....	18
D- Les patuline et l'acide de penicillique .....	18
E- Les mycotoxines œstrogéniques (Zéaralénone) .....	19
F- Citrinine .....	19
G Les Fumonisines .....	20
H- Les alcaloïdes de l'ergot du seigle .....	21



II-6-3- Les méthodes utilisées pour la recherche et le dosage des mycotoxines .....	22
II-6-4- Lutte et prévention .....	22
II-7-Quelques maladies causées par les moisissures pathogènes .....	23
II-7-1- Les mycoses .....	23
II-7-1-1-Définition .....	23
II-7-1-2- Habitat, mode de contamination et professions exposées .....	23
II-7-1-3-Physiopathologie des mycoses et leurs facteurs favorisants .....	23
II-7-1-4- Classification clinique et aspects pathologiques .....	24
1- Mycoses superficielles .....	24
a) Piedra blanche .....	24
b) Piedra noire .....	24
c) Dermatophytoses .....	24
2- Mycoses sous cutanés .....	25
a) Sporotrichoses .....	25
b) Chromomycoses .....	25
c) Mycétomes .....	25
3- Mycoses profondes .....	25
a) Aspergilloses .....	25
b) Histoplasmoses .....	26
c) Blastomycoses .....	26
d) Coccidioïdomycoses .....	27
e) Paracoccidioïdomycoses .....	27
f) Zygomycoses .....	27
II-7-2- Démarche diagnostic au laboratoire .....	27
II-7-2-1- Règles de bons prélèvements .....	27
II-7-2-2 Prélèvements .....	28
II-7-2-3- Examen direct .....	28
II-7-2-4- Culture .....	28
II-7-2-5- Incubation .....	28
II-7-2-6- Examen des colonies fongiques .....	28
a) Avec vaccinostyle .....	28
b) Avec un morceau de cellophane adhésive transparent ou scotch .....	28

II-7-2-7- Culture sur lame .....	28
a) Objectif .....	28
b) Préparation du matériel .....	28
c) Ensemencement .....	29
d) Lecture .....	29
II-7-2-8- Interprétation .....	29

### **Chapitre III : Les moyens de lutte et de prévention**

III-1- Introduction .....	30
III-2- Généralité .....	30
III-2-1- Identification et repérage des moisissures .....	30
A/ La fréquence des espèces des moisissures isolées .....	30
B/ Les degré de contamination .....	30
III-2-2- Recherche des particules biologiques des souches indésirables .....	31
III-3- Moyens de lutte .....	31
III-3-1- La solubilité des locaux .....	31
III-3-2- La propreté de surface de travail .....	32
III-3-3- L'hygiène du personnel .....	32
A/ Moyen physiques .....	32
1. Méthodes limitant le développement des moisissures .....	32
2. Moyens détruisant .....	32
B. Moyens chimiques .....	33
Conclusion .....	35

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau n°1 :</b> Températures cardinales de développement des moisissures. ....	08
<b>Tableau n°2 :</b> Principales moisissures pouvant se développer en fonction de l'activité de l'eau du support .....	09
<b>Tableau n°3 :</b> pH minimal et maximal pour la croissance de certaines moisissures. ....	10
<b>Tableau n°4 :</b> Principales mycotoxines liées à la consommation d'aliments pollués par des moisissures. ....	21
<b>Tableau n°5 :</b> Méthodes de lutte contre la contamination.....	23

## *Liste des Figures*

<b>Figure n°1 : structure chimique de aflatoxines.</b> .....	17
<b>Figure n°2 : structure chimique de trichothécènes.</b> .....	18
<b>Figure n°3 : structure chimique de ochratoxine</b> .....	18
<b>Figure n°4 : structure chimique de patuline.</b> .....	19
<b>Figure n°5: structure chimique de zéraférone.</b> .....	19
<b>Figure n°6 : structure chimique de citrinine.</b> .....	20



### *Liste des abréviations*

**AFB1:** Aflatoxine B

**AFG1 :** Aflatoxine G

**Aw:** Activity of water (activité de l'eau)

**°C :** Degré Celsius

**CO<sub>2</sub> :** Dioxyde de carbone

**CTT:** Citrinine

**ELISA :** Acronyme de Enzyme Linked Immunorbent Assay

**HR :** Humidité relative.

**H<sub>2</sub>S :** hydrogène sulfide

**Nm :** Nanomètre

**OTA :** Ochratoxine A

**O<sub>2</sub> :** Oxygène

**H<sub>2</sub> :** hydrogène

**pH :** Potentiel d'hydrogène

# Introduction

### **Introduction générale :**

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux, ubiquitaires hétérotrophes. Regroupent des milliers d'espèces qui colonisent de manière naturelle quasiment tous les types d'écosystèmes terrestres et certains milieux aquatiques (Bousseboua., 2002).

Ce sont des acteurs très importants du monde microbien qui sont connus depuis très longtemps (Boiron., 1996). Le plus souvent discrètes et peu perceptibles, les moisissures ne sont considérées pas les consommateurs d'aujourd'hui que comme des contaminants banals des aliments, certes bien importants quand ils gâchent les fruits, sans grandes importance et ne présentant pas de véritable danger (Cahagnier., 1998).

Auxiliaires précieuses de très nombreuses industries alimentaires et pharmacologiques de l'affinage des fromages à la production d'enzymes ou antibiotiques, les moisissures ont également de tout temps été adversaires de l'homme et son industrie (Cahagnier., 1998).

La physiologie de base de moisissures est aujourd'hui très bien connue, presque espèce par espèce et les relations des moisissures aux milieux environnementaux apparaissent tolérantes à l'acidité de milieu à basse températures ou encore à l'absence quasi-totale d'oxygène atmosphérique. Ce qui permet d'imaginer les problèmes posés à l'industrie alimentaire qui cherche de plus en plus à produire des aliments de longue conservation faciles à distribuer et à utiliser (Cahagnier., 1998).

Les actions nocives de ces microorganismes sont heureusement, largement compensées par leurs activités bénéfiques. Responsables de la destruction d'une grande partie de la matière organique terrestre, les moisissures contribuent largement à l'accomplissement des grands cycles biologiques naturels. Elles sont utilisées depuis fort longtemps par l'homme pour la préparation d'aliments, intervenant notamment comme agents de fermentation dans la fabrication des fromages. Elles synthétisent un grand nombre de substances complexes économiquement très importantes : enzymes, acides organiques, antibiotiques, alcaloïdes, etc. (Leveau et Bouix., 1993).

La connaissance de la biologie des moisissures est encore partielle. Cependant la compréhension des métabolismes primaires et secondaires et de la génétique de ces microorganismes permet de maîtriser de mieux en mieux leurs capacités de biosynthèse et leur mise à profit pour l'homme (Leveau et Bouix., 1993).

Donc, le but de cette étude est de montrer l'impact des moisissures sur la santé humaine, d'apporter au biologiste confronté à un champignon, une démarche diagnostic pratique, ainsi que les éléments morphologiques nécessaires à son identification et d'en trouver les moyens de lutte et de prévention.

Pour cela, on a divisé notre travail en trois chapitres :

- Le premier chapitre : Généralités sur les moisissures ;
- Le deuxième chapitre : L'influence des moisissures sur les aliments ;
- Le troisième chapitre : Les moyens de lutte et de prévention.

# **Chapitre I**

## **Généralité sur les moisissures**

**I-1- Introduction :**

Les moisissures ou champignons filamenteux, ont une grande importance économique, en raison à la fois de leurs nocivités et de leurs utilités (Leveau et Bouix., 1993).

Leurs activités néfastes sont multiples, altération des produits alimentaires et détérioration dans de nombreux autres domaines, production de mycotoxines, vie parasitaire au dépend de l'homme, des animaux et des plantes (Leveau et Bouix., 1993).

De plus, elles sont utilisées depuis fort longtemps par l'homme pour la préparation d'aliments intervenant notamment comme agent de fermentation dans la fabrication de fromages et de plats d'extrême orient à base de soja.

Elles synthétisent un grand nombre de substances complexes économiquement très importante, enzymes acides organiques, antibiotiques, alcaloïdes, etc. (Leveau et Bouix., 1993).

**I-2- Rappel sur les champignons :**

Les champignons sont des organismes hétérotrophes (AFECT., 1999), non photosynthétiques, (Bousseboua., 2002), eucaryotes, c'est-à-dire dont les cellules possèdent un appareil Mitochondrial, un noyau pourvu d'une membrane nucléaire, de chromosomes et d'un nucléole (Boiron., 1996). Les champignons sont généralement des organismes aérobies est la plupart saprophytes et dégradent au profit de leur croissance toutes sortes de débris organiques (Bousseboua., 2002).

Les champignons possèdent une paroi cellulaire Rigide, de structure voisine des parois végétales mais de composition différente (Bousseboua., 2002). La majorité des champignons se présentent sous une forme filamenteuse (Boiron., 1996), ces organismes possédant deux types de reproduction :

Reproduction végétative toujours présente et reproduction sexuée qui n'existe que pour certaines espèces (Guiraud., 1998).

Les champignons son également nuisibles pour l'homme et pour d'autres organismes vivants (Bousseboua., 2002).

Les champignons se repartissent en deux grands groupes : Les levures et les moisissures (Bousseboua., 2002).



**I-3- Définition des moisissures :**

Les moisissures sont des champignons filamenteux (Leclerc *et al.*, 1994) uni ou multicellulaires, eucaryotes non photosynthétiques et immobiles (Guiraud., 1998). La plupart des moisissures sont aérobies (Bousseboua., 2002). Les moisissures colonisent de manière naturelle quasiment tous les types d'écosystèmes terrestres et certains milieux aquatiques (Bousseboua., 2002). Les moisissures saprophytes contaminent les aliments et les dégradent au point de vue qualitatif (Guiraud., 1998), les moisissures produisent souvent des métabolites secondaires (Guiraud., 1998).

**I-4- Place des moisissures dans le monde Microbien :**

En 1866 le zoologiste allemand Haeckel proposa une création d'un troisième règne celui des protistes qui rassemble les algues, les protozoaires, les champignons et les bactéries, cette façon de voir est largement adaptée par les naturaliste et reconnu par la plupart des microbiologistes (Leclerc *et al.*, 1995).

Les protistes sont caractérisés avant tout par une organisation biologique rudimentaire unicellulaire ou pluricellulaire, ils présentent toujours le même type de cellule indifférenciée (Leclerc *et al.*, 1995). Les protistes se présentent selon trois types différents d'organisation biologique de l'individu :

**a- Protistes unicellulaires :** C'est le cas de la plus plupart des protistes, dont les bactéries, les protozoaires, les levures et de nombreuses algues (Bousseboua., 2002).

**b- Protistes pluricellulaires :** Ce sont principalement les champignons, certaines algues et quelques bactéries qui sont des organismes formés de plusieurs cellules (Bousseboua., 2002).

**c- Protistes Coénocytiques :** C'est principalement le cas des champignons inférieurs et de quelques algues (Bousseboua., 2002).

Ces distinctions d'ordre cytologique conduisent alors à diviser le monde des protistes en deux grandes catégories, les protistes eucaryotes (ou supérieurs) comprenant les algues vertes, les protozoaires et les champignons, et les protistes procaryotes définissant les bactéries et les algues bleu-vert (Leclerc *et al.*, 1995).

**I-5- Etude des moisissures :****I-5-1- Caractères généraux :**

Les moisissures sont des eucaryotes, non photosynthétiques, hétérotrophes et immobiles, elles sont acidophiles et sont obtenus sur milieu a pH acide (pH compris entre 3 et 7), elle sont mésophiles : température optimale : 20°C à 30 °C, d'autre sont psychotrophes : température < 15°C (Naouale., 2001).

Les moisissures se présentent typiquement sous la forme d'un amas de filaments enchevêtrés et ramifiés, appelés hyphes l'organisme dans son ensemble et qualifié de mycélium ou thalle, d'où l'appellation de thallophytes des champignons (Bousseboua., 2002).

La paroi cellulaire responsable de la forme est riche en cellulose ou en chitine selon les groupes, elle contient également des substances mucilagineuses, des substances pectiques, des protéines, des pigments (Guiraud., 1998).

Beaucoup de moisissures sont des agents importants d'altération des aliments qu'il colonisent et détériorent, notamment durant leur conservation, en se développant à leurs dépens et par fois en y produisant des toxines dont certaines ont des effets sévères, telle l'aflatoxine d'*Aspergillus flavus* (Bousseboua., 2002).

#### I-5-2- Classification des moisissures :

La classification de Hawksworth, Sutton et Ainsworth (1970) modifiée par Kwon Chung et Bennett (1992), puis par de Hoog (1995), est la plus utilisée actuellement.

On différencie quatre divisions selon les modalités de la reproduction sexuée : les Mastigomycotina, les Zygomycotina, Ascomycotina et les Basidiomycotina. En outre, lorsque la reproduction sexuée n'est pas connue, la division est appelée Deuteromycotina ou *l'ungi imperfecti* (Chabasse., 2002).

**a- Les Mastigomycotina :** Les Mastigomycotina qui sont très rarement impliqués en pathologie humaine, se répartissent en deux classes : les Chytridiomycètes et les Oomycètes. Ils sont caractérisés par la présence de spores munies de flagelles (un pour Chytridiomycètes, deux pour Oomycètes). Cependant, aujourd'hui la nomenclature ne retient dans le règne des champignons que les Chytridiomycètes, en raison de la présence de chitine dans leur paroi et de leur nutrition qui se fait par absorption (Chabasse., 2002).

**b- Les Zygomycotina :** cette division qui est caractérisée par la production de spores sexuées appelées zygospores, comporte de nombreux pathogènes : les Mucorales et les Entomophthorales. Ils sont considérés, avec les Mastigomycotina comme des champignons inférieurs. Deux caractéristiques les différencient des autres champignons dits « supérieurs » (Ascomycète et Basidiomycotina) : le mycélium végétatif est plus large, souvent dilaté, peu ou pas cloisonné et la reproduction asexuée est dite endogène. Chez les Mucorales par exemple, les spores sont produites dans un sac appelé sporocyste, d'où le nom de sporocystophore donné aux filaments porteurs de ce sac. Chez les Entomophthorales, les spores asexuées sont produites à l'extrémité de filaments et sont habituellement projetées à distances, elles portent le nom de ballistospores (Chabasse., 2002).

**c- Les Ascomycotina :** Dans ce groupe qui comprend aussi un grand nombre de pathogènes de l'homme (levures ascosporeées, champignons filamenteux tels que les *Aspergillus*, les dermatophytes...), les spores issues de la reproduction sexuée (appelées ascospores) sont produites de manière endogène à l'intérieur d'un sac appelé asque ; ces asques, généralement octosporés, seront libres (levures ascosporeées ou Hémiascomycètes) ou produits à l'intérieur d'un organe protecteur de forme variable appelé ascocarpe (Ascomycètes vrais ou Euascomycètes) (Chabasse., 2002).

**d- Les Basidiomycotina :** Ils sont caractérisés par la production de spores sexuées (appelées basidiospores) formées par bourgeonnement à l'apex de cellules allongées, les basides. Les Basidiomycètes a un thalle cloisonné avec présence de « boucles » au niveau des cloisons. Les cloisons des filaments mycéliens (clamp connexion) comportent le plus souvent un pore central unique de structure complexe appelée dolipore. La plupart des Basidiomycètes sont des saprophytes de l'environnement ou parfois des pathogènes de plantes, mais ils sont peu impliqués en pathologie humaine. Ceux qui vivent en parasite chez l'homme sont le plus souvent des *Cryptococcus*. Les basidiomycètes comprennent deux groupes principaux : les Hétérobasidiomycètes (Ustilaginales) à basides divisées ou ramifiées et les Holobasidiomycètes qui sont essentiellement des macromycètes, deux ordres sont exceptionnellement impliqués en pathologie humaine : les Aphyllophorales et les Agaricales (Chabasse., 2002).

**e- Les Deuteromycotina (champignons imparfaits ou *Fungi imperfecti*) :** C'est dans cette division qu'on retrouvera le plus grand nombre de ces espèces d'intérêt médical. Cet ensemble, très hétérogène, englobe toutes les espèces se multipliant sur le mode asexué. En pratique, le maintien de cette division s'avère utile car beaucoup d'espèces n'expriment pas en culture leur reproduction sexuée. Les Deuteromycotina sont divisées en trois classes : Blastomycètes, Hyphomycètes et Cœlomycètes (Chabasse., 2002).

### I-5-3- Métabolisme des moisissures :

**A- Métabolites primaires :** pour assurer leur développement (croissance et reproduction), les moisissures comme tout autre micro-organisme utilisent les sources de carbone, et d'énergie qu'elles trouvent dans leurs environnement et qu'elles dégradent à l'aide d'enzymes exocellulaires appropriées (Leveau et Bouix., 1993). Les produits résultants absorbés sélectivement et soumis à leur tour à l'action d'enzymes endocellulaires, sont transformés en molécules plus petites fournissant l'énergie et les précurseurs indispensables pour la biosynthèse des acides aminés, nucléotides, vitamines, sucres, acide gras etc. C'est-à-dire des métabolites dits primaires ; ceux-ci constituent les éléments à partir des quels les molécules essentielles sont synthétisées (protéines, acides nucléiques, coenzymes, polysaccharides, lipides) (Leveau et Bouix., 1993).

**B- Métabolites secondaires :** Les intermédiaires dans la biosynthèse de ces derniers produits sont également comptés parmi les métabolites primaires, il arrive que les métabolites primaires soient utilisés à d'autres fins que celles qui concourent au développement du micro-organisme. En dérivent des produits dits métabolites secondaires qui ne sont pas indispensables à la croissance des micro-organismes lorsque ceux-ci sont développés *in vitro* en culture pure mais peuvent tout de même avoir un rôle non négligeable dans la nature au bénéfice de ceux qui les produisent (Leveau et Bouix., 1993).

On trouve, chez les moisissures, des espèces surproductrices de métabolites commercialement très importants : parmi les métabolites primaires, l'acide critique, l'acide itaconique, le  $\beta$ -carotène ; parmi les métabolites secondaires, la pénicilline, la céphalosporine, divers alcaloïdes, etc.

#### I-5-4- Mode de développement :

La grande majorité des moisissures se présentent sous une forme filamenteuse, caractérisée par une structure tubulaire, ramifiée et plurinucléée (Boiron., 1996).

Les hyphes sont cloisonnées par des septes qui divisent le filament en segments similaires des cellules (Eumycètes supérieurs), d'une longueur d'environ 50  $\mu$ m ou beaucoup plus pour le segment apical (Boiron., 1996).

La présence de pores traversant ces cloisons de structure plus ou moins complexe selon les groupes fongiques, permet le passage intercellulaire du cytoplasme et d'organites subcellulaire, et même de noyau qui pouvant ainsi migrer au sein du mycélium sur des distances relativement importantes (Boiron., 1996).

Le nombre de noyaux par segments varie de un à plus d'une centaine et est généralement plus élevé dans les segments apicaux où les moisissures et en phase de croissance active (Boiron., 1996).

La croissance des filaments permet la dissémination des moisissures et sa pénétration dans les substrats (Boiron., 1996).

La croissance des hyphes est strictement apicale. Ce comportement s'oppose à la croissance intercalaire bien connue chez d'autres organismes comme par exemple chez les algues du type *Ulothrix* (Botton *et al.*, 1990).

Les courants cytoplasmiques sous-jacents (cyclose) exercent une pression dirigée vers l'apex et apportent des corps apicaux constitués d'un amas de petites vésicules, les matériaux et les enzymes nécessaires à l'extension d'une zone pariétale qui cède continuellement sous l'effet du cytoplasme en expansion (Boiron., 1996).

La chitine synthétase est la mieux caractérisée des enzymes impliquées dans la biosynthèse de la paroi dont la chitine (Leveau et Bouix., 1993).



Le mécanisme de la croissance des hyphes n'est pas parfaitement élucidé (Leveau et Bouix., 1993). La quantité de matériaux nécessaires à la croissance devient trop importante à l'apex, le filament peut présenter des sites d'allongements latéraux avec la mise en place d'un nouveau système apical d'extension (Boiron., 1996).

Ce mécanisme est à l'origine des ramifications du thalle, conduisant à l'édification d'un mycélium à front de croissance circulaire, caractéristique d'une colonie fongique (Boiron., 1996).

La pénétration des hyphes dans le substrat facilite l'accès aux éléments nutritifs, la fusion des hyphes est commune chez les moisissures, aussi bien lors du processus de reproduction sexuée qu'au cours de la croissance végétative (Boiron., 1996).

#### I-5-5- La reproduction :

La reproduction et la dissémination des moisissures s'effectuent grâce à la formation des cellules particulières que l'on appelle de façon générale spores et qui peuvent avoir une origine sexuelle ou végétative (Guiraud., 1998).

Il peut exister deux types de reproduction :

**A- Reproduction asexuée :** La reproduction asexuée est très répandue et se fait sans recombinaison génétique, selon différents modes :

- ❖ Simple fragmentation du mycélium ;
- ❖ Bourgeonnement ;
- ❖ Ou plus généralement par la formation des spores, appelées aussi conidies et formées en nombre plus ou moins importants dans une structure spécialisée (le sporange) (Bousseboua., 2002).

**B- Reproduction sexuée :** La reproduction sexuée implique comme chez tous les autres organismes eucaryotes sexuellement différenciés, la production et la fusion de cellules sexuelles :

- Les gamètes, issus de partenaires différentes et permettant le brassage de leurs caractères génétiques respectifs (Botton *et al.*, 1990).
- Chez les moisissures on distingue deux catégories de spores sexuées :
  - ✓ Les zygosporos chez les zygomycètes.
  - ✓ Les ascospores chez les Ascomycète.
- Les deutéromycète se caractérisent par la présence d'un seul cycle (asexuée) (Botton *et al.*, 1990).



### I-6- La physiologie et les facteurs favorisant la contamination des aliments par les moisissures :

Il y a plusieurs facteurs physico-chimiques qui influencent le développement des moisissures :

#### I-6-1- La température :

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores (Bourgeois *et al.*, 1996). La plupart des champignons sont mésophiles avec des optima de croissance de 25-35°C (Botton *et al.*, 1990).

Quelques espèces sont thermotolérantes (20-50°C). La température limite de développement est de 60-62°C. Les thermophiles jouent un rôle important pour le compostage (température optimale de croissance supérieur à 45 °C) (Botton *et al.*, 1990). Cependant, il peut y avoir des particularités pour certaines espèces et c'est ainsi que l'ont défini des températures cardinales qui sont : les températures minimales, optimales et maximales de croissance (tableau 1) (Roquebert., 1997).

Tableau 1 : Températures cardinales de développement des moisissures (Roquebert., 2002).

Espèces	Température		
	minimale	optimale	Maximale
Psychrophiles	< 0°C	0-17°C	< 20°C
Mésophiles	> 0°C	15-40°C	< 50°C
Thermophiles	> 20°C	35-50°C	> 50°C

#### I-6-2- La teneur en eau :

Les moisissures ont besoins de l'eau pour absorber nutriments est sont par conséquent restreints à des environnements (Botton *et al.*, 1990).

Ce paramètre peut varier de 0 à 1. Il existe une relation directe entre l'humidité relative atmosphérique et l' $A_w$  d'une denrée :  $A_w = HR = 100$  (Berthier et Valla., 1990). L'humidité relative minimum pour que commencent à se développer certaines moisissures peu nombreuses, dites xérophiles, est de 65-70 % (*Eurotium -Aspergillus* du groupe

*Glaucus*). Au fur et à mesure que l'humidité augmente, s'installent ensuite des moisissures différentes, de plus en plus nombreux vers 80-90%. Ainsi selon l'espèce identifiée sur un substrat, on peut approximativement définir l'évolution de l'humidité relative de celui-ci (Molard., 1986).

Tableau 2 : Principales moisissures pouvant se développer en fonction de l'activité de l'eau du support (Roquebert., 2002).

Aw	Genres de moisissures
1.00	0
0.95	Basidiomycètes (mérule)
0.90	<i>Mucorales, Chaetomium, Cladosporium</i>
0.85-0.80	<i>Penicillium sp. , Aspergillus sp.</i>
0.75	<i>Aspergillus xerophiles</i>
0.70	<i>Eurotium, Chrysosporium sp.</i>
0.65	<i>Xeromyces</i>
0.60	0

#### I-6-3- L'atmosphère gazeuse :

Les moisissures sont généralement des organismes aérobies (Bousseboua., 2002). La qualité d'oxygène mise à la disposition des moisissures plus exigeant vivent dans les régions périphérique des substrats, les moins exigeant peuvent se développer en profondeur certaine peuvent même supporter une anaérobiose tri stricte (Bourgeois *et al.*, 1996).

#### I-6-4- L'influence de la nature de substrat :

Un milieu contenant un substrat facilement catabolisable donnera une croissance plus rapide qu'un milieu contenant des substrats plus complexes (Guiraud., 1998).

Un milieu riche dans lequel des métabolites directement utilisables pour l'anabolisme sont présents assimilables donnera une croissance plus rapide qu'un milieu où les cellules doivent effectuer la synthèse de ces constituants (Guiraud., 1998).

**I-6-5- Le pH :**

La grande majorité des moisissures peut se développer dans une zone de pH de 4,5-8 (Larpen *et al.*, 1997).

Les moisissures sont en générales acidophiles sont capables de se développer à pH entre 3-7 (Guiraud., 1998).

Cependant certaines tolèrent des pH beaucoup plus acides on très alcalins (Bourgeois *et al.*, 1996).

Tableau 3 : pH minimal et maximal pour la croissance de certaines moisissures (Botton., 1990).

Espèce	pH minimum	pH maximum
<i>Aspergillus flavus</i>	2	11
<i>A. ochraceus</i>	2.2	13
<i>Penicillium crustosum</i>	2.2	10
<i>Fusarium graminearum</i>	2.4	10.2

**I-6-6- La lumière :** Les radiations du spectre visible (380-720 nm) n'ont en général pas d'action sur la croissance végétative des champignons, mais peuvent agir sur la sporulation. Les photopériodes (lumière /obscurité) créent des zonations. Beaucoup de champignons n'exigent pas de la lumière pour sporuler, cependant les photoréponses de la sporulation dans le bleu, ont été décrites chez *Penicillium isariiforme*, *Alternaria tomato* et *Stemphylium botrysium*. Le pic maximal d'activité est à 480 nm ou 410-425 nm (Botton *et al.*, 1990).

**I-7/ Prélèvements et méthodes d'identification des moisissures :**

La recherche des moisissures et/ou des spores s'effectue par des prélèvements d'air mais aussi par des prélèvements solides (poussières, dépôts, moisissures apparentes) au niveau des surfaces, matériaux ou systèmes de traitement de l'air. Les méthodes de prélèvement de l'air ambiant ont pour but de séparer les particules du flux d'air pour les recueillir sur un milieu sélectionné. Les trois méthodes utilisées sont : l'impaction, la filtration et l'impaction en milieu liquide ou impingement. Dans les trois cas, l'air est pompé à travers le système qui récolte les bioaérosols qui sont ensuite mis en culture sur des milieux spécifiques. Après culture, les colonies formées vont être comptabilisées (nombre d'UFC ou unité formant colonie) (Parat., 2002).

Par méthode d'impaction, l'air est aspiré à travers un impacteur qui est constitué d'un ensemble d'orifices de tailles variables. Les particules sont recueillies selon le diamètre des Orifices. Les appareils les plus utilisés par le monde sont les impacteurs d'Andersen. Dans la méthode d'échantillonnage par filtration de l'air, les bioaérosols sont collectés sur des membranes microporeuses (filtre gélatine, filtre cellulosique). Enfin, les impingèrs collectent les bioaérosols de l'air en les faisant s'impacter dans un liquide (Nguyen-Minh-Tri., 2007).

Pour la flore fongique, la méthode par impaction est la méthode la plus utilisée. Après le prélèvement, les échantillons sont ensemencés sur des milieux de culture. Les plus utilisés sont le milieu à l'extrait de malt (MEA) considéré comme le plus adapté aux moisissures de l'environnement. Le milieu DG 18 (Dichloran Glycérol 18) est de plus en plus utilisé. Tous ces milieux renferment des antibiotiques (chloramphénicol et/ou gentamycine) destinés à inhiber la croissance bactérienne (Nguyen-Minh-Tri., 2007).

Différentes méthodes sont utilisées également pour les prélèvements d'échantillons solides : scotch-test (application d'un papier collant sur la moisissure, report du papier sur une lame qui fait ensuite l'objet d'un examen direct au microscope), écouvillonnage de surface, ensemencement direct d'une masse de poussière sur milieu de culture gélosé, mise en suspension dans un milieu liquide et ensemencement de dilutions successives, application de gélose directement sur une surface (The CDC Mold Work Group., 2005).

# **Chapitre II**

## **L'influence des moisissures sur les aliments**



### II-1- Introduction :

Les moisissures de manière naturelle quasiment tous les types d'écosystèmes terrestres et certains milieux aquatiques.

Elles jouent à cet égard un rôle absolument fondamental dans la biosphère. Avec les bactéries, elles constituent les agents les plus actifs dans la biodégradation des débris organiques animaux et végétaux (Bousseboua., 2005).

La minéralisation de ces derniers permet le recyclage permanent des éléments constitutifs de la matière vivante : Carbone, azote, soufre, phosphore. Cette aptitude remarquable est aussi un aspect vital de la dépollution naturelle de l'environnement car les champignons ont la capacité de dégrader pratiquement tous les composés organiques y compris les plus polluants comme les pesticides et les hydrocarbures (Bousseboua., 2005).

En effet, beaucoup de moisissures sont des agents importants d'altération des aliments qu'ils colonisent et détériorent notamment durant leur conservation en se développant à leur dépend et parfois en y produisant des toxines dont certaines ont des effets sévères, telle l'aflatoxine d'*Aspergillus flavus* (Bousseboua., 2005).

### II-2- Altération des aliments :

L'altération des denrées alimentaires par les moisissures résulte des modifications liées à leur développement (Bourgeois *et al.*, 1996).

L'étude du métabolisme des moisissures montre que ces organismes se comportent des substances alimentaires (Bourgeois *et al.*, 1996).

Les moisissures sont ainsi aptes à prélever ou transformer la plupart des éléments des substances alimentaires, les modifications chimiques des substances alimentaires se traduisent par des altérations de leur valeur nutritionnelle ou de leurs qualités organoleptiques, par des difficultés de conservation des denrées, par foi par des maladies professionnelles (mycose, allergies) ou des intoxications (Mycotoxicooses) (Bourgeois *et al.*, 1996).

### II-3- Différents origines de l'altération :

On peu citer trois catégories de moisissure contribuant à cette contamination :

- Une flore dite du «champ» qui rassemble les moisissures à tendance phytopathogène qui s'implante sur l'aliment avant la récolte, les flores hydrophiles a besoin d'humidité très élevée pour se développer et régresserPar conséquent sur les aliments stockés. Les germes les plus fréquents sont *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium* (Botton *et al.*, 1990).

- La flore de stockage est essentiellement composée des germes : *Aspergillus*, *Penicillium* tolèrent des humidités plus faibles qui provoquent une acidification de conservations d'origine microbiologique que pour les produits considérés (Botton *et al.*, 1990).
- La 3<sup>ème</sup> catégorie à comportement plus diversifié constitue la flore intermédiaire et regroupe des germes capables d'un développement limité en début du stockage en conditions hydriques habituelles mais qui peuvent prédominer largement en conditions particulières et notamment sur des grains insuffisamment secs.

*Clodasparium* et surtout les *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor* sont les représentants habituels de cette flore dont la mise en évidence révèle très souvent un stockage en conditions confirmées et trop humides (Botton *et al.*, 1990).

#### II-4- Le mécanisme de l'altération :

La plupart des aliments d'origine animale sont périssables.

Plusieurs agents peuvent intervenir : physiques, chimiques et biochimiques.

Pour une modification donnée il n'est pas toujours possible de déterminer son origine (Naouale., 2007).

La diversité des altérations dépend :

- La nature de l'aliment ;
- La variété des microorganismes en cause ;
- Des facteurs agissant sur le développement : pH, activité de l'eau.

Les microorganismes provoquent des altérations :

- Par leur présence physique ;
- Par leur métabolisme (Naouale., 2007).

**II-4-1- Les glucides :** Dans un produit très riche en sucres les moisissures tirant leur énergie de la transformation des hydrates de carbone se multiplieront de façon préférentielle. L'altération des aliments riches en amidon comme les pommes de terre et les céréales est difficile. Les moisissures responsables doivent se multiplier en présence d'une faible quantité d'azote et de sels. Ils doivent aussi avoir une amylase capable d'hydrolyser l'amidon intact par des *Aspergillus*, *Penicillium* (Naouale., 2007).

**II-4-2- Les protéines :** Les protéines sont attaquées par les moisissures protéolytiques (protéase) qui hydrolysent et dégradent les liaisons peptidiques des protéines (libération des polypeptides et d'acides aminés) (Naouale., 2001).

La protéolyse aboutit aux changements profonds de couleur de texture et d'odeur des produits alimentaires riches en protéines en voie de putréfaction (Naouale., 2001). Ces odeurs résultent de la dégradation des acides aminés et les peptides, parmi ces substances nous avons : H<sub>2</sub>S, Mercaptan, indole, des amines telles que : cadaverine (lysine), putrexine (arginine) et d'autres composés gazeux (H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>).

La diminution du degré de solubilité des protéines, l'hydrolyse partielle de ces dernières est due à la présence de moisissures du genre *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* (Naouale., 2007).

**II-4-3- Les corps gras :** Les corps gras subissent en particulier l'action des lipases par l'hydrolyse des Corps gras en donnant des acides gras et du cholestérol, le degré de la réaction d'hydrolyse est proportionnel au nombre de moisissures (Naouale., 2007).

L'altération des corps gras et la présence des acides gras libres est à l'origine d'acidification des aliments riches en matières grasses en particulier la présence d'acide butyrique, l'acide caprique et les cétones méthyle résultent de l'action des lipases qui hydrolysent les triglycérides (Naouale., 2007).

Le rancissement qui résulte de l'action de la lipase est appelé rancissement hydrolytique. Il se manifeste de deux manières : le rancissement cétonique et le rancissement oxydatif, le premier résulte des peroxydases excrétées par quelques moisissures : *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucus*.

Ces enzymes oxydent les acides gras : lipases, peroxydases et donnent des composés volatiles tels que : cétone méthyle (Naouale., 2007).

#### II-5- Exemple sur le devenir des aliments contaminés par les moisissures :

##### ❖ produits alimentaires :

**A/ Céréales et dérivés :** les grains de céréales peuvent être contaminée avant la récolte par la flore fongique microscopique du champ : (*Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, etc...), aux fortes capacités cellulolytiques. Plus tard, au cours stockage de la récolte, une autre flore fongique aux propriétés moins cellulolytiques et plus osmophiles, peut prendre le relais (*Aspergillus*, *Penicillium*). Finalement les substrats organiques les plus altérés permettront la croissance des champignons peu cellulolytiques et non osmophiles (mucorales) (Boiron., 1996).

**B/ Produits laitiers :** Un grand nombre d'espèce sont capables d'envahir les fromages, le beurre et la margarine.

Des mucorales peuvent se développer à la surface de fromages sous la forme d'un épais feutrage ; les pénicilliums peuvent en modifier l'aspect et le goût.



Les *Cladosporium*, *Scopulariopsis fusca* peuvent être à l'origine de taches sombre ; de nombreuses autres espèces (*Trichoderma viride*, *Botrytis cinerea*, *Cylindrocarpon heteranema*, *Trichothercium roseum*, *Geotrichum candidum*, etc.), peuvent provoquer des intoxications.

Le beurre et la margarine sont à l'origine du développement d'une cinquantaines d'espèces, telles que des *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, etc (Boiron., 1996).

**C/ Viandes et charcuteries :** *Aspergillus clavatus*, *A. niger*, *Chysonilia sitophile*, *Geotrichum candidum*, *Scopulariopsis brevicaulis*,...etc., peuvent se rencontrer sur la viande, certaines espèces se développant même sur la viande réfrigérée (*Cladosporium herbarium*, *Geomyces pannorus*), les salaisons peuvent également être contaminées (*Penicillium*) (Boiron., 1996).

**D/ Œufs :** Certaines moisissures (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, etc....) se développent aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des œufs (Boiron., 1996).

**E/ Oléagineux et tourteaux :** Les gousses et les graines d'arachides en particulier lors de leur stockage, peuvent être attaquées par très nombreuses espèces fongiques, parmi lesquelles les *Aspergillus* et les *Penicillium* sont prépondérants à côté de *Trichothecium roseum*, *Paecylomyces variati*, *Fusarium moniliforme* (Boiron., 1996).

**F/ Légumes et fruits :** De nombreuses espèces fongiques peuvent altérer ces organes végétaux telles que :

- *Alternaria alternata*, *Alternaria brassicae*, *Cladosporium sp* (Chou-fleur) ;
- *Farinoca Albugo occidentalis*, *Puccinia aritidae*, *Peronopora* (Bette rave rouge) ;
- *Fusarium sp*, *Mucro mucedo*, *Phytophthora infestans* (tomate) ;
- *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria Sp* (raisins) (Botton *et al.*, 1990).

**G/ Boissons:** Les espèces thermorésistantes peuvent coloniser les jus de fruits pasteurisés. Le développement de *Penicillium expansum* sur les pommes peut être à l'origine d'une production de cidre toxique, en raison de la présence de clavacine. La bière peut être contaminée par les levures (Boiron., 1996)

#### II-6- Les espèces les plus répandus dans la production des mycotoxines :

Certaines champignons peuvent être de redoutables ennemis des animaux et des humains, parmi les métabolites secondaires, un grand nombre se révèle toxique et parmi ceux-ci divers sont produits par des moisissures contaminants les denrées alimentaires (Botton *et al.*, 1990).

Toutes les moisissures n'élaborent pas de mycotoxines. Elles ne sont pas toutes toxigènes. Dans les quelques 200 espèces réputées toxigènes existent des souches

produisant des mycotoxines et des souches qui n'en produisent pas ou peu, en outre les substrats et les conditions de l'environnement jouent un rôle important dans le niveau de cette production (Bourgois *et al.*, 1996).

Certain produit alimentaire constituent des substrats particulièrement favorables à la prolifération de moisissures. La présence de ces espèces dans un aliment peut provoquer des troubles dangereux pour la santé (Allergies, Cancers) (Bourgois *et al.*, 1996).

#### II-6-1- Les espèces toxigènes :

**A/ Les *Aspergillus* :** C'est un groupe important en mycologie alimentaire tant par leur aspect morphologique (Varie selon le milieu et au cours des repiquages) et par leur fréquence que par le pouvoir toxigène de certains d'entre eux. En général ils ont thermotolérants.

Les espèces les plus fréquentes sont *Aspergillus falvus*, *Aspergillus parasitines*, *Aspergillus Sulfureux* (Botton *et al.*, 1990).

**B/ Les *Fusarium* :** La plupart des *Fusarium* sont des champignons du sol ils sont largement répandus du point de vue géographique, quelques un sont parasites des plantes (panitue des racines tiges, fruits) quelques espèces se développent sur les denrées stockées, en peut citer différentes espèces comme : *Fusarium gramineum*, *Fusarium graminearum* (Botton *et al.*, 1990).

**C/ Les *penicillium* :** C'est un groupe extrêmement cosmopolite et polyphagie leur aspect morphologique varie selon le milieu et au cours des Repiquages *Penicillium patulum*, *Penicilium claviforme* (Botton *et al.*, 1990).

#### II-6-2- Différents types de mycotoxine et leurs effets sur la santé humaine :

Depuis quelques décennies l'attention à été attirée sur la contamination par des composés biologiques naturels : Les mycotoxines.

Une Mycotoxine est un Métabolite toxique élaboré par une moisissure développée sur un aliment, l'ingestion de cet aliment, si la substance toxique est en quantité suffisante provoque une intoxication chez le consommateur homme ou animale. Une mycotoxine et ainsi un désordre alimentaire qui n'est ni infectieux, ni contagieux. Si des intoxications graves et quelques fois mortelles ont été décrites chez les animaux domestiques, l'homme peut aussi être atteint, la leucémie alimentaire toxique liée à la présence de *Fusarium* dans des grains moisissures de céréales consommés dans l'est de la Sibérie (Bourgois *et al.*, 1996 ; Larpent *et al.*, 1985).

**A- Aflatoxine :** les Aflatoxines sont responsables de nombreux accidents en pathologie animale aussi bien qu'humaine. Découvertes en Angleterre en 1960 à la suite



**A- Aflatoxine :** les Aflatoxines sont responsables de nombreux accidents en pathologie animale aussi bien qu'humaine. Découvertes en Angleterre en 1960 à la suite d'hépatites toxique d'étiologie a lors inconnue a ayant occasionné des pertes considérables dans des levages de dindons. Les toxines furent isolées de moisissures contaminant l'alimentation.

Elles sont produits par *Aspergillus flavus* et dans une moindre mesure par *Aspergillus parasiticus* (Cahagnier., 1998 ; Larpent *et al.*, 1985).

La pénétration dans l'organisme de l'AF peut avoir lieu par voie orale et trachéale. L'absorption est rapide et s'effectue au niveau de l'intestin grêle dans la partie duodénale. L'AFB<sub>1</sub> rejoint le foie par la veine porte. La distribution à partir du plasma dans les hépatocytes est réalisée par diffusion passive à travers les membranes. Une partie de l'AFB<sub>1</sub> est éliminée dans la bile après biotransformation sous forme conjuguée au glutathion, à l'acide glucuronique et au sulfate. Cette excrétion biliaire, représente environ 50% de la dose excrétée chez la plupart des espèces animales. 15% à 25% de la dose ingérée sont éliminés par la voie urinaire sans transformation ou sous forme de dérivés conjugués. Ceci est dû, entre autre, au fait que l'AFB<sub>1</sub>, au niveau du plasma, se fixe sur l'albumine sur le même site que la phénylbutazone (Castegnaro *et al.*, 1999).

Une analyse détaillée démontra que plusieurs aflatoxines étaient synthétisées (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>...) Ces métabolites se révèlent non seulement extrêmement toxiques mais aussi puissamment cancérogène (Botton *et al.*, 1990).

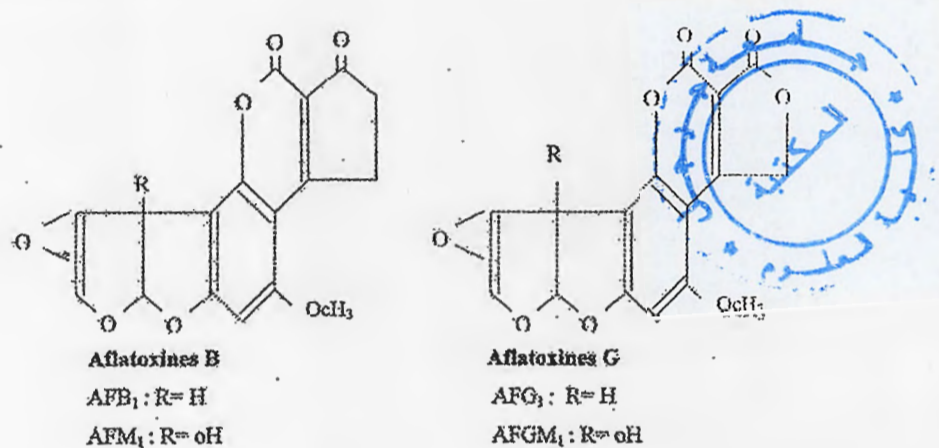


Figure -1- : Structure chimique de Aflatoxines (Cahagnier., 1998).

**B- Trichothécènes :** Cette Mycotoxine produite surtout par des moisissures *Fusarium*, se développant sur les épis de céréales (principalement le blé, orge, maïs, avoine) dans certaines conditions atmosphériques (froid et humidité) ; ils sont retrouvés dans une proportion importante (50 %) de grains et de produits dérivés. Le passage dans la chaîne alimentaire (viande, œuf, lait) est très limité ; les trichothécènes ont été à l'origine d'empoisonnement graves d'animaux et d'hommes connu sous le nom d'*aleucie*, ils sont ni génotoxiques ni cancérogènes. Les toxines attaquent la moelle osseuse d'où résulté une diminution du nombre de globules blanc, qu'ils provoquent surtout les muqueuses du tube digestif (Cahagnier., 1998).

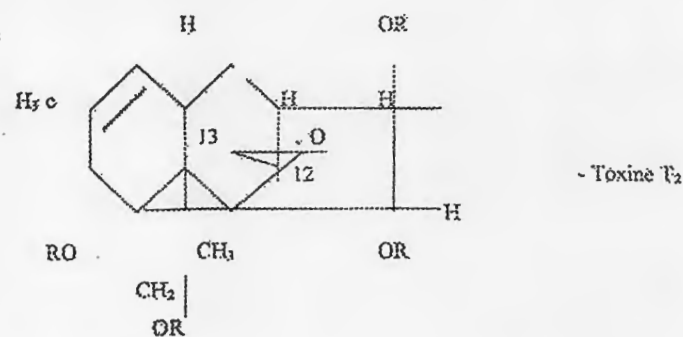


Figure -2- : Structure chimique Trichothécènes (Molle et al., 2000).

**C- Ochratoxine :** Elle est également synthétisée par plusieurs espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*. En particulier *Penicillium viridicatum* contaminant banal des céréales (Cahagnier., 1998).

Les ochratoxine possèdent un noyau phényle alanine et un noyau iso coumarine. La plus dangereuse est l'ochratoxine A ; qui a été découverte pour la première fois chez *Aspergillus ochraceus* ; les intoxications aiguës sont caractérisées par des manifestations hémorragiques et diarrhéiques en intoxication chronique, on note de lésions rénales importantes.

La participation de l'ochratoxine A dans l'étiologie de la néphropathie endémique des Balkans chez l'homme et suspectée (Bourgeois et al., 1996).

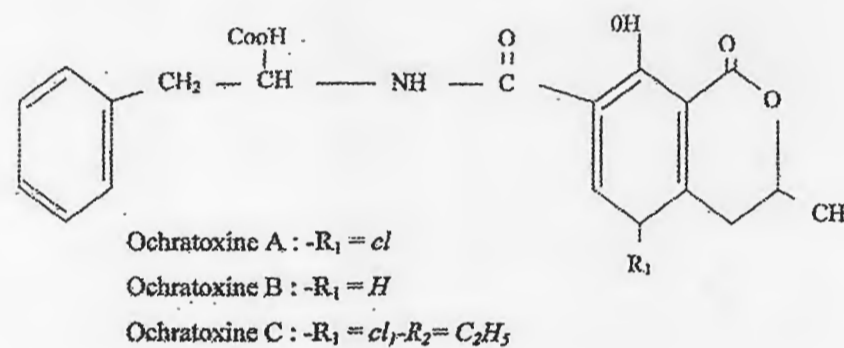


Figure -3- : Structure chimique de ochratoxine (Molle et al., 2000).

**D- Les patuline et l'acide de penicillique :** Cette mycotoxine est produite par des nombreuses moisissures mais surtout par *Aspergillus clavatus*. Certaines *Aspergillus* contaminant les fruits pourrais plus spécifiquement la pomme et le jus de pomme, si les fruits contaminés entrent dans la fabrication du jus. Les effets de la patuline se manifestent par des lésions congestives au niveau des poumons dégénérescence des neurones du cortex cérébral, d'où peuvent résulter divers symptômes nerveux (Bourgeois et al., 1996).

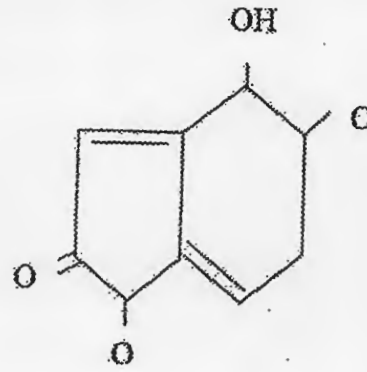


Figure -4- : Structure chimique de patuline (Bourgeois *et al.*, 1996).

**E- Les mycotoxines œstrogéniques (Zéaralénone) :** L'espèce productrice de cette Mycotoxine appartient au *Fusarium* on peut citer : *Fusarium graminearum*.

On trouve la zéaralénone et son métabolite le Zéraférone comme contaminant des grains de maïs, elle peut aussi contaminer les foin et d'autres céréales.

L'effet toxique : la consommation des aliments contaminés conduit chez le porc à un syndrome connu sous le nom d'œstrogénisme on constate chez les femelles une vulvo-vaginite et une hypertrophie des glandes mammaires chez les males.

Le résultat le plus apparent ou répandu est une diminution de la capacité de reproduction (Botton *et al.*, 1990).

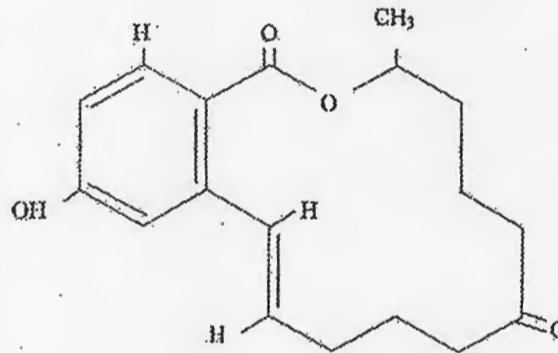


Figure -5- : Structure chimique de Zéraférone (Molle *et al.*, 2000).

**F- Citrinine :** La citrinine (CTT) a été décrite en 1931 comme pouvant être utilisée comme un antibiotique, mais finalement rejetée à cause de sa toxicité (Adams *et al.*, 2002). La CTT est un métabolite secondaire toxique, tout d'abord isolé de *P. citrinum* (Hetherington., 1931). Elle est aussi produite par d'autres espèces de *Penicillium* (Ei-Banna *et al.*, 1987), d'*Aspergillus* (Kurata., 1990) et de *Monascus* (Blanc *et al.*, 1995).

La contamination par la CTT est observée dans divers aliments à base de céréales (maïs, blé, orge, riz, fruit, produits de céréales...) (Nguyen-Minh-Tri., 2007).



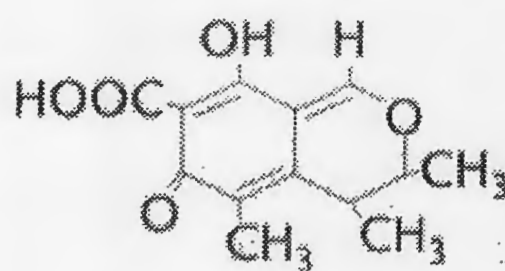


Figure -6- : structure chimique de citrinine (Bourgeois *et al.*, 1996).

**g- Les Fumonisines :** Les fumonisines sont un groupe de moisissures récemment caractérisées chez quelques espèces de *Fusarium* infectant les cultures des céréales dans des conditions climatiques particulières. La fumonisine B1 est la plus abondante dans les aliments dérivés destinés au bétail et à l'homme. Elle est faiblement absorbée chez l'animal et ne donne pas lieu à des résidus en quantité significative dans les denrées animales (Apfelbaum., 2004).

Elle produit une large gamme d'effets toxiques chez l'animal (encéphalite chez le cheval, œdème pulmonaire chez le porc, néphrotoxicité et cancer du foie chez le rat) et les études épidémiologiques ont montré une association avec certains cancers ; les fumonisines sont classées cancérogènes potentiels pour l'homme (Apfelbaum., 2004).

**H- Les alcaloïdes de l'ergot du seigle :** Ces substances sont produites par *Claviceps purpurea*. Il s'agit de composés à cycle ergoline. Les alcaloïdes de l'ergot sont dotés de propriétés pharmacologiques et ont un intérêt médical (Guiraud., 2003).

Les principales mycotoxines liées à la consommation d'aliments pollués par des moisissures et leurs effets sur la santé humaine sont représentées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Principales mycotoxines liées à la consommation d'aliments pollués par des moisissures (Larpen et Gaugaud., 1997).

Champignon	Toxines	Symptômes
<i>Aspergillus clavatus</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Byssochlamys nivea</i>	Patuline	Hémorragies pulmonaires. Dégénérescence des neurones du cortex cérébral.
<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	Aflatoxines	Hépatites, hépatome.
<i>A. fumigatus</i> <i>A. terreus</i> <i>P. crustosum</i> <i>P. verruculosum</i>	Mycotoxines à effets trémorgéniques (pénitrèmes verruculogènes, Fumitrémorgine, territème, etc.)	Tremblements nerveux, paralysies.
<i>A. ochraceus</i> <i>P. viridicatum</i>	Ochratoxines	Lésions rénales.
<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisines	Nécrose des hémisphères cérébraux, troubles de la locomotion.
<i>F. graminearum</i> et autres <i>fusarium</i>	zéaralénone	Action œstrogène.
<i>Fusarium divers</i> <i>Stachybotrys atra</i> <i>Myrothecium roridum</i>	Trichothécènes	Leucopénie, inflammation du tractus digestif, vomissements, immunosuppresseur.
<i>P. citrinum</i>	Citrinine	Lesions rénales.
<i>P. islandicum</i>	Lutéoskyrine islanditoxine	Hépatome.
<i>P. verrucosum</i> Var. <i>cyclopium</i>	Acide cyclopiazonique	Diarrhées, convulsions.
<i>Pithomyces chartarum</i>	Sporidesmine	Œdème cutané.



### II-6-3- Les méthodes utilisées pour la recherche et le dosage des mycotoxines :

Les mycotoxines sont présentes en faible quantité dans toute une série de produits de l'alimentation humaine. Elles ne provoquent des maladies chez l'homme, que lorsque elles sont ingérées en quantités importantes. L'industrie agroalimentaire a donc élaboré différentes techniques de dosage des mycotoxines, afin de surveiller une contamination potentielle. Les méthodes sont généralement :

- ✓ La chromatographie sur couche mince bidimensionnelle associée à un dosage fluor densitométriques ;
- ✓ la spectrophotométrie de masse ;
- ✓ Les testes immunologiques, les testes RIA et teste ELISA. (Nilsen *et al.*, 1999).

**II-6-4- Lutte et prévention :** Les moyens de lutte pour chaque période définie, sont consignés dans le tableau 5 (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

Tableau 5 : Méthodes de lutte contre la contamination (Nguyen-Minh-Tri., 2007).

Période définie	Solutions proposées
Au champ	- créer des plantes résistantes ; - limiter le développement par l'emploi de fongicides ; - arrosage adapté ; - apport en minéraux.
À la récolte	- veiller à la maturité du grain ; - inspection visuelle pour éliminer les éléments abîmés ; - éviter les récoltes par temps humide.
Au stockage	- contrôle périodique ; - maintenir une bonne température ; - contrôler l'humidité ; - détruire les produits contaminés ; - une bonne aération des silos.
À la transformation	- contrôle mais, plus au niveau des mycotoxines que des moisissures.
Dans l'alimentation des animaux	-tests de contamination, puis décontamination si nécessaire.
À la consommation	- éliminer les aliments contaminés ; - jouer sur la cuisson.

**II-7-Quelques maladies causées par les moisissures pathogènes :****II-7-1- Les mycoses :****II-7-1-1- Définition :**

Les mycoses sont des maladies provoquées par des champignons microscopiques appelés micromycètes. Les pathologies liées à un état d'hypersensibilité (alvéolites allergiques extrinsèques, asthme, etc.) comme les intoxications dues à l'ingestion de certains macromycètes (syndrome phalloïdien) ne sont pas considérés *stricto sensu* comme des mycoses, même si l'agent causal est un champignon, car la notion de mycose implique toujours les conséquences pathologiques du développement parasitaire du champignon chez son hôte. Pour la dénomination de ces mycoses, le nom de l'infection fongique dérive habituellement du nom du genre du champignon en lui ajoutant le suffixe -ose ; ainsi la pathologie à *Aspergillus* «Aspergillose», à *Alternaria* « Alternariose » (Chabasse., 1999).

**II-7-1-2- Habitat, mode de contamination et professions exposées :**

Les mycètes responsables de mycoses sont présents dans divers habitats, et la contamination se fait souvent par inhalation du spores ou par contact avec des végétaux et des animaux (Tortora., 2003).

Certains comportements, en particuliers chez les sportifs, ou certaines professions, exposent aux mycoses. Les ruraux, agriculteurs, pêcheurs, bergers et forestiers, soumis à de multiples traumatismes cutanés, sont exposés aux espèces fongiques telluriques ou géophiles. Les éleveurs, maquignons et vétérinaires seront plus réceptifs aux mycoses d'origine animale telles que les teignes inflammatoires. La fréquentation des salles de sport (douches, vestiaires), des piscines, des saunas, l'utilisation de jacuzzis collectifs et la pratique de sport pieds nus (arts martiaux) est à l'origine de nombreuses mycoses localisées aux pieds (dermatophytose surtout). Enfin, en milieu scolaire, l'enfant sera plus réceptif aux agents des teignes anthropophiles. Les voyages intercontinentaux, le brassage des populations, facilitent le contact avec des espèces exotiques (Chabasse., 1999).

**II-7-1-3- Physiopathologie des mycoses et leurs facteurs favorisants :**

Un champignon implanté chez son hôte doit satisfaire à trois fonctions fondamentales ; se nourrir; se protéger et assurer sa reproduction. Ce sont les conditions nécessaires à sa survie dans l'organisme hôte. Les rapports hôte- parasite, lorsque ce dernier est un mycète, sont extrêmement complexes. Le champignon est un eucaryote doué d'un polymorphisme important. La cellule fongique, implantée dans les tissus, présente des aspects variés : forme levure, mycélium ou pseudomycélium, les formes de résistance (Chlamydospores), des morphologies parasitaires caractéristiques (cellule fumagoïdes, sphérules, grains, etc.). Cette variabilité morphologique s'accompagne d'une variabilité biologique, génétique et antigénique. Les variations phénotypiques peuvent être associées à l'expression d'une certains pathogénicité. Par ailleurs, il faut toujours

être associées à l'expression d'une certaine pathogénicité. Par ailleurs, il faut toujours intégrer l'hôte : ce dernier aura tendance à limiter, voire à contrecarrer le développement du mycète. Un hôte sain dont les défenses sont parfaitement opérationnelles peut habituellement stopper l'infestation fongique. Le champignon se maintient parfois en commensale, c'est-à-dire sans provoquer un état pathologique chez celui qui héberge, mais cet état est instable, donc temporaire. Colonisant la peau et les muqueuses, le commensal n'entraîne pas de lésions perceptibles. À l'opposé, chez l'hôte fragilisé, le mycète peut envahir les tissus profonds et causer une infection systémique pouvant être mortelle. C'est ce qui explique la place importante des champignons agents de mycoses dans la pathologie opportuniste et nosocomiale (Chabasse., 1999).

La séquence des événements qui contribuent à l'installation du champignon chez son hôte (homme, animal) peut se résumer de la façon suivante : Colonisation et adhérence ; Pénétration ; Multiplication et survie chez l'hôte (Chabasse., 1999).

#### II-7-1-4- La classification clinique et aspects pathologiques :

##### 1- Les mycoses superficielles :

**a- Piedra blanche :** C'est une infection chronique de la hampe des poils de la barbe, des aisselles ou du pubis. Elle peut aussi toucher les cheveux. Des nodules blancs irréguliers et duveteux constitués d'hyphes et d'arthroconidies sont formés autour des poils. Les nodules prennent rapidement la coloration de Parker. L'infection est provoquée par des espèces du genre *Trichosporon*, *T. inkin* ou *T. cutaneum*, autrefois réunies dans le complexe *T. beigelii* (Midgley et al., 2004).

**b- Piedra noire :** C'est une infection du cheveu provoquée par *Piedraia hortae*. C'est une infection rare, limitée aux tropiques. Les cheveux ont des nodules denses, noirs, attachés à la hampe, de taille variable et souvent visibles à l'œil nu. Quand les nodules sont plongés dans de la potasse, on peut observer les ascospores fusiformes contenant des ascus. Les cultures produisent des colonies brun foncé ou noires de *P. hortae* (Midgley et al., 2004).

**c- Dermatophytoses :** Les mycètes qui colonisent les cheveux, les ongles et la couche superficielle de l'épiderme (stratum corneum) sont appelés **dermatophytes** ; ils croissent uniquement sur la kératine de la couche cornée de l'épiderme, présente en ces endroits grâce à la production de kératinase. Les infections dues à ces mycètes sont appelées **dermatomycoses** ou, plus couramment, **teignes**. La **teigne du cuir chevelu**, ou *Tinea capitis*, est relativement courante chez les enfants fréquentant l'école élémentaire et elle peut entraîner la chute des cheveux sur les zones atteintes. L'infection a tendance à s'étendre de façon concentrique, et elle se transmet généralement par contact avec un objet inanimé. L'infection touche également d'autres parties du corps humain : on distingue ainsi la **teigne de l'aîne**, ou *Tinea cruris*, et la **teigne du pied**, aussi appelée **pied d'athlète** ou encore *Tinea pedis*. Le fort taux d'humidité de ces zones favorise en effet les infections fongiques. L'**onychomycose** (mycose des ongles), ou *Tinea unguium*, est fréquente chez les personnes dont les mains ou les pieds restent humides.



Trois genres de mycètes jouent un rôle dans les mycoses cutanées : *Trichophyton* peut infecter les cheveux, la peau et les ongles ; *Microsporum* n'attaque en général que les cheveux et la peau ; enfin, *Epidermophyton* touche seulement la peau et les ongles. Les spores ou conidies produites par les mycètes persistent dans l'environnement, par exemple sur les planchers des douches publiques et des piscines, sur des tapis humides et dans des chaussures de course. Les mycoses sont opportunistes, si bien que l'implantation des spores dans la peau n'est favorisée que si cette dernière est altérée. Par conséquent, les personnes dont la peau des pieds est irritée, fissurée et moite, sont plus vulnérables à l'infection. De plus, certains mycètes tels que *Trichophyton* sécrètent des protéases qui modifient la membrane plasmique des cellules de la peau, ce qui permet l'attachement du mycète à la cellule hôte puis sa croissance (Tortora., 2003).

## 2- Mycoses sous cutanées :

a- **Sporotrichose** : *Sporothrix shenkii*, est un champignon dimorphe, saprophyte, tellurique, mondialement réparti. Les infections se produisent après une lésion pénétrante de la peau, ou une contamination de blessure. La période d'incubation est de 1 à 3 mois, et conduit au développement de lésions granulomateuses chroniques, cutanées, lymphocutanées ou extracutanées, qui peuvent s'ulcérer et libérer un exsudat (Baker., 2001).

b- **Chromomycose** : La chromoblastomycose ou chromomycose, est une affection tropicale lentement évolutive du derme et de l'hypoderme. C'est une maladie dermatologique verruqueuse, due à 7 espèces de champignons différents : *Fonsecaea pedrosoi*, *F. compacta*, *Cladosporium carrionii*, *Phialophora verrucosa*, *Rhinocladiella cerophila*, *Wangiella dermatidis* et *Exophiala spinifera*. Elle a été décrite dans tous les continents, mais ce sont particulièrement les zones tropicales humides qui sont touchées. Les lésions évoluent sur un mode chronique (Chabasse., 2003).

c- **Mycétome (Maduromycose)** : Elle est causée par *Madurella mycetomatis* qui est mondialement répandue surtout sous les tropiques. Parce que le mycète détruit le tissu sous cutané et produit de graves déformations, l'infection est souvent appelée «mycétome» ou «tumeur fongique». Une forme de mycétome connu sous le nom de «pied de Madura», résulte d'abrasion de la peau acquise par la marche à pieds nus sur un sol contaminé (Prescott *et al.*, 2003).

## 3- Mycoses profondes :

a- **Aspergilloses** : Ce sont des mycoses provoquées par des champignons imparfaits filamenteux appartenant au genre *Aspergillus* (mycologie médicale). *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* sont les principaux pathogènes (Midgley *et al.*, 2004). La contamination se fait par les voies aériennes le plus souvent, et les spores sont véhiculées par les systèmes de ventilation; et les travaux de construction majorent les risques d'infection aspergillaire. Le dernier mode de l'infection est la réactivation des formes latentes endogènes, chez des patients antérieurement traités pour une aspergillose, ou porteurs d'un aspergillome. Les facteurs prédisposant à une infection par *Aspergillus* sp. , sont bien définis, ils déterminent la forme latente de l'infection (Gayraud., 2006).

- **Aspergillose pulmonaire invasive :** C'est une pneumopathie due à *A. fumigatus*, survenant chez les sujets neutropéniques, et provoquant une fièvre et des troubles pulmonaires : toux, hémoptysie, dyspnée, douleurs thoraciques (Bouveron, 1995). La dissémination hématogène peut atteindre tous les viscères, le cerveau, l'œil, le rein et les os (Gayraud., 2006).

- **Aspergillome du poumon :** A la différence des aspergilloses invasives, l'aspergillome ou «truffe» colonise une cavité pulmonaire volontiers une caverne tuberculeuse. La symptomatologie pulmonaire est plutôt liée à la pathologie sous jacente qu'à l'aspergillome. Le signe radiologique est l'image en grelot. L'hémoptysie est la seule complication grave connue (Gayraud., 2006).

- **Aspergillose invasive du sinus maxillaire :** Elle est typiquement unilatérale, contrairement aux sinusites bactériennes. Elle peut être aiguë ou chronique et survient chez des sujets profondément immunodéprimés. *Aspergillus flavus*, est le plus souvent en cause. Elle s'étend rapidement aux structures de voisinage en particulier le cerveau et l'œil, provoquant une cécité unilatérale et des céphalées (Gayraud., 2006).

- **Aspergillose invasive du conduit auditif :** Elle est liée à une colonisation du conduit auditif externe par *A. niger* le plus souvent (Gayraud., 2006).

- **Aspergillose broncho pulmonaire allergique :** Elle est définie par l'association d'un asthme, d'infiltrats pulmonaires, de bronchectasies proximales, d'une hyperéosinophilie, de réactions cutanées immédiates positives à *A. fumigatus* et une augmentation du taux de preceptines et d'IgE sériques, spécifiques, antiaspergillaires. La fièvre est absente (Gayraud., 2006).

**b- Histoplasmoses :** Les histoplasmoses sont des mycoses dues à *Histoplasma capsulatum* dont il existe deux variantes qui se distinguent par leur épidémiologie, leur symptomatologie clinique et l'aspect de l'histoplasme dans le tissu infecté (Chabasse., 2007).

- **Histoplasmosse africaine :** Elle est provoquée par *H. duboisii* dont l'habitat est incertain. L'histoplasmosse africaine est une affection granulomateuse qui se contracte par voie digestive ou cutanée. Ce sont les lésions ostéoarticulaires, gonglionnaires ou cutanées qui prédominent; ces derniers peuvent être nombreux; il s'agit de papules, de papulovesicules, de pustules ou de nodules sous cutanées. L'affection peut se disséminer, entraînant la mort (Saura., 1990).

- **Histoplasmosse américaine :** C'est une maladie endémique d'Amérique du nord, due au champignon parasite *H. capsulatum*, elle ressemble au Kala-azar ou à la tuberculose et est caractérisée par une splénomégalie, une émaciation, de la fièvre et une leucopénie (Fattorusso *et al.*, 2006).

**c- Blastomyose :** C'est une mycose granulomateuse due à *Blastomyces dermatidis* que l'on observe sporadiquement en Amérique du nord et en Afrique. La maladie est transmise par l'inhalation de spores contenues dans la poussière. On observe des formes aiguës, avec atteinte de la peau et des poumons, qui peuvent évoluer vers la dissémination et l'atteinte osseuse, urogénitale et du SNC (Système nerveux centrale).



dissémination et l'atteinte osseuse, urogénitale et du SNC (Système nerveux centrale). Les formes cutanées chroniques se caractérisent par une papule qui s'ulcère et s'étend progressivement pendant des mois ou des années (Fattorusso *et al.*, 2006).

**d- Coccidioidomycose :** C'est une maladie provoquée par le champignon dimorphique *Coccidioides immitis*. Ce dernier pousse dans les régions au sol alcalin ne connaissant pas de gelées sévères. On le trouve principalement sur le continent américain. *C. immitis* pousse dans le sol à l'intérieur d'un mycélium qui produit plusieurs arthrospores. Ces arthrospores sont résistantes à la dessiccation et extrêmement virulentes. Elles sont inhalées par les humains et se développent en sphérules, lesquelles provoquent une broncho-pneumonie le plus souvent désignée sous le nom de « Coccidioidomycose primaire ». Si l'infection se prolonge pendant plus de six semaines, elle est appelée « Coccidioidomycose primaire persistante » et est associée à une pneumonie progressive. La formation de cavernes et des nodules qui peuvent se traduire par une réactivation ou une dissémination hématogène (Duhamel., 2007).

**e- Para-coccidioidomycose :** Elle est due à *Blastomyces brasiliensis* présent à l'état endémique au Brésil. Comme au cours de la coccidioidomycose pulmonaire, on distingue trois stades: une primo infection, une forme chronique et une forme aigüe disséminée avec pour chacun des stades, des aspects radiologiques superposables à ceux de la coccidioidomycose (Frija et Attal., 2002).

**f- Zygomycoses (Mucormycoses) :** Mycoses rares, les zycomycoses pulmonaires appelées aussi « phycomycoses », est dues à des champignons de la classe des Zygomycètes. Elles sont cosmopolites et n'atteignent que les patients fragiles (diabétiques en acidose, alcooliques, dénutris, malades sous corticothérapie et immunodéprimés). Le poumon, la face, les cavités sinusiennes et la peau, sont les sites les plus fréquemment atteints. L'atteinte pulmonaire est spécifique, variable, souvent fatale, et le diagnostic souvent fait à l'autopsie. Il repose sur l'histologie surtout, car le germe est difficile à cultiver (Legman., 1996).

## II-7-2-Démarche diagnostic au laboratoire :

### II-7-2-1- Les règles de bon prélèvement :

- Pour les prélèvements cutanées superficielles : Une toilette avec un savon ventre est recommandée le jour de l'examen afin d'éliminer la contamination par des moisissures de l'environnement ayant sédimenté sur la peau. Elles poussent rapidement sur les milieux de culture et empêchent le développement des colonies de dermatophytes (Bouchet *et al.*, 1989).

- L'interrogatoire doit être réalisé à la recherche d'un séjour ou voyage, d'un contact animal, etc. Cela présente une aide précieuse pour le mycologue, car l'aspect des souches diffère selon la provenance des champignons géographiques ou animale (Bouchet *et al.*, 1989).

**II-7-2-2- prélèvements :**

Squames, ongles, cheveux, fragments de biopsies, sécrétions, produits d'expectorations, de lavage et autres liquides biologiques (Chabasse., 2002).

**II-7-2-3- Examen direct :**

L'utilisation d'un éclaircissant facilite souvent la visualisation des éléments fongiques pour les prélèvements de peau ou de phanères (Chabasse., 2002).

**II-7-2-4- Culture :**

Les produits pathologiques sont déposés sur le milieu de culture en plusieurs points distincts et enfoncés légèrement dans la gélose. Outre un ensemencement plus aisé, l'utilisation de gélose en boîte de Pétri facilite l'isolement de l'agent pathogène et les montages à partir des colonies obtenues. Des repiquages sur milieux spéciaux sont parfois nécessaires pour favoriser la conidiogénèse et la pigmentation (Chabasse., 2002).

**II-7-2-5- Incubation :**

Habituellement à 22-25°C pour les prélèvements de peau ou de phanères, à 37°C pour les prélèvements issus des liquides biologiques et des tissus profonds (Chabasse., 2002).

**II-7-2-6- Examen des colonies fongiques :**

**a- Avec un vaccinostyle :** Un fragment de colonie est prélevé avec un peu de gélose à l'aide d'un vaccinostyle et déposé sur une lame porte-objet dans une goutte de colorant (bleu coton, bleu à l'eau, etc.) il est ensuite dissocié, puis recouvert d'une lamelle couvre-objet qui écrase la préparation (Chabasse., 2002).

**b- Avec un morceau de cellophane adhésive transparent ou scotch :** Un petit morceau de scotch est appliqué par sa face collante sur la colonie à l'aide d'une pince, puis déposé sur une goutte de bleu coton sur une lame porte-objet. Une deuxième goutte (plus réduite) est alors déposée sur la face supérieure du scotch qui est ensuite recouverte d'une lamelle couvre-objet. Il convient d'éliminer l'excès de colorant autour de la lamelle à l'aide d'un papier buvard (Chabasse., 2002).

**II-7-2-7- culture sur lame :**

**a- Objectif :** Examiner les organes de fructification, souvent difficiles à observer sur les montages classiques (Chabasse., 2002).

**b- Préparation du matériel :** Déposer une tige de verre en U dans le fond d'une boîte de Pétri de 9 cm de diamètre. Sur ce chevalet, placer une lame porte-objet stérile et fixer dessus un petit carré de gélose de Sabouraud d'environ 5 mm d'épaisseur (Chabasse., 2002).

**c- Ensemencement :** Inoculer les cotés du bloc de gélose avec des petits filaments de la culture à examiner. Recouvrir l'ensemble d'une lamelle couvre-objet stérile. Puis, verser un peu d'eau distillée stérile dans le fond de la boîte, refermer la boîte de Pétri et placer le tout à l'étuve, habituellement à 20-25°C (Chabasse., 2002).

**d- Lecture :** Lorsque la culture est sporulée, prélever la lamelle couvre-objet et la déposer sur une goutte de bleu coton posée sur une lame porte-objet. Si la culture est optimale, éliminer le bloc de gélose ; déposer alors sur la lame une goutte de bleu et recouvrir le tout d'une lamelle. Pour une meilleure conservation, les préparations entre lame et lamelle peuvent être scellées avec du vernis à ongles (Chabasse., 2002).

**II-7-2-8- Interprétation :**

Elle revient toujours au biologiste. En dehors d'un prélèvement profond ou de l'isolement d'un pathogène classique à partir d'un prélèvement superficiel, les critères de pathogénicité sont actuellement bien codifiés :

1. Examen direct positif (présence du champignon dans le prélèvement à l'état parasitaire).
2. Isolement du champignon à plusieurs reprises à partir d'un même site.
3. Isolement du champignon en culture pure et/ou à partir de plusieurs points d'ensemencements.
4. Réponse à une thérapeutique spécifique. Toutefois, ce critère n'est pas obligatoire pour affirmer le caractère pathogène de l'isolat.

Dans toutes les situations, l'interprétation sera facilitée par la lecture et l'analyse du dossier médical du patient. La confrontation clinico-biologique, et donc le dialogue avec le clinicien, prennent ici toute leur valeur (Chabasse., 2002).

# **Chapitre III**

## **Les Moyens de lutte et de prévention**

### III-1- Introduction :

Les mesures de prévention liées à une hygiène rigoureuse occupent la première phase dans cette stratégie, et se révèlent d'autant plus utiles que les mesures de lutte sont parfois inutilisables (Boiron., 1996).

Les mesures d'hygiène reposent essentiellement sur la salubrité ; obtenue par le nettoyage et la désinfection des locaux et du matériel, le maintien d'une humidité relative basse (inférieur à 70%) peut contribuer à limiter la croissance de la plupart des champignons (Boiron., 1996).

Les enceintes à flux laminaire répondent à cette exigence et sont parfois accompagnées de système de décontamination des surfaces de travail. Enfin l'hygiène du personnel (lavage des mains, utilisation de gants ; etc.), reste une mesure indispensable pour compléter efficacement l'arsenal préventif de la contamination fongique (Boiron., 1996).

### III-2- Généralité :

La lutte contre les moisissures implique la connaissance de nombreux paramètres qui ne peuvent être évalués qu'après une investigation rigoureuse pour : (Botton et al ; 1990).

#### III-2-1- Identification et repérage des moisissures :

Les moisissures sont identification ne présente aucun intérêt seule l'identification de l'agent responsable de fabrication peut apporter des résultats exploitables pour la solution du problème (Botton *et al.*, 1990).

**A/ La fréquence des espèces des moisissures isolées :** Une distinction doit être faite entre les espèces constantes retrouvées dans plus de 80% des recherches réalisées et les espèces fréquentes retrouvées dans 30 à 80 % des analyses, celles occasionnelles accidentelles, retrouvées dans moins de 10 % des cas (Botton *et al.*, 1990).

**B/ Le degré de contamination :** Considérer et évaluer la contamination des matières premières constituent le premier niveau de détermination de contamination en effet la majorité des denrées alimentaires résultent du mélange et/ou de la transformation de matières premières. Une espèce même présente à l'état de traces au départ, peut trouver dans le produit finale a des conditions favorables à son développement (Botton *et al.*, 1990).

L'identification des diverses espèces présentes constitue une étape primordiale pour la suite des investigations. Les installations de transformation constituent généralement des foyers relais de recontamination et se trouvent le plus souvent contaminées et peuvent



aussi constituer des lieux ou de prolifération des espèces incriminées *Fusarium* ; la méthode la plus souvent utilisée pour la recherche des *Fusarium* et moisissures en général c'est la technique classique d'écouvillonnages (Botton *et al.*, 1990).

### III-2-2- Recherche des particules biologiques des souches indésirables :

La connaissance de la biologie des souches isolées permet une définition précise de l'agent responsable de la contamination des denrées.

❖ Les paramètres à connaître sont :

- Les températures optimales de croissance ;
- Les températures l'étales en fonction du temps d'exposition ;
- Les facteurs nutritifs essentiels ;
- La durée de mise en germination des spores ;
- La vitesse de croissance ;
- La rapidité et l'intensité de la sporulation ;
- La résistance aux agents physiques et ou chimiques.

Ce dernier paramètre conduit aux choix des produits désinfectants convenable adapté et tenant compte de l'identité des spores ainsi que des possibilités d'application intégrant la nature des matériels (forme, structure).

Enfin, la connaissance du processus de fabrication et la composition physico-chimique du produit faciliter à la recherche des causes d'accident (Botton *et al.*, 1990).

### III-3- Moyens de lutte :

Pour supprimer la présence de ces moisissures nocives aussi bien pour l'homme que pour les animaux différentes méthodes de lutte, physiques, chimiques et biologique sont décrits.

Selon leur auteur, elles auront été choisies en fonction de leur facilité et leur bon résultat. Il est important de souligner que les premières mesures à prendre sont les mesures d'hygiène (Botton *et al.*, 1990).

Ces mesures se situent à plusieurs niveaux :

#### III-3-1- La solubrité des locaux :

En considérant les endroits peu accessibles où le développement des moisissures pourra s'y faire. Les produits utilisées pour la désinfection sont en générale ceux à action fongicide importante et bactéricide ; tel est le cas des composés chlorés (hypochlorite, chloramine), composé phénolique (crésol), les iodophores, les alcools (éthanol) ainsi que les ammoniums quaternaires notons que l'humidité relative des locaux doit être inférieur à 70-95 % ; la solution de Dakin utilisée comme antiseptique (Botton *et al.*, 1990).

**III-3-2- La propreté de surface de travail :**

La décontamination de la surface de travail est souvent assurée par des lampes : germicides à rayonnement ultra violet (Botton *et al.*, 1990).

**III-3-3- L'hygiène du personnel :**

L'hygiène s'adresse également aux personnes, tout spécialement à celles qui sont impliquées dans la manipulation de produits stériles ou de produits alimentaires. L'usage des gants, le port de vêtements réservés à l'air du travail ...etc. (Botton *et al.*, 1990).

**A/ Les moyens physiques :**

Les moyens physiques, se révèlent plus ou moins efficace pour combattre le développement des moisissures, ou des micro-organismes en générale une premier groupe de procédés tel que la congélation ; réfrigération des autres procédés c'est : la déshydratation (lyophilisation, séchage), augmentation de la pression osmotique ou abaissement du pH, soit à les détruire, par stérilisation, pasteurisation, irradiation (radiations ultraviolettes, radiations ionisâtes) (Boiron., 1996).

**1. Méthodes limitant le développement des moisissures :****❖ Réfrigération et congélation :**

la réfrigération maintient les produits entre 0° et 4 °C, alors que la congélation les porte à des température plus basses -10°C à 40°C et même au-delà, la conservation est excellente pendant de nombreux mois et la destruction des micro-organismes n'est pas négligeable.

Ceci s'explique par le fait que le temps de latence avant que la croissance devienne perceptible est extrêmement long aux basses températures (Botton *et al.*, 1990).

**❖ Déshydratation :**

Les champignons exigent pour leur croissance une certaine quantité d'eau ; l'humidité relative, atmosphère doit être au minimum de 70-75%. En ce qui concerne les denrées alimentaires une partie de l'eau se trouve retenue par les sels dissous, les protéines, les glucides et cette eau n'est pas disponible pour les micro-organismes.

Les champignons tels les *Fusarium* sont généralement plus tolérant à un potentiel hydrique bas que les bactéries le seront par des moisissures (Botton *et al.*, 1990).

D'autres procédés sont aussi utilisés on a par exemple la :

**a- Déshydratation au soleil :** méthode traditionnelle communément appliquée aux fruits semences (grains de blé...), poisson.

b- L'augmentation de la pression osmotique : Est la meilleure méthode utilisées pour prévenir le développement des moisissures du fait qu'elle limite leur disponibilité en eau. Il s'opère une plasmolyse et leur métabolisme et arrête s'ils ne meurent pas.

D'une manière générale les champignons sont généralement moins sensibles aux fortes pressions osmotiques que les bactéries (Botton *et al.*, 1990).

❖ L'abaissement du pH :

Peut aussi faire l'objet d'un autre procédé de lutte. Les moisissures généralement se développent à des valeurs de pH plus bas, on essaye de modifier ce point de telle manière à les limiter.

Exemple : pour *Fusarium oxysporum* qui vu pH minimum de 1.8 et un pH maximum de 11.1 nous indique le changement qu'il faut droit opéré (Botton *et al.*, 1990).

2. Moyens détruisant :

❖ La stérilisation :

La stérilisation éliminant tous les micro-organisme, une opération pendant 20 minutes à 120 °C c'est nécessaire.

La stérilisation par la chaleur humide c'est la plus utilisée pour les objets. Les solutions, les milieux nutritifs, les denrées alimentaire, le denrée ayant un pH supérieur à 4.5 comme les conserves de poissons, de viandes supportant des températures plus élevées (115 à 150 °C).

Il est utilise d'apprécier le degré du résistance à la chaleur de *Fusarium*, afin d'adapter les modalités de stérilisation deux paramètres sont importants : l'inactivation en fonction du temps et l'inactivation à différents températures (Botton *et al.*, 1990).

❖ L'irradiation :

L'irradiation est connue de puis longtemps pour ces propriétés décontamination, le rayonnement solaire (ou radiation U.V) par exemple s'avère un précieux agent naturel de stérilisation seulement l'emploi des rayons U.V est incompatible avec les aliments que renferment des corps gras notamment insaturés car ils accélèrent le rancissement imputable à l'oxydation des lipides (Botton *et al.*, 1990).

B. Les moyens chimiques :

L'utilisation des gaz est un moyen très efficace, les produits alimentaires sont Conditionnés dans une atmosphère dite « contrôlée » ou modifiée.

La pression partielle de chacun des gaz est maintenue pendant le stockage à une valeur donnée. Cette atmosphère est dite modifiée quand après conditionnement dans un atmosphère de composition donnée l'atmosphère évaluée au cours un atmosphère de composition donnée l'atmosphère évaluée au cours du temps, les gaz les plus utilisées sont : le gaz carbonique, l'oxyde d'éthylène, le  $\beta$  propriolactone.

Il y a des produits utilisés pour un but conservateur et donc inhibiteur du développement des moisissures.

Il s'agit des antibiotique dont le plus utilisés, sont la Natamycine et Lanisine et des substances minérales et organiques généralement désignées sur l'emballage des denrées alimentaires (Botton., 1996).

# Conclusion



**Conclusion :**

Les moisissures ou champignons filamenteux, ont une grande importance en raison de leur nocivité, leurs activités néfastes sont multiples.

La présence des moisissures dans un aliment peut conduire à une altération de celui-ci comme elle peut provoquer des troubles dangereux chez le consommateur, occasionnellement peut également survenir une exposition des denrées alimentaires à des mycotoxines, celle-ci dépend de leur formation par des souches fongiques, spécifiques et est influencée par des facteurs d'environnement mais le risque le plus dangereux et la production de toxines qui provoquent des intoxications graves et quelques fois mortelles chez les animaux domestiques mais l'homme peut également être atteint cette production varie en fonction des conditions géographiques, des méthodes de production et de stockage des denrées alimentaires. Alors pour combattre ce problème il faut améliorer les conditions de stockage pour qu'ils soient défavorables pour la multiplication des moisissures.

Les moisissures comestibles dont quelques uns sont cultivées industriellement qui contribuent à altérer les matériaux et les marchandises (matières premières, produits industriels et agricoles), ces propriétés nuisibles de nombre de ces micro-organismes peuvent être mises à profit dans la nature et contrôlées par l'homme pour convertir les déchets agricoles et industriels, ou transformer des molécules polluantes (pesticides, détergents), en produits plus acceptables, les conséquences économiques de ces détériorations sont considérables à la fois en raison des pertes qu'elles occasionnent et des mesures préventives ou correctives qu'elles exigent.

Aussi il faut offrir l'occasion de consommer des aliments frais directement après la récolte. Les moisissures sont utilisées par l'homme depuis fort longtemps dans la fabrication de certains produits alimentaires, certaines synthèses sont effectuées à l'échelle industrielle et sont de première importance telles celles d'enzyme, d'antibiotiques...etc.

Le pouvoir pathogène des moisissures peut s'exprimer de diverses façons. En produisant des toxines, elles peuvent être à l'origine d'intoxications alimentaires, ou de mycotoxicoses par l'accumulation de ces toxines dans les végétaux et leur consommation par l'homme ou l'animal. Différent est le développement des champignons filamenteux dans l'organisme humain (colonisation, invasion et dissémination).

Contrairement à ses effets indésirables, les moisissures peuvent avoir des effets bénéfiques, sur l'industrie alimentaire, chimique ou encore pharmaceutique et un rôle important dans la lutte biologique contre les insectes nuisibles.

# Références Bibliographiques

**Référence :**

- Adams, M.R., Moss, M. (2002).** Toxingenic Fungi, In « Food Microbiology ». Rsc, Uk. P : 282-301.
- Apfelbaum, M., Roman, M., Dubus, M. (2004).** diététique et nutrition, paris, masson.p :31.
- Association française des Enseignants de chimie thérapeutique. (1999).** Traite de chimie thérapeutique volume 5, principaux antifongiques Tome 1 : antifongiques, Technique et documentation, Edition Médicales internationales. P :3.
- Backer R., Lumsden J. (2001).** Atlas de cytologie, canines et féline 3<sup>ème</sup> édition, Elsevier Masson, Paris 306 p:24.
- Berthier et valla. (1990).** Moisissures mycotoxine et aliment du risque a la prévention. Université Clod Bernard lion laboratoire de mycologie .[www.wondy.univ-lyon1.fr/service/cours/mycote .htm](http://www.wondy.univ-lyon1.fr/service/cours/mycote.htm).
- Blanc, P.J., Laussac, JP., Le, J., Le, B.P. Loret M Pareilleux A Prome D Prome J Santerre A Goma G. (1995).** Chracterisation of monascidin A form monascus as citrinin, international journal of food. p : 201-213.
- Boiron, P. (1996).** Organisation et biologie des champignons. Nathan. P : 37, 97.
- Botton, B., Breton, A., Ferre, M., Gauthier, S., Guy, B.H., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y., Veau, P. (1990).** Biotechnologie, moisissures utiles et nutritionnelles, Importances industrielle, 2<sup>ème</sup> édition. Kiaison. P : 38-41/121-256/312-313/210-214.
- Bouchet, P.H., Guignard, J.L, Madulo-leblaud, G., Reglimasson, P. (1989).** Mycologie générale et médicale. P : 91-160.
- Bouix, M., Leveau, J.Y. (1993).** Microbiologie industrielles Micro-organismes d'intérêt industriel, technique et documentation. Lavoisier. P : 119, 124.
- Bouveron P., Youinou P. (1995).** Immunopathologie, allergologie, maladies infectieuse, parasitologie génitale, 2<sup>ème</sup> édition, Elsevier Masson, Paris, 459p : 326.
- Bourgeois, C.M., Mexle, J.F.F., Zucca, j. (1996).** Microbiologie alimentaire aspect Microbiologique de sécurité de la qualité des aliment Tome 1. Technique et documentation. P : 176-181/ 241-244.
- Bouseboun, H. (2002).** Elément de Microbiologie générale. Université Mentouri Constantine. 1<sup>ère</sup> édition. P : 5-9.



**Bouseboua, H.** (2005). *Elément de Microbiologie générale*. Université Mentouri Constantine. 2<sup>ème</sup> édition. P : 14, 227.

**Castegnaro M.** (1999). Risques cancérigènes - Les aflatoxine. Dans "Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque" de conseil supérieur d'hygiène publique de France. Technique et Documentation, Paris, p : 22

**Chabasse D., Guiguen C., Contet-Audonnea P.** (1999). *Mycologie médicale*, Masson, 324p.

**Chabasse D., Bouchara J-P., Gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P.** (2002). Cahier de formation N°25, Bioforma -Les moisissures d'intérêt médicale, ouvrage réalisé par le laboratoire de parasitologie et mycologie du CHU d'Angers, Paris, 159p :15-18, 128-131.

**Chabasse D.** (2003). *Mycoses d'importation*, Elsevier Masson, Paris, 110p :p32.

**Chabasse D., Miegerville M.** (2007). *Parasitologie médicale*, 2<sup>o</sup> cycle des études médicales, 3<sup>ème</sup> édition, Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie ANOFEL, France, 262p : 185-235

**Cahagnier, B.** (1998). *Moisissures des aliments peu hydratés, technique et documentation*. Lavoisier, P : 165, 173.

**Duhamel, D.R., Harrell, J.H.** (2007). *Atlas clinique des maladies des voies aériennes, endoscopie, radiologie*, Elsevier Masson, Paris, p 131.

**Ei-Banna, A.A., Pitt, J.I., Leistner, L.** (1987). Production of mycotoxins by penicillium species, systematic and applied microbiology. P : 42-46.

**Fattorusso, V., Ritter, O.** (2006). *Vademecum clinique du diagnostique au traitement*, Elsevier Masson, 2047p :177.

**Frija, J, Attal, P.** (2002). *Radiologie du thorax*, Masson, Paris, 651p : p420.

**Gayraud M., Lartholary O.** (2006). *Maladies infectieuses, VIH sans Infirmiers*, Masson, Paris, 213p :121.

**Guiraud, J.P.** (1998). *Microbiologie alimentaire, Agro alimentaire*. Paris. P : 7-8.

**Guiraud, J.P.** (2003). *Microbiologie alimentaire, technique laboratoire*, paris, Dunod. p :652

**Hetherington, A.C., Raistrick, H.** (1931). studies in biochemistry of microorganism XI on the production and chemical constitution of a new yellow colouring matter citrinine produced from glucose by penicillium citrinumthom philosophical



transaction of the royal society of london series B-biological sciences .P : 269-297.

**Kurata, H.** (1990).mycotoxins and mycotoxicoses.In :A.E.Pohland., V.R.Dowell and J.L.Richards, editors, microbial toxins in foods and feeds.plenumpress, New york, USA. P : 249-259.

**Larpend, J.P., Gaurgaud, M.L.** (1997). Mémento technique de microbiologie, université Blaise pascal, clermont, Ferrand. 3<sup>ème</sup> édition. P : 196.

**Larpen, J.P., larpen, M., Gourgaud.** (1985). Editeurs des sciences et des arts. P : 119-112.

**Leclerc, H., Meyer, A., Deiana, J.** (1994). Cours de Microbiologie générale Nouveau programme. Doin éditeurs. Paris. P : 77.

**Leclerc, J.L., Gaillard, M., Simonet.** (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin éditeur. Paris. P : 5-9.

**Legman P.** (1996). **Scanner thoracique, guide pratique, Masson, Paris, 265p : 233.**

**Midgley G., Clayton Y-M., Hay R-J.** (2004). Atlas de poche de mycologie, Préface à l'édition française, Flammarion, Paris, p 150.

**Mollard, R.** (1986).suivie des microorganismes en relation avec AW (sur aliment pollée).

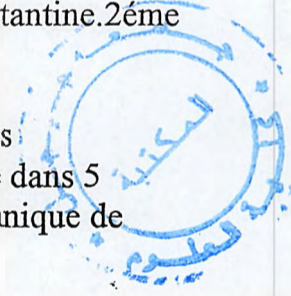
**Molle, M., Molle, M.** (2000). Précis des risques alimentaires. 2 tirages. Lavoisier. P : 98-103.

**Nilsen,K.F.,Gravesen,S.,Nielsen,P.A.,Andersen,B.,Thrane,U.,Frisved,J.C.**(1999). Production of mycotoxins on artificially and naturally infested building materialsmycopathologia.P :43-56.

**Naouale, A.A.** (2001). Microbiologie Alimentaire, université de constantine. P : 32.

**Naouale, A.A.** (2007).Microbiologie Alimentaire, université de constantine.2ème édition. P :50-73.

**Nguyen-Minh-Tri, M.** (2007).identification des espèces de moisissures potentiellement productrice de mycotoxine dans le riz commercialisé dans 5 provinces de la région centrale de Vietnam institue national polytechnique de Toulouse .P :24,30.



**Parats. (2002).** mesure de l'aérocontamination dans les bâtiments des secteurs résidentiel et tertiaire. Des connaissances et pratiques, rapport ademe, agence de l'environnement et de maîtrise de l'énergie .paris.

**Pfohl-Leszkowicz, A. (1999).** métabolisation des mycotoxines effets biologique et pathologies ecotoxicogénèse. dans. Les mycotoxines dans l'alimentation évaluation et gestion du risque .de conseil supérieur d'hygiène publique de France .technique et documentation, paris.P :18-35.

**Prescott L-M., Harley J-P., Klein D-A., Bacq-Calberg M., Ducart J. (2007).** Microbiologie, Boeck université, Bruxelles, 1164 p.

**Roquebert, M.F. (1997).** les contaminants biologique des biens culturels. Elsevier Masson, Paris.

**Roquebert, M.F. (2002).** les moisissures nature, biologie et contamination

**Saurat J-H., Grosshans E., Laugier P., Lachapelle J-M. (1990).** Dermatologie et vénéréologie, 2<sup>ème</sup> édition revue et augmentée, Masson, Paris, Milan Barcelone, Mexico, p:369.

**The CDC Mold Work Group. (2005).** prévention strategies and possible health effects in the aftermath of hurricanes katrina and rita. Atlanta : centers for disease control and prévention.

**Tortora Funk-Case. (2003).** Introduction à la microbiologie, Canada, Erpi ,945p

Date de soutenance le ...../06/2008

Encadreur : M<sup>elle</sup> S. LAGGOUNE

Présenté par :

- BOUDJERIHA Fatiha
- BOUANIKA Fairouz
- ZENADI Akila

Thème :

## Les moisissures pathogènes

Résumé :

Les moisissures sont des champignons microscopiques ubiquistes regroupant des milliers d'espèces. On Les retrouve partout dans divers milieux naturels tels que les écosystèmes naturels, les produits alimentaires, etc. Certaines espèces, sont parasites et pathogènes, elles provoquent plusieurs maladies fongiques chez l'homme (mycoses des ongles, aspergillose, etc.). La prévention consiste à informer le public et contrôler les sources à l'origine de leur croissance. De nombreuses moisissures sont utilisées par l'homme dans la fabrication de divers produits alimentaires, pharmaceutiques... etc.

**Mots-clés :** Moisissures ; Champignons ; Microscopique ; Pathogène ; Mycose ; Aspergillose.

Abstract :

The moulds are microscopic mushrooms ubiquist gathering thousand species. One finds them everywhere in various natural environments such as the natural ecosystems, the food products, etc. Some species, are parasitic and pathogenic, they cause several fungic diseases to man (mycosis of the nails, aspergillosis, etc). The prevention consist to inform the public and to control the sources at the origin of their growth. Many moulds are used by man in the manufacture of various products (food, pharmaceutical, etc).

**Key words:** Moulds; Mushrooms; Microscopic; Pathogenic; Mycosis; Aspergillosis.

المخلص :

الأعفان هي فطريات مجهرية تتضمن آلاف الأنواع. نجدها في أماكن مختلفة، مثل الأوساط الطبيعية، المواد الغذائية... الخ. بعض هذه الأنواع يكون طفيلي و ممرض، يحدث عدة أمراض فطرية (ميكوزات الأظافر، أسبرجيلوز... الخ) تكون الوقاية بتوعية الناس ومراقبة مصادر نموها. العديد من الأعفان تستعمل من طرف الإنسان في صناعة مختلف المواد الغذائية و الصيدلانية... الخ.

**الكلمات المفتاحية:** الأعفان؛ الفطريات؛ مجهري؛ ممرض؛ ميكوزات؛ أسبرجيلوز.