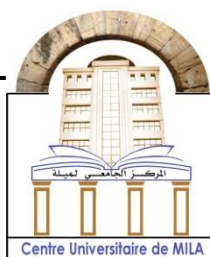


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

**Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence
sur la santé**

Présenté par :

- **BOULOUSEKH Kamer**
- **HOUFANI Mériem**
- **DAAS Amira**

Devant le jury

Encadreur : BENSERRADJ. O

M.C.B. Centre Universitaire de Mila.

Examinatrice : MOUSSAOUI. B

M.C.B. Centre Universitaire de Mila.

Présidente : BENDJEDDOU. M

M.C.B. Centre Universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant pour nous avoir donné le souffle, l'énergie et la volonté pour réaliser cette étude et pour accomplir ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à notre encadreur **M^{me} : BENSERRADJ Ouafa.** d'avoir assuré l'encadrement de notre mémoire, et de nous avoir profité de ses connaissances scientifiques. On la remercie également pour sa patience, sa disponibilité et pour ses conseils précieux.*

Nous tenons aussi à présenter nos vifs remerciements et notre respect au jury pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de juger ce mémoire :

***M^{me} : Bendjeddou** pour avoir accepté de présider ce jury. Qu'elle trouve ici l'expression de nos profondes reconnaissances.*

*Et **Mr : Moussaoui** d'avoir examiné notre mémoire, qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.*

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'ensemble de tous nos enseignants qui ont contribué dans notre formation de long de notre parcours pédagogique. Nous spécifions ceux qui nous ont dirigé et encadré principalement en licence et en master.

Dédicace



Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant, pour avoir guidé mes pas vers un avenir inchaallah prometteur.

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents, source de mon bonheur : Mon père et ma mère en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts pour mon éducation qui m'ont toujours guidé vers le chemin de la réussite.

A ma petite sœur Loudjaine et mes chers frères Aymen , Saber et Wassim qui m'ont aidé et supporté dans les moments difficiles.

A toute ma famille, et mes amies et tous ceux qui j'aime.

A tous mes collègues de travail dans le laboratoire.

*A toute la promotion 2 ème Année Master biochimie appliqué 2022, et spécialement à mes collègues de ce travail « **Kamar** et « **Meriem***

Amira

Dédicace



*Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant De m'avoir donné la force
et le courage pour accomplir ce modeste travail*

Du profond de cœur, Je dédie cet mémoire à tous qui me sont chers.

*À mes chers parents que j'aime tant, sans lesquels je ne serai jamais
arrivée là où j'en suis.*

Ma très chère mère, pour son amour, ses encouragements et ses prières
qui m'ont permis de dépasser toutes les difficultés.

Et mon très cher père, pour son affection, son tendresse et ses conseils
Qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

*Que dieu les garde, qui m'ont éclairé le chemin de la vie par leurs
grand soutien et leurs encouragements et les énormes sacrifices qu'ils
m'ont consentis durant mes études et qui ont toujours aimé me voir
réussir.*

À mes chers frères et ma chère sœur, pour leur appui, leur
encouragements permanents, et leur soutien moral.

À tout ma famille

*À tout mes amies et mes collègues sans exception, surtout de fac “
Meriem, Karima, Rania, Amira, Malak,..*

Et tous ceux qui j'aime.

*Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le
fuit de votre soutien infaillible.*

Dédicace



En témoignage d'amour et d'affection, je dédie ce modeste travail avec une grande fierté à tous ceux qui me sont chers:



A mes très chers parents

Pour leurs soutiens constants, leurs amours et leurs mots d'encouragement qui m'ont permis de me rendre ici aujourd'hui, En ce jour votre fille espérée réaliser l'un de vos plus grands rêves et couronner vos années de sacrifice et d'espoir.

Que ce travail puisse être le résultat de vos efforts et de vos sacrifices. Que Dieu tout vos puissants garde et vos procures santé, bonheur et longue vie .



À mes chers et adorables frères

Vous êtes le plus beau cadeau de ma vie Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.



A mes amis, de fac ou plus lointain ...

Aya ,rania ,karima , kamer , ikram, toujours fidèles. Aux souvenirs de ces très bonnes années inoubliable avec vous et qu'il y en ait encore beaucoup d'autres .



A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.



A toute ma famille.



Meriem

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre I: Les moisissures

1. Historique	4
2. Généralités sur les moisissures	4
3. Classification des moisissures	6
4. Besoins nutritifs et activités biologiques	9
5. Mode de reproduction	10
5.1. La reproduction sexuée :	11
5.2. Reproduction asexuée (végétative) :	11
6. Mode de vie des moisissures	12
6.1. Le saprophytisme	12
6.2. Le parasitisme	13
6.3. La symbiose	13
7. Moisissures et mycotoxines	14

Chapitre II : Les mycotoxines

1. Généralités	16
2. La mycotoxinogénèse	17
3. Les facteurs influençant la production des mycotoxines	18
3.1. Facteurs biologiques (facteurs intrinsèques)	18
3.2. Facteurs extrinsèques	18
4. Les principales mycotoxines	20
4.1. Les aflatoxines	20

4.2. L'ochratoxine A.....	20
4.3. Les fumonisines.....	21
4.4. Les trichothécènes	22
4.5. La zéaralénone.....	22
5. Les principales moisissures toxinogènes.....	22
5.1. Le Genre Penicillium.....	23
5.2. Le genre Aspergillus.....	24
5.3. Le genre Fusarium.....	25
6. Méthodes de détection des mycotoxines dans les aliments.....	27

Chapitre III: Incidence des mycotoxines sur la santé humaine

1. Conditions de contamination.....	29
2. Les principales denrées concernées.....	30
2.1. Les céréales.....	30
2.2. Les fruits et légumes.....	31
2.3. Les produits laitiers	31
2.4. Les oléagineux.....	31
3. Lésions causées par les mycotoxines	32

Matériel et méthodes

1. Echantillonnage.....	35
2. Isolement de la flore fongique.....	36
2.1. Méthode directe d'Ulster.....	36
2.2. Méthode indirecte de dilution.....	37
3. Repiquage et Purification	38
4. Identification	38
4.1. Identification macroscopique	38
4.2. Identification microscopique	40

Résultats et discussion

1. Analyse de la flore fongique totale des échantillons.....	42
1.1. Les fruits secs et légume sec.....	42
1.2. Les épices	43
2. Identification morphologique des souches fongiques isolées	43
2.1. Identification macroscopique	44
2.2. Etude microscopique	47
Conclusion.....	58
Références bibliographiques	60
Annexes	
Résumé	

ADN :	Acide Désoxyribonucléique.
AF :	Aflatoxines.
AFB:	Aflatoxine B pour <i>Aflatoxin Blue</i> .
AFG:	Aflatoxine G pour <i>Aflatoxin Green</i> .
AFM:	Aflatoxine M pour <i>Aflatoxin Milk</i> .
AFSSA :	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
ARN :	AcideRibonucléique.
ATP :	AdénosineTriPhosphate.
A_w :	<i>Activity of Water</i> (Activité de l'eau).
CIRC :	Centre International de Recherche sur le Cancer.
CO₂ :	Dioxyde de carbone.
°C :	Degré Celsius
DON :	Déoxynivalénol.
EFSA :	<i>European Food SafetyAuthority</i> (Autorité Européenne de Sécurité des Aliments).
ELISA :	<i>Enzyme-LinkedImmunosorbentAssay</i> (Dosage immuno-absorption par enzyme liée)
FA/FB/FC/FP :	Fumonisines A, B, C et P.
F-X :	Fusarénone-X.
HT-2:	Toxine HT-2
Hplc :	high performance liquidchromatography(chromatographie en phase liquide haute performance).
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
OT_α :	Ochratoxine _α .
OTA :	Ochratoxine A.
OTB :	Ochratoxine B.
OTC :	Ochratoxine C.

Liste des abréviations

PDA :	le milieu PotatoDextrose-Agar (ou gélose dextrosée à la pomme de terre).
PH :	Potentiel Hydrogène.
Sp/spp :	<i>Specie/Species.</i>
TCT :	Trichothécènes.
T-2 :	Toxine T-2
UV :	Ultraviolet.
ZEA :	Zéaralénone.

Figure 1 : Quelques champignons filamenteux	4
Figure 2 : Moisissures utiles dans le processus d'affinage de certains aliments	5
Figure 3 : Moisissures nuisibles dans certains aliments.	6
Figure 4 : Structure de l'hyphe coenocytique des Zygomycètes	7
Figure 5 : Cycle de reproduction sexuée et asexuée des Zygomycètes.....	7
Figure 6 : Structure du mycélium cloisonné des Ascomycètes	8
Figure 7 : Cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Ascomycètes	8
Figure 8 : Cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Basidiomycètes	9
Figure 9 : Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure	11
Figure 10 : Différents modes de sporulation et les différents types de spores associées	12
Figure 11 : Mycotoxines sur différentes denrées alimentaires.....	16
Figure 12 : Plante de tomates contaminées par <i>Fusarium sp.</i>	17
Figure 13 : Épis de maïs contaminés par <i>Aspergillus flavus</i>	17
Figure 14 : Aspect microscopique des <i>Penicillium</i> : 1- <i>Penicillium</i> monoverticille 2- <i>Penicillium</i> bi verticille.....	23
Figure 15 : Tête aspergillaire d' <i>Aspergillus ochraceus</i> (A), en microscopie électronique(B).....	24
Figure 16 : Caractères morphologiques primaires de deux espèces de <i>Fusarium</i>	26
Figure 17 : Les mycotoxines tout au long de la chaîne, depuis le champ jusqu'à l'assiette du consommateur	30
Figure 18 : Isolement de la flore fongique à partir des échantillons de Raisins secs, Noix et Fèves	37
Figure 19 : Technique indirecte d'isolement des moisissures.....	37
Figure 20 : Purification des isolats fongiques obtenus.....	38
Figure 21 : Pourcentage des isolats fongiques obtenus à partir des fruits secs et un légume sec.....	42
Figure 22 : Pourcentage des isolats fongiques obtenus à partir des épices.....	43
Figure 23 : Pourcentages des isolats fongiques.....	54

Tableau 1 : Principales mycotoxines retrouvées dans l'alimentation humaine et/ou animale.....	14
Tableau 2 : Quelques toxines produites par le genre <i>Penicillium</i>	23
Tableau 3 : Quelques toxines produites par le genre <i>Aspergillus</i>	25
Tableau 4 : Quelques toxines produites par le genre <i>Fusarium</i>	26
Tableau 5 : Modes d'action et effets identifiés des principales mycotoxines.....	33
Tableau 6 : Les différentes variétés des échantillons étudiés	35
Tableau 7 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir des noix	44
Tableau 8 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir des raisins secs	45
Tableau 9 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir des Fèves.	45
Tableau 10 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir du Cumin	46
Tableau 11 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir du poivre noir	47
Tableau 12 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir des noix	48
Tableau 13 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir des raisins secs	49
Tableau 14 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir des fèves	49
Tableau 15 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir du cumin.....	50
Tableau 16 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir du poivre noir.....	52

Introduction

la qualité microbiologique est une composante essentielle, représente un enjeu considérable sur le plan du commerce international, elle est très souvent invoquée pour renforcer les barrières aux importations. De plus, elle a un rôle évident à jouer dans la prévention des maladies d'origine alimentaire (**Larpent et al., 2001**).

Les maladies d'origine alimentaire constituent, à l'heure actuelle, l'un des problèmes de santé publique les plus répandus à l'échelle internationale. Leurs répercussions sur la santé et sur l'économie mondiale sont de plus en plus largement reconnues. Ces maladies sont causées par divers agents en particulier les moisissures (*L'aspergillus* cause l'aspergillose).

Les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Ils sont omniprésents dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié, ce qui leur permet de croître sur divers substrats (**Gacem et al., 2012**). En effet, leur développement indésirable peut modifier l'aspect des produits alimentaires (production de pigments foncés comme la mélanine), et les caractéristiques organoleptiques, (**Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002**).

Ces champignons toxigènes constituent un danger réel pour la santé de l'homme et de l'animal par la sécrétion de substances hautement toxiques au cours de leur prolifération sur ou dans les aliments d'origine végétale ou animale.

Ces substances qu'on regroupe sous le nom des mycotoxines sont répandues à tous les stades de la chaîne alimentaire. Elles ont une composition chimique très variable, ce qui fait que leurs propriétés physico-chimiques et toxicologiques sont extrêmement variées. La plupart sont hépatotoxiques, néphrotoxiques, génotoxiques ou immunosuppresseurs etc. (**Gacem et al., 2012**).

De nombreuses denrées d'origine végétale, dont les céréales, les fruits, les épices, les légumes secs et les fourrages, ainsi que les aliments issus de ces filières, sont exposés aux contaminations par les mycotoxines. (**Bhat et Vasanthi, 2003**).

D'après l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, environ 25% des récoltes mondiales des produits alimentaires sont contaminés par les mycotoxines (**FAO, 2004**). Non seulement les mycotoxines sont dangereuses pour la santé du consommateur, mais elles altèrent aussi la qualité marchande des produits contaminés entraînant ainsi de fortes pertes économiques. (**Zineddine, A et Larbi, I., 2007**).

Dans cette optique, s'inscrit l'objectif de notre travail qui se focalise sur « une contribution à l'étude mycologique de quelques fruits secs, légumes secs et épices commercialisés à Mila ».

Cette étude, repose sur plusieurs points :

- ✓ L'isolement des souches fongiques à partir de différents fruits secs, légumes secs et épices commercialisés à Mila ;
- ✓ La purification et l'identification des isolats obtenus ;
- ✓ L'analyse des résultats obtenus.

Chapitre I : Les moisissures

1. Historique

En 1960, l'Angleterre a été exposée à une importante épidémie touchant les volailles et plus particulièrement les dindons. Cette maladie était caractérisée par une dégradation rapide de l'état de santé, des hémorragies sous-cutanées et la mort des milliers volailles appelée maladie X des dindons "Turkey X disease". Après l'étude de composition de leur nourriture qui est les tourteaux d'arachides provenant du Brésil (Yiannikouris et Jouany, 2002). On découvrit que ces tourteaux étaient contaminés par une moisissure, *Aspergillus flavus*, et, en 1961, des chercheurs anglais du Tropical Product Institute ont montré que *A.flavus* produisait une substance toxique une mycotoxine. Le nom d'aflatoxine est attribué à cette nouvelle matière toxique (Krivobok, 1983).

2. Généralités sur les moisissures

Les moisissures sont des champignons filamenteux (Figure 1) qui ont des actions bénéfiques mais aussi néfastes pour l'homme. Les aliments sont généralement des milieux très favorables à leur développement. Plusieurs moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* sont connues pour être des contaminants des produits agricoles et/ou pour leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques (Cahagnier et al, 1998 ; Doyle et al, 1998 ; Meyer et al, 2004).

L'appareil végétatif des moisissures est dépourvu de tiges, de racines, de feuilles et de système vasculaire. Leur corps somatique (ou végétatif) est appelé thalle. Le thalle filamenteux est formé par des hyphes (Nasraoui, 2015). Le mycélium peut différencier des organes forts variés selon les groupes, spécialisés dans la multiplication et la dissémination, auxquels on accorde la dénomination globale de spores (Bourgeois et al, 1989).

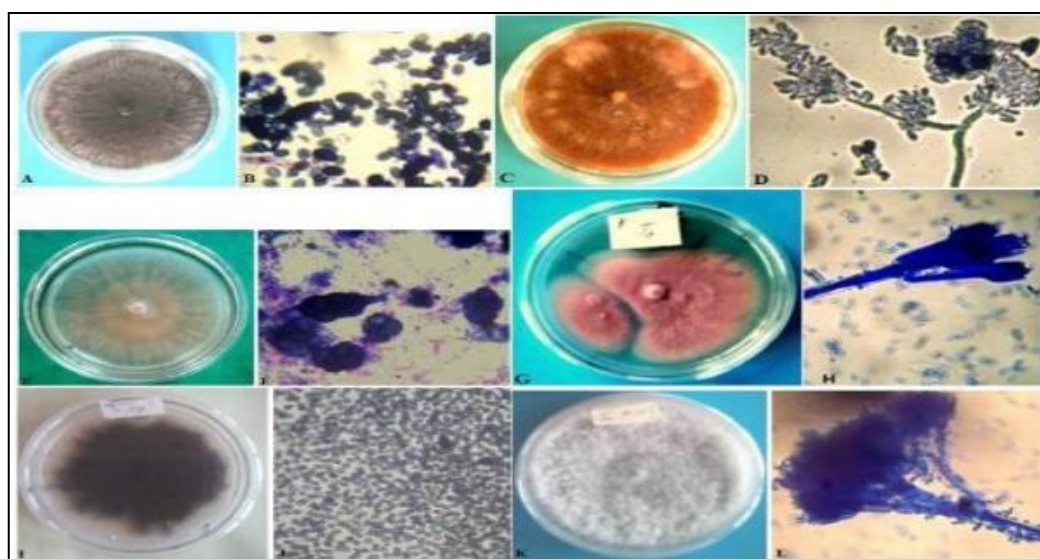


Figure 1 : Quelques champignons filamenteux (Dongmo et al, 2017).

Dépourvues de pigments assimilateurs, les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes dépendants d'une source de carbone organique. Ces champignons peuvent contaminer des milieux très divers comme les céréales, les produits d'origine animale (lait, viande) mais aussi le papier, les tissus, les matières organiques en décomposition, où ils trouvent une source de carbone et d'azote accessibles.

Le développement des moisissures sur ces produits aboutit à des modifications physiques (aspect, odeur et goût) et chimiques.

Ainsi, en fonction de la nature des modifications induites, on peut distinguer deux grands groupes de moisissures

- ✓ **Les moisissures utiles** : Elles sont utilisées dans l'industrie pour conférer aux produits des propriétés organoleptiques et technologiques particulières grâce à leur potentiel enzymatique. Ces espèces sont utilisées en fromagerie : *Penicillium camemberti* qui se développe en surface de nombreux fromages dit "à croûte fleurie" et *Penicillium roquefort* qui est utilisé pour les fromages dit "à pâte persillée". D'autres espèces sont utilisées dans la fabrication des produits de salaison secs tels que *Penicillium jensenii* ou *nalgiovense*, qui forment le feutrage blanc de certains saucissons (**Figure 2**).



Figure 2 : Moisissures utiles dans le processus d'affinage de certains aliments.

(A : *P. Roqueforti* ; B : *P. Comemberti* ; C : *P. Nalgiovense*)

- ✓ **Les moisissures nuisibles** : Le développement incontrôlé des moisissures peut aussi entraîner une altération des qualités organoleptiques (couleur, odeur, goût) et nutritionnelles des produits alimentaires. Ainsi, on estime que le développement incontrôlé de micromycètes est à l'origine de la perte de 5 à 10% des récoltes mondiales (**figure 3**).

De plus, lors de leur développement, les moisissures peuvent produire des métabolites secondaires toxiques pour l'homme et l'animal appelés mycotoxines.



Figure 3 : Moisissures nuisibles dans certains aliments
 (<https://www.aquaportail.com/definition-9936-moisissure.html>).

3. Classification des moisissures

La classification des moisissures est d'abord basée sur un mode de reproduction sexuée ou phase téléomorphe. Ce critère définit quatre des cinq groupes principaux : les Chytridiomycètes, les Zygomycètes, les Basidiomycètes et les Ascomycètes. Certaines moisissures sont le plus souvent ou exclusivement rencontrées à un stade de multiplication asexuée, dit anamorphe. Ces organismes sont alors classés d'après le mode de production des spores asexuées ou conidies. Ces espèces sont classées dans le cinquième ordre, les Deutéromycètes ou Fungi imperfecti (**Boudih , 2011**).

Chez les champignons supérieurs, au stade anamorphe le mycélium végétatif est formé d'hyphes septés colorés ou non. Une cellule hyphale à parois épaisses donne naissance au conidiophore. Celui-ci se termine par une vésicule qui peut être de forme allongée (c'est le cas d'*Aspergillus*), elliptique ou globuleuse donnant naissance aux cellules fertiles conidiogènes portant les conidies. La zone fertile de la vésicule s'appelle stérigmate, peut être unisériel (**Damien, 2015**).

a) Les Zygomycètes

Les Zygomycètes possèdent des hyphes coenocytiques (**Figure 4**) et des organes de reproduction sexuée qui produisent des zygotes, appelés zygospores, dormants quand l'environnement est défavorable pour leur croissance, tandis que la reproduction asexuée est assurée par des sporocystospores qui se développent dans des sporanges à l'extrémité des hyphes aériens (**Georges et al, 2011**) (**Figure 5**).

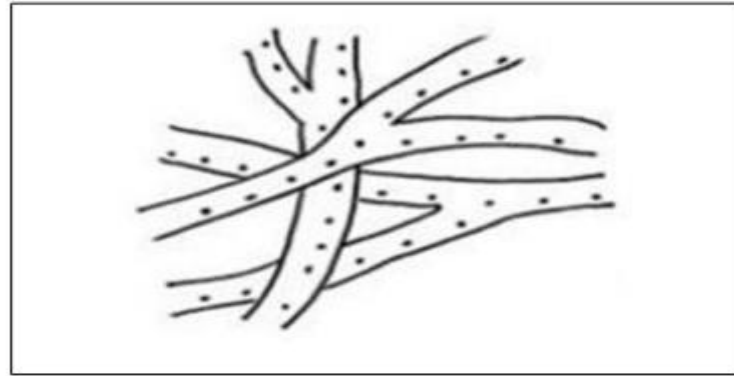


Figure 4 : Structure de l'hyphe coenocytique des Zygomycètes (Nasraoui, 2015).

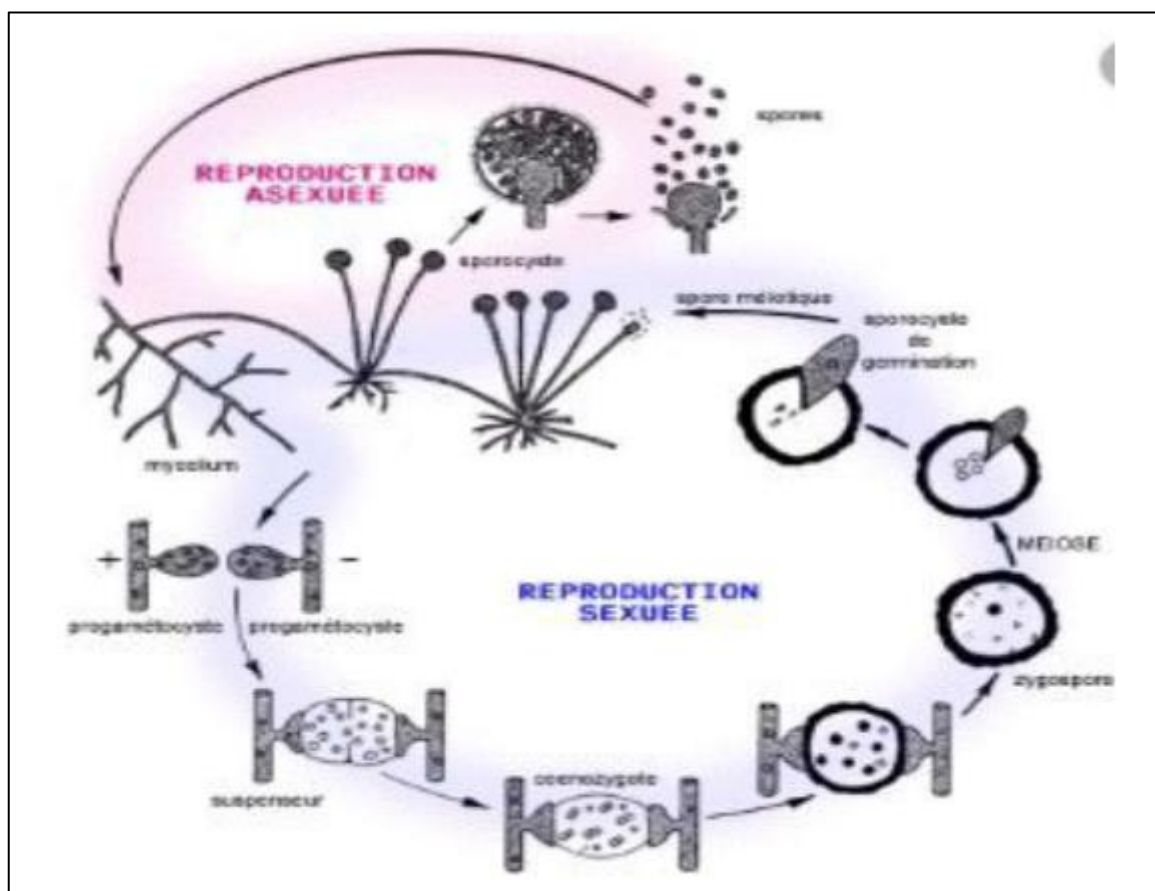


Figure 5 : Cycle de reproduction sexuée et asexuée des Zygomycètes

(Roland et Vian, 1985)

b) Les Ascomycota

Les Ascomycota sont des champignons filamenteux dont les filaments sont séparés par des parois cellulaires croisées appelées septa (**Figure 6**). Les Ascomycètes produisent des spores sexuelles, appelées ascospores, formées dans des structures en forme de sac appelées asques, et aussi de petites spores asexuées appelées conidies. Certaines espèces d'Ascomycota sont asexuées et ne forment pas d'asques ou d'ascospores (**Figure 7**)(Mcconnaughey, 2014).

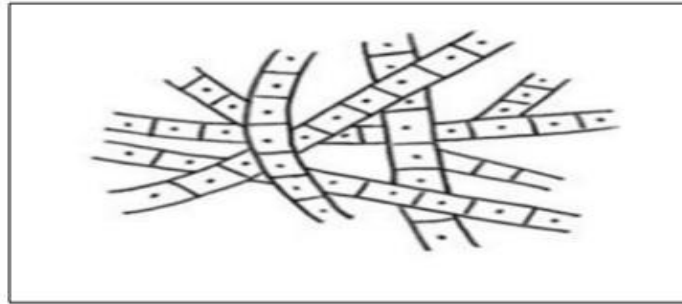


Figure 6 : Structure du mycélium cloisonné des Ascomycètes (Nasraoui, 2015).

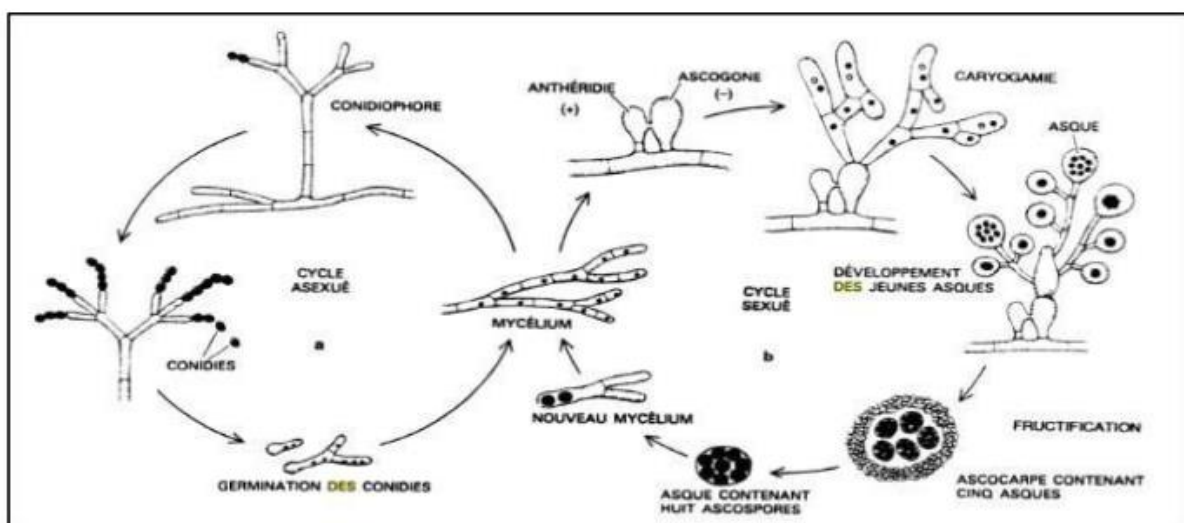


Figure 7 : Cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Ascomycètes (Meyer, 2004).

c) Les Basidiomycètes

Les Basidiomycètes ont des mycéliums septiques filamenteux constitués de chaînes séparées par des parois cellulaires entrecroisées appelées septa. Ces champignons se nourrissent généralement de matière organique en décomposition. Ils subissent souvent une méiose sporique et présentent une forme de reproduction sexuée connue sous le nom d'anisogamie.

Cette dernière consiste en la fusion de deux gamètes sexuels qui diffèrent par leur forme. **La figure 8** représente le cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Basidiomycètes.

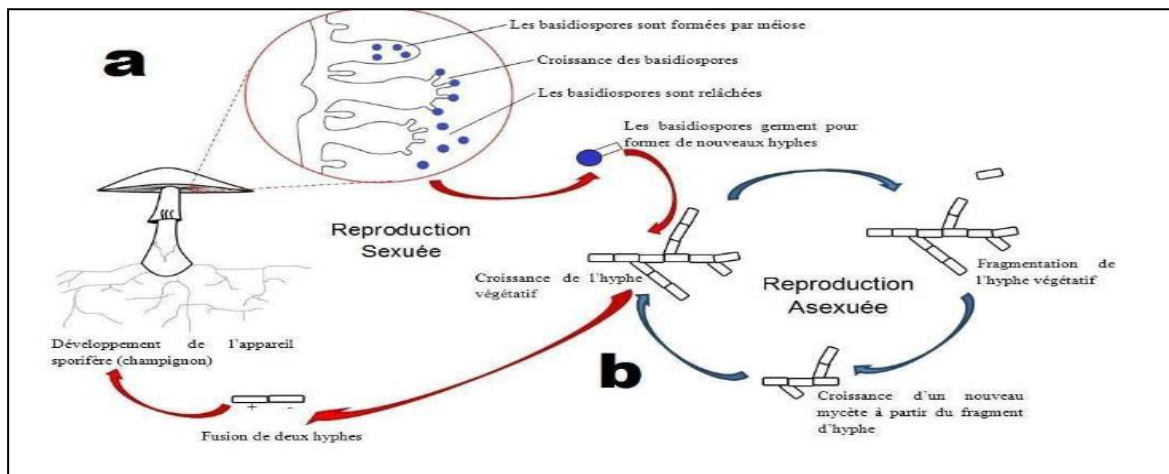


Figure 8 : Cycle de la reproduction sexuée et asexuée des Basidiomycètes (Bousseboua, 2003 ; Lüttge et al, 2002).

d) Les Chytridiomycètes

LCe sont des champignons inférieurs, le mycélium n'est pas septé (sauf dans des structures en cours de reproduction). Les Chitrides produisent des zoospores dans des sporanges. Les zoospores sont mobiles généralement par un flagelle. La reproduction sexuée se fait par la formation d'une spore diploïde après la fusion de 2 cellules haploïdes ou la fusion d'un gamète haploïde avec un œuf immobile. La spore peut subir une méiose et produit un mycélium haploïde ou germer et produire un mycélium diploïde. Le mycélium diploïde peut donner naissance à des sporanges, qui après méiose forment des zoospores haploïdes qui germent en mycélium végétatif haploïde.

4. Besoins nutritifs et activités biologiques

Les champignons sont des hétérotrophes ; ils utilisent des composés organiques comme source de carbone. La digestion des grosses molécules doit commencer dans le milieu extérieur car seules les molécules de taille relativement petite peuvent franchir les parois et gagner le cytoplasme.

La panoplie enzymatique des champignons est extrêmement riche et leur permet d'utiliser les substrats les plus complexes plus efficacement que les bactéries, tel que : la cellulose, la lignine, la kératine, les acides humiques etc. (Davet, 1996).

Le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le maltose, le saccharose, l'amidon et la cellulose représentent les sucres les plus utilisés par les moisissures comme source de carbone

et d'énergie. Ces hydrates de carbone sont dégradés grâce à la glycolyse et le métabolisme aérobie **(Boiron, 1996 ; Nicklin et al, 2000)**. D'autres composés organiques tels que les pesticides, les hydrocarbures, la lignine, la pectine et les lipides sont également dégradés par les moisissures à côté d'autres substrats organiques bon marché comme les déchets issus de l'industrie agroalimentaire (lactosérum, mélasses de canne ou de betterave, amidon de maïs, déchets d'agrumes etc.).**(Nishio et al, 1981 ; Joyeau, 1982 ; Hart et al, 1991)**.

L'azote représente, quant à lui, le second élément chimique le plus important du matériel cellulaire, composé majeur des protéines et des acides nucléiques. Il constitue en moyenne 12% du poids sec cellulaire **(Scriban, 1999)** ; non assimilable sous forme d'azote atmosphérique par les moisissures. Ces dernières métabolisent le nitrate, l'ammonium, l'urée et les acides aminés plus facilement assimilables **(Botton et al, 1990)**. Les peptides et les protéines ne sont utilisés par les moisissures qu'après leur dégradation **(Botton et al, 1990 ; Nicklin et al, 2000)**. Par ailleurs, des sources naturelles complexes sont souvent utilisées comme source azotée telle que : la caséine, les farines de poissons et de soja, le «corn steepliquor » etc. **(Joyeau, 1982)**.

Le cuivre, le magnésium, le sodium, le zinc et le molybdène constituent les micronutriments, et sont disponibles en grande quantité dans l'environnement des moisissures **(Nicklin et al, 2000)**. Ils sont nécessaires à la plupart des espèces fongiques pour la production de cytochromes, des pigments, d'acides organiques, etc... Par ailleurs, le phosphore, le potassium, le magnésium, le calcium et le soufre représentent les macronutriments requis par les moisissures et sont convertis en divers composés après réduction **(Boiron, 1996)**.

Les facteurs de croissance sont des composés indispensables à la nutrition et à la croissance de certains microorganismes **(Leclerc et al, 1995)**. Les stérols, les acides gras, les purines et les pyrimidines constituent des facteurs de croissance en quantité relativement importante pour le développement d'un certain nombre d'espèces. Les stérols jouent un rôle majeur dans la constitution des membranes fongiques et leur perméabilité **(Boiron, 1996)**.

Diverses vitamines sont également d'une grande importance pour leur croissance, en particulier la thiamine, la biotine intervenant comme coenzyme lors des carboxylations **(Rivière, 1975 ; Botton et al, 1990)**.

5. Mode de reproduction

L'appareil végétatif des champignons est un thalle composé de filaments (hyphes) Ramifiés dont l'ensemble constitue le mycélium. Ils se reproduisent grâce à des spores **(Nguyen Minh Tri, 2007)**.

Après un certain temps de développement, les moisissures comme tous les champignons et autres êtres vivants doivent se reproduire, puis se propager pour aller coloniser d'autres substrats (Roquebert, 1997).

Les champignons se reproduisent de deux manières :

- Par voie sexuée : suite à la fusion de deux cellules gamétiques.
- Par voie asexuée ou végétative, la plupart d'entre eux étant rencontrés dans le groupe des imparfaits (Champion, 1997).

5.1. La reproduction sexuée :

La reproduction sexuée se base sur la fusion de deux gamètes haploïdes (n) donnant un zygote diploïde ($2n$). Une structure (+) à n chromosomes rencontre une autre structure (-) et la fusion des cytoplasmes donne naissance à un nouveau mycélium à $2n$ chromosomes (Lecellier, 2013), (Figure 9).

La reproduction sexuée se déroule en trois étapes : plasmogamie, caryogamie et méiose (Jennings *et al*, 1996). La plasmogamie correspond à la fusion cellulaire entre deux cellules haploïdes. La cellule résultante est appelée dicaryon car elle possède deux types de noyaux haploïdes. Les deux noyaux vont fusionner lors de la caryogamie puis la méiose va convertir une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes (Carlile *et al*, 1994).

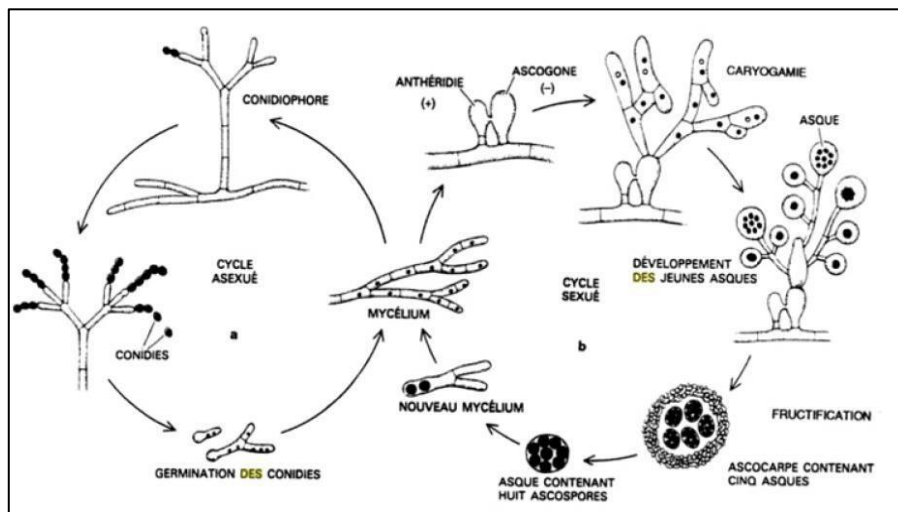


Figure 9 : Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure (Meyer, 2004).

5.2. Reproduction asexuée (végétative) :

Elle est beaucoup plus répandue que la précédente, et si elle ne fait pas intervenir de transformation génétique, elle joue un grand rôle dans la dissémination des espèces. Elle se fait

soit par une fragmentation du thalle, soit par la production de spores asexuées (**Brangeret al, 2007**).

Les spores asexuées sont produites chez un mycète par une mitose suivie d'une division cellulaire (**Prescott et al, 2003**). Il y a trois mécanismes principaux (**Leyral et Vierling, 2007**, **Branger et al, 2007**) (**figure 10**).

- Des spores produites par transformation des cellules du thalle : thallospores (arthrospores). Un nouvel organisme se développe à partir d'un fragment parent de mycélium (**figure 10**).
- Des cellules fongiques se multiplient et se différencient pour former le conidiophore, sur lequel se forment les conidies (**figure 10**).
- Les sporangiospores sont des cellules flagellées ou non ne provenant pas d'une fraction préexistante du thalle (**figure 10**).

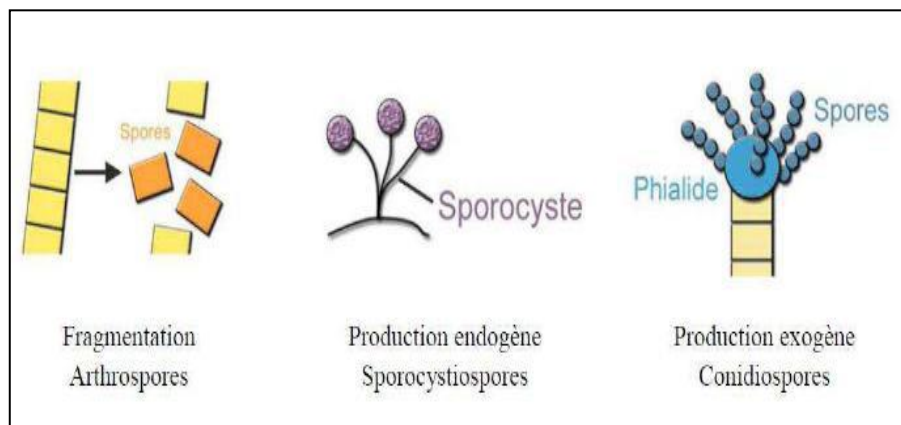


Figure 10 : Différents modes de sporulation et les différents types de spores associées (**Barnett et al, 1998**).

6. Mode de vie des moisissures

Les champignons ou plus précisément les mycètes se distinguent du règne végétal par l'absence du chloroplaste (chlorophylle) qui aide les plantes à fabriquer les matières organiques pour se nourrir ; de ce fait elles ont développées trois modes de nutritons pour puiser les matières organiques (éléments indispensables pour leur vie) présentes directement dans l'environnement (**Oei et van Nieuwenhijzen, 2005**).

6.1. Le saprophytisme

(Du grec sapos, pourriture et phyton, plante) (**Kachour, 2005**). Les champignons saprophytes sont considérés comme de grand nettoyeurs de la nature ; Ils se nourrissent des matières organiques mortes d'origine végétale (feuilles et débris végétaux) ou animale (cadavres),

ils représentent la majorité des macro mycètes (**Senn-Irlet et al, 2012**) en jouant un rôle primordial dans la dégradation de la matière organique en matière minérale , qui se trouve dans diverses applications comme dans le domaine médicale (Penicillium a donné la Pénicilline), et agroalimentaire (les levures permettant à la pâte à pain de lever) (**Lamaison et Polese, 2005**).

Selon le substrat qu'ils décomposent, il existe plusieurs types de champignons saprophytes:

- Humicoles (décomposant la matière organique du sol).
- Lignicoles (décomposent la matière organique du bois mort).
- Herbicoles (sur les plantes herbacées).
- Fongicoles (sur d'autres champignons).
- Coprophiles (vivant sur les excréments).
- Les saprophytes de la litière (décomposant les feuilles mortes, brindilles et autres débris végétaux) (**Moreau et al, 2002**).

6.2. Le parasitisme

(Du grec par, à coté ; sitos, aliment) (**Kachour, 2005**). Le parasitisme est une relation biologique entre deux êtres vivants dont l'un tire profit (en se nourrissant, en s'abritant ou en se reproduisant) d'un ou de plusieurs autres organismes que ça soit animale, causant des mycoses, ou végétale, causant la rouille, l'oïdium, l'anthracnose (**Cassier et al, 1998 ; Combes, 2001**).

6.3. La symbiose

Selon (**Marouf et Reynaud , 2007**), la symbiose est une association étroite et durable entre les organismes d'espèces différentes, pouvant appartenir à des règnes différents, vivant en équilibre les uns avec les autres et tirant les bénéfices mutuels de cette union, mais pouvant vivre séparément.

- **Les lichens** : sont constituées d'une association entre champignon (principalement du phylum Ascomycota) et une cyanobactérie. L'algue, capable de photosynthèse, va fournir les molécules organiques carbonées au champignon qui en retour fournira les éléments minéraux à l'algue.
- **Les mycorhizes** : sont constituées d'une association entre un champignon et la racine d'une plante. Les mycorhizes constituent la forme de symbiose la plus répandue à l'échelle planétaire. On estime que 90% des végétaux contractent spontanément cette association.

Les champignons vont développer un réseau de filaments mycéliens à partir de la racine et vont être impliqués dans la nutrition minérale des plantes. C'est d'ailleurs une association symbiotique qui aurait permis aux plantes de coloniser le milieu terrestre (Nasraoui, 2006).

7. Moisissures et mycotoxines

Les moisissures ou les champignons microscopiques produisent un certain nombre de métabolites secondaires toxiques d'où l'appellation de mycotoxine telles que les aflatoxines, les fumonisines, les trichothécènes, les fusarines, la zéaralenone et les alcaloïdes ergots (Ward et al, 2002; Abrar et al, 2013), ils sont produits par trois principaux types de champignons : *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Kaushal et Sinha, 1993) (Tableau 1).

Les mycotoxines représentent potentiellement de graves menaces pour la santé humaine et animale, certains d'entre eux sont génotoxiques, cancérigènes ou mutagènes. Tandis que d'autres sont toxiques pour les reins, le système nerveux ou encore le foie (Gauthier, 2016). Cependant, dans des conditions de culture standard, le métabolisme secondaire fongique reste largement inactif (Derntl et al, 2016). Par ailleurs, il convient de noter que la toxicité ne provient pas forcément de la mycotoxine elle-même, mais peut être due à l'un de ses métabolites issus de sa dégradation (Gauthier, 2016).

Tableau 1: Principales mycotoxines retrouvées dans l'alimentation humaine et/ou animale (Bennet et Klich, 2003).

Mycotoxine	Moisissure	Denrées
Aflatoxines B1, B2, G1 et G2	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. Parasiticus</i> , <i>Aspergillus nomius</i> , <i>A. bombycis</i> , <i>Aspergillus pseudotamarii</i> et <i>Aspergillus ochraceoroseus</i>	Arachides, céréales, graines de coton, épices et fruits.
Ochratoxines A, B, C	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium viridicatum</i>	Légumes, céréales et graines de café.
Zéaralinone	<i>Fusarium graminearum</i> et <i>F. sporotrichioides</i> .	Maïs, orge, blé, etc.
Fumonisines	<i>F. moniliforme</i>	Maïs et autres céréales
Trichothécènes (toxine T-2)	<i>Fusarium spp.</i>	Maïs et blé
Alcaloïde de l'ergot	<i>Claviceps purpurea</i> et <i>C.paspali</i>	Blé et dérivés de seigle
Patuline	<i>Aspergillus spp.</i> et <i>Penicillium spp.</i>	Fruits (pommes, prunes, pêches, poires, abricots)

Chapitre II : Les mycotoxines

1. Généralités

Le mot mycotoxine vient des termes “mycos” qui signifie champignon, et “toxicum” qui signifiant poison (Pfohl-Leskowicz, 1999).

Ce sont des composés toxiques de faible poids moléculaires produits naturellement par certains types de moisissures (champignons) ou sont des produits de métabolisme secondaire de certaines espèces fongiques. Celles-ci se développent sur différentes cultures et de nombreuses denrées alimentaires telles que les céréales, les fruits séchés, les fruits secs oléagineux, pommes, grains de café et les épices. Le développement des moisissures peut se produire avant ou après la récolte, pendant la conservation, sur ou dans l'aliment lui-même souvent dans un environnement chaud, moite et humide. La plupart des mycotoxines sont chimiquement stables et résistent au traitement des aliments. Ils peuvent avoir des effets nocifs divers pour la santé et représenter une grave menace pour les êtres humains comme les animaux d'élevage et des effets nocifs immédiats, comme l'intoxication aiguë, ou sur le long terme, comme la déficience immunitaire ou le cancer.

On en connaît plusieurs centaines mais les mycotoxines les plus souvent observées et présentant un danger pour la santé humaine et celle des animaux d'élevage sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, la patuline, les fumonisines, la zéaralénone et le nivalénol/déoxynivalénol. Elles apparaissent dans la chaîne alimentaire à cause de la contamination des récoltes par des moisissures. L'exposition aux mycotoxines peut être directe en ingérant des aliments contaminés ou indirecte par les animaux nourris avec des aliments contaminés, notamment du lait (**Figure 11**).



Figure 11 : Mycotoxines sur différentes denrées alimentaires. (<http://www.colley-online.com/colley/alimentation/index.php>).

Selon leur lieu de production, les mycotoxines peuvent être classées en deux catégories :

- **Les mycotoxines de champs** : on peut citer en exemple les Fumonisines, principalement produites par le genre *Fusarium* (**Figure 12**). Les champignons producteurs se développent alors sur les plantes sénescentes ou stressées.



Figure 12 : Plante de tomates contaminées par *Fusarium* sp. (<http://commons.wikimedia.org>)

- **Les mycotoxines de stockage** : la Citrinine et la Patuline sont produites essentiellement par les genres *Penicillium* et *Aspergillus* (**Figure 13**).



Figure 13 : Épis de maïs contaminés par *Aspergillus flavus*. (<http://www.flickr.com>).

2. La mycotoxinogénèse

La mycotoxinogénèse correspond à l'ensemble des conditions nécessaires au processus de synthèse et de sécrétion des toxines fongiques dans l'environnement. La production de toxines et le développement fongique sont intimement liés. Dès lors, les facteurs capables d'influencer la croissance fongique joueront aussi un rôle sur la toxinogénèse. En revanche, les conditions idéales de toxinogénèse sont plus étroites que celles favorisant le développement fongique (**Moreau , 1994**).

La toxinogénèse est un processus complexe qui n'est pas intégralement connu. La synthèse des toxines fongiques et la croissance fongique sont donc conditionnées par divers facteurs environnementaux ou extrinsèques (**D'Mello et al, 1997**).

3. Les facteurs influençant la production des mycotoxines

La mycotoxinogénèse est fortement influencée par l'interaction complexe de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques (**Magan et Aldred, 2007**).

3.1. Facteurs biologiques (facteurs intrinsèques)

Les facteurs biologiques peuvent être liés à l'espèce fongique, à la spécificité de la souche et à l'instabilité des propriétés toxiques. Une même toxine peut être élaborée par différentes espèces quelque fois appartenant à différents genres et une même espèce peut produire plusieurs mycotoxines. De plus, la présence de plusieurs espèces fongiques sur la même denrée a généralement un effet dépressif sur la production de toxine. Cela s'explique d'une part, par la compétition pour le substrat et d'autre part, par le fait que certaines souches peuvent dégrader la toxine (**Le baras et al, 1987**).

3.2. Facteurs extrinsèques

Les facteurs de l'environnement qui favorisent le développement de la toxinogénèse sont nombreux à savoir la teneur en eau, l'humidité relative, le pH, la température, la composition du substrat en éléments nutritifs et sa richesse en graisses ou en azote et la compétition entre les différents micro-organismes. (**Ben Miri , 2019**).

❖ Activité de l'eau (Aw)

L'Aw requise pour la croissance d'une moisissure est inférieur à celui requis pour la mycotoxinogénèse. La présence d'une moisissure dans un aliment ne signifie donc pas obligatoirement qu'on y retrouvera des toxines fongiques.

L'activité de l'eau optimale pour la plupart des espèces fongiques est comprise entre 0, 85 et 0, 99. Certaines espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium* ont la capacité de se multiplier à des Aw inférieurs à 0, 75 et pour une température de 25°C (**Lesage-Meesen et Cahagnier, 1998**).

Elles font partie des espèces xérophiles que l'on retrouve dans les produits pauvres en eau (céréales, fruits secs...), notamment au moment de la phase de stockage. En revanche, quelques espèces de *Fusarium* exigent un Aw supérieur à 0, 98 (**Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002**). Il s'agit de moisissures de champs qui se développent sur les plantes endommagées ainsi que dans les milieux riches en eau (**Pfohl-Leszkowicz, 1999**).

❖ Température

La température est un facteur prépondérant de la croissance des micromycètes et donc de la production de toxines. Elle est intimement liée à l'activité de l'eau. De même que pour l'*Aw*, la température idéale de croissance d'un champignon ne correspond pas à celle de la toxine.

De manière générale, elle est supérieure à la température optimale de la toxinogénèse. Pour *Penicillium viridicatum* (producteur d'Ochratoxine A), sa croissance a lieu pour une température comprise entre 0 et 31°C et pour un *Aw* de 0, 95, alors que la synthèse d'Ochratoxine A n'est possible qu'à une température comprise entre 12 et 24°C (Norholt et al, 1979).

❖ Lumière

Bien que l'impact de la lumière n'ait pas été démontré sur la croissance des moisissures, il semblerait tout de même qu'elle intervienne sur la germination des spores, favorisant de ce fait la dissémination fongique (Tabuc, 2007). Certaines espèces ne peuvent pas se passer de lumière tandis que d'autres la fuient : chez *Verticillium agricinum*, l'exposition prolongée aux rayons ultraviolets peut limiter la croissance voire provoquer la mort du mycélium (Gauthier, 2016).

❖ Activité du milieu – pH

Les aliments (en particulier les fruits et les légumes) ayant un pH inférieur à 6, se trouvent être des cibles privilégiées de l'infestation fongique. À l'instar du couple température/*Aw*, l'intervalle de pH permettant une croissance fongique optimale est plus étendu que celui permettant la synthèse de toxines. Ainsi, la Fumonisine B1 (FB1) est la plus produite à pH = 3, 7, tandis que la croissance de sa moisissure productrice, *Fusarium proliferatum*, s'effectue préférentiellement à pH = 5, 6 (Blackwell et al, 1994).

❖ Composition gazeuse

La production de toxines fongiques est plus sensible à la variation de composition gazeuse que la croissance fongique. Une concentration en O₂ inférieure à 1 % et des concentrations élevées de dioxyde de carbone (CO₂) empêchent la synthèse de toxines (Gauthier, 2016).

❖ Nature du substrat

La toxinogénèse dépend fortement de la composition chimique du substrat sur lequel le champignon prolifère. Par exemple, l'acide phytique (souvent présent dans les céréales) diminue la synthèse d'Aflatoxines (AF) par *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*. À l'inverse, certains acides aminés (comme la proline) stimulent cette production (Payne et Hagler, 1983).

❖ Traitement chimique du milieu

L'action des pesticides est intéressante puisqu'ils sont abondamment utilisés dans l'industrie agro-alimentaire pour la conservation des aliments et le contrôle de l'apparition de maladies végétales. S'ils sont utilisés avec succès, le risque d'apparition de mycotoxines est faible.

Cependant, il a été démontré qu'à des concentrations sub-létales (proches de celles qui provoquent la mort), la synthèse de certaines mycotoxines est facilitée (**Moss, M.O., Franck, 1987**). Par exemple, la mauvaise maîtrise de l'utilisation d'acide propionique dans l'orge entraîne une augmentation de la production d'Aflatoxine B1 (AFB1), tandis que la croissance d'*Aspergillus flavus* est réduite (**Al-Hilli et Smith, 1979**). L'utilisation de fongicides doit donc être judicieuse (**Gauthier, 2016**).

4. Les principales mycotoxines

Les principales mycotoxines peuvent être produites par 5 types de champignons : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* et *Alternaria*. Compte tenu de leurs propriétés toxiques chez l'homme et l'animal et de leur fréquence de contamination des matières premières et des aliments, les mycotoxines les plus importantes sont les aflatoxines, l'ochratoxine A, les fumonisines, les trichothécènes et la zéaralénone.

4.1. Les aflatoxines

Les aflatoxines sont des toxines produites par *A. flavus* (qui produit aussi de l'aflatrem, de l'acide cyclopiazonique et de l'acide aspergillique) et *A. parasiticus*.

Les aflatoxines (B1, B2, G1, G2, M1, M2) sont reconnues comme étant les plus puissants cancérigènes naturels. L'intoxication aiguë par les aflatoxines se traduit par des symptômes de dépression, anorexie, diarrhée, ictère ou d'anémie, pouvant aller jusqu'à la mort (**Quillien, 2002**).

Les aflatoxines apparaissent dans les noix (cacahuètes, noix du Brésil ...), les céréales, les poivres séchés et de nombreux autres aliments d'origine végétale. On trouve l'aflatoxine M dans le lait de vaches nourries de fourrage contaminé. Il s'agit en l'occurrence d'aflatoxine B métabolisée (4-hydroxylée) (**Quillien, 2002**).

4.2. L'ochratoxine A

La famille des ochratoxines comprend une dizaine de molécules connues, mais l'ochratoxine A est le représentant le plus important. Cette mycotoxine est produite par différentes espèces de *Penicillium* (*P. verrucosum*, *P. viridicatum*...) et d'*Aspergillus* (*A. ochraceus*). En effet, la température optimale de production de l'OTA par *l'Aspergillus ochraceus* est de 28 °C, cette production étant fortement réduite à 15°C ou 37°C. Au contraire, *Penicillium viridicatum* se développe et peut produire de l'OTA dans une gamme de températures qui varie de 4 à 30°C.

Dans les régions froides, l'OTA est donc plutôt produite par des *Penicillium*, alors que dans les régions chaudes, ce sont plutôt les *Aspergillus* qui la synthétisent (**Pohland et al., 1992; Varga et al., 1996**).

La toxicité de cette mycotoxine peut varier en fonction de l'espèce, du sexe, de la voie d'administration (**Pohland et al, 1992 ; Marquardt et Fröhlich, 1992**).

Chez l'homme, l'OTA est suspecte d'être impliquée dans la néphropathie endémique des Balkans. Elle est classée dans le groupe 2B des molécules cancérigènes chez l'animal et est possiblement cancérigène chez l'homme (**Vainio et al, 1992; Vrabcheva et al, 2000; Abouzied et al., 2002; Vrabcheva et al., 2004**).

4.3. Les fumonisines

Les fumonisines sont un groupe de mycotoxines caractérisées à la fin des années 80 et produites par *Fusarium verticilloides*, une moisissure présente dans le monde entier et fréquemment retrouvée sur le maïs. Plusieurs souches de *F. verticilloides* isolées d'autres substrats comme le sorgho et l'avoine produisent des quantités importantes de fumonisines (**Sugita-Konishi et al, 2006 ; Ayalew et al, 2006**).

Ces toxines peuvent aussi être produites par *F. proliferatum* et *F. nygamai* qui parasite principalement le sorgho et le millet (**Nelson et al, 1992; Norred et al, 1992**). On a aussi montré que les fumonisines peuvent être élaborées par *F. oxysporum* et *F. Polyphialidicum* (**Abbas et Ocamb, 1995**) ; *A. alternata* sp. *Lycopersi* peut synthétiser aussi des fumonisines (**Abbas et al, 1997**).

Aujourd'hui la famille des fumonisines comprend 15 molécules différentes. Les fumonisines B1, B2 et B3 sont les plus répandues dans le monde comme des contaminants naturels des céréales.

La toxicité des fumonisines est caractérisée par l'apparition de signes cliniques très différents en fonction des espèces (**Osweiler et al, 1992 ; Ross et al, 1992 ; Colvin et al, 1993**).

4.4. Les trichothécènes

C'est une famille composée d'environ 148 composés, tous produits par de nombreuses espèces fongiques dont celles des genres *Fusarium*, *Penicillium*, *Cephalosporum*,

Myrothecium, *Trichoderma* et *Stachybotrys*. Les mycotoxines les plus étudiées dans ce groupe sont le déoxynivalénol (DON), les toxines T-2 et HT-2 (**OMS, 1980**).

La toxine DON est une vomitoxine qui contamine les céréales en particulier le blé, l'orge, le maïs, le seigle, l'avoine, et le riz. L'occurrence de la toxine DON est associée principalement avec

F. graminearum et *F. culmorum*. La DON peut provoquer des effets adverses après administration. L'administration d'une dose aiguë est caractérisée par deux effets toxicologiques à savoir la perte de l'appétit et les vomissements (**Bottalico, 1998 ; Creppy, 2002**).

Les toxines T-2 et HT-2 sont deux toxines produites sur les céréales (blé, orge, maïs, riz, avoine...) et les produits à base de céréales. Elles sont produites par de nombreuses espèces de *Fusarium*. La toxine T-2 est un inhibiteur potentiel de la synthèse protéique. Alors que la toxine HT-2 a pour cible le système immunitaire (**Bottalico, 1998**).

4.5. La zéaralénone

La zéaralénone (ZEA) ou toxine F-2 est produite par les espèces appartenant au genre *Fusarium*, en particulier *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. crookwellense* et *F. culmorum*. Elle peut être également être synthétisée par *F. tricinctum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichoides* et *F. laterium*. La production de cette mycotoxine est favorisée lorsque les températures sont situées entre 10 et 15°C (**Abbas et al, 1988 ; Tabuc, 2007**).

La ZEA est une lactone de l'acide résorcyclique sans toxicité intrinsèque mais de par sa similitude avec l'œstrogène, la ZEA est responsable de troubles de la reproduction et notamment du syndrome oestrogénique chez le porc. La principale moisissure responsable de la production de cette mycotoxine est *Fusarium graminearum* même si d'autres champignons sont capables de la produire. Sa répartition est mondiale, elle est présente dans l'ensilage, le foin, le maïs ou d'autres céréales (**Whitlow et al, 2001**).

5. Les principales moisissures toxinogènes

Deux groupes de moisissures toxinogènes peuvent être distingués, le premier type est constitué de moisissures envahissant leur substrat et produisant la mycotoxine sur des plantes sénescences ou stressés : il sera question de toxine de champs. L'autre groupe rassemble ceux qui produisent les toxines après récolte ; on les qualifiera de toxines de stockage. Ainsi, des champignons du sol ou de débris de plantes peuvent disséminer leurs spores sur la plante ou les grains puis proliférer pendant le stockage si les conditions le permettent (**Afssa, 2009**).

5.1. Le Genre *Penicillium*

Le genre *Penicillium* comprend entre 150 et 300 espèces, réparties en quatre sous-genres appartenant à la division des Deutéromycètes. Les formes téléomorphes de certaines d'entre elles sont connues et appartiennent à l'embranchement des Ascomycètes dont les genres les plus représentatifs sont *Eupenicillium* et *Talaromyces* (**Pitt , 1987**).

Les colonies présentent un aspect duveteux voire poudreux, de couleur vert-de-gris et, plus rarement, blanche. Morphologiquement, les individus du genre *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau (*Penicillius* en latin). Le thalle cloisonné porte les conidiophores, simples ou ramifiés, se terminant par un pénicille. Les conidiophores peuvent être groupés en faisceaux lâches ou rassemblés en corémies (colonne de conidiophores). Les phialides (cellules conidiogènes) sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores (**Botton et al, 1990**) (**Figure 14**).

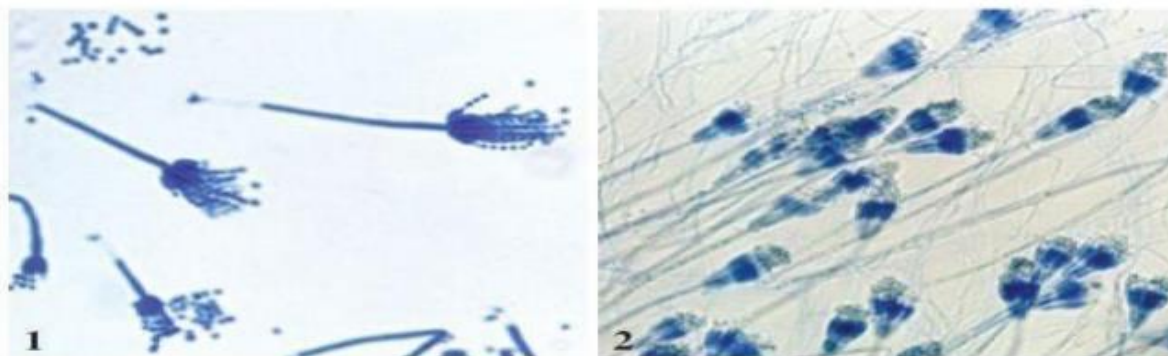


Figure 14 : Aspect microscopique des *Penicillium* : 1-*Penicillium* monoverticille 2-*Penicillium* bi verticille (**Chabasse et al, 2002**).

Les espèces appartenant au genre *Penicillium* produisent un certain nombre de mycotoxines, le **Tableau 2** représente quelques toxines produites par le genre *Penicillium*.

Tableau 2 : Quelques toxines produites par le genre *Penicillium* (**Norholt et al, 1979 ; Pitt, 2000 ; Bennett et Klich, 2003**).

Espèces	Toxines produites
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Acide cyclopiazonique, RoquefortineC
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ochratoxine A, Citrinine
<i>Penicillium nordicum</i>	Ochratoxine A
<i>Penicillium roqueforti</i>	Acide pénicillique, RoquefortineC
<i>Penicillium expansum</i>	Citrinine, Patuline, RoquefortineC
<i>Penicillium viridicatum</i>	Ochratoxine A, Citrinine

5.2. Le genre *Aspergillus*

Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. De même que pour les *Penicillia*, certaines formes sexuées d'*Aspergillus* spp sont connues et appartiennent à la division des Ascomycètes, dont les genres les plus notables sont *Eurotium* et *Emericella*. Environ 180 espèces, réparties en 18 groupes, composent le genre *Aspergillus* (**Gams et al, 1986**).

Les colonies d'*Aspergillus* spp, duveteuses ou poudreuses, à développement rapide, sont le plus souvent de couleurs vives et variées. L'appareil végétatif d'*Aspergillus* spp est formé de filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés. Se dressent sur ces filaments végétatifs les conidiophores qui se terminent par une vésicule de forme variable. La forme et la taille de cette vésicule sont spécifiques de l'espèce en question. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule : dans ce cas on parlera de « tête unisériée ». Si les cellules conidiogènes sont précédées de métules, on parlera de « tête bisériée ». L'ensemble phialides/métules forme le stérigmate. Le stérigmate, la vésicule et les spores constituent la « tête aspergillaire » (**Figure 15**). Les spores sont insérées en chaîne sur les phialides. Elles sont unicellulaires, de forme globuleuse, ou elliptique, et de couleurs variables (**Raper et Fennel, 1965**).

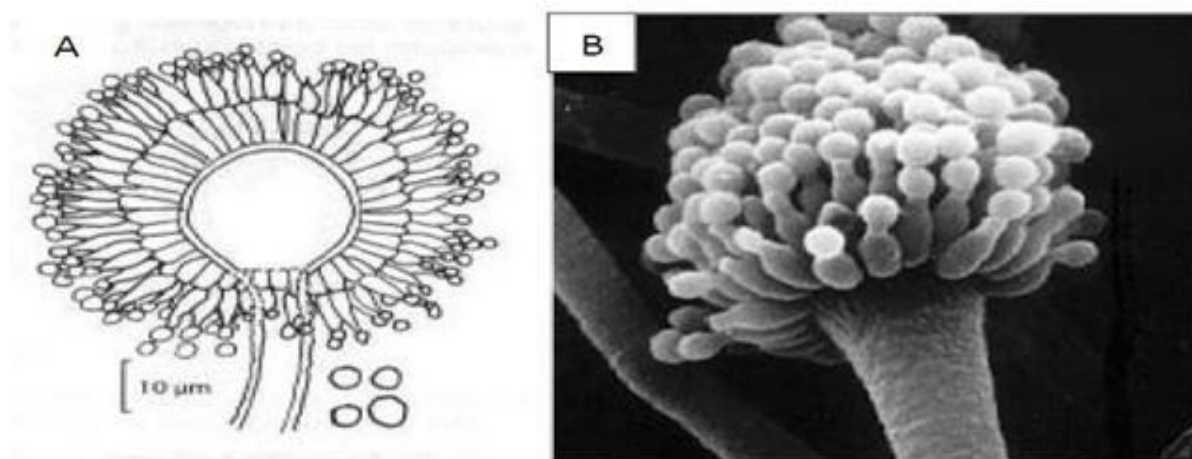


Figure 15 : Tête aspergillaire d'*Aspergillus ochraceus*(A), en microscopie électronique(B) (**ElKhoury, 2011**).

Les espèces appartenant au genre *Aspergillus* produisent un certain nombre de mycotoxines, le tableau ci dessous (**Tableau 3**) représente quelques toxines produites par le genre *Aspergillus*.

Tableau 3 : Quelques toxines produites par le genre *Aspergillus* (Pitt, 2000).

Espèces	Toxines produites
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines B1 et B2, Acide aspergillique, Acide cyclopiazonique, Acide kojique
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Fumigaclavine, Fumagiline, Fumitoxine, Fumitremorgine A et C, Gliotoxine
<i>Aspergillus niger</i>	Malformine, Naftoquinone
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Acide kojique, Ochratoxines, Acide pénicillique, Acide sécalonique A
<i>Aspergillus terreus</i>	Citrinine, Patuline, Territrem, Terréine, Terrétonine
<i>Aspergillus versicolor</i>	Stérigmatocystine

5.3. Le genre *Fusarium*

Les *Fusarium* sont des champignons filamenteux dont le genre « Deutéromycète ». Ce genre comprend entre 50 et 100 espèces anamorphes. Le genre *Fusarium* tire son nom du latin « fusus » qui signifie fuseau, en référence à la forme des conidies. Ils se développent rapidement et produisent des colonies planes, d'aspect cotonneux, voire floconneux, et de couleurs claires : Crème, blanche, saumon, violette, brune, jaune (Chermette et Bussieras, 1993).

Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (Messiaen et Cassini, 1968).

Les *Fusarium* sont caractérisés par trois types de spores (Figure 16)

- Les macroconidies, fusiformes et cloisonnées. Leur présence est la caractéristique majeure qui permet de distinguer le genre *Fusarium* des autres genres. Les différentes formes des macroconidies, leur taille ainsi que les extrémités apicales et basales (arrondies, crochetées, effilées, crantées) sont des éléments centraux pour l'identification des espèces de *Fusarium*. Ils peuvent permettre de différencier des espèces proches (Messiaen et Cassini, 1968).
- Les microconidies, petites, septées ou non (0 ou 1 septum, parfois 2 septa pour certaines espèces). Leurs formes sont diverses : fusiformes, ovoïdes, en forme de poire (piriforme) ou de rein. Elles ne sont pas produites par toutes les espèces de *Fusarium*. Leur distinction

s'exerce sur les microcnidies elles-mêmes, les cellules conidiogènes sur lesquelles elles sont formées (monophialides ou polyphialides) ainsi que leur arrangement (seule, en chaîne, en bouquet) (**Messiaen et Cassini , 1968**).

- Les chlamydospores. Elles ne sont pas présentes chez toutes les espèces. Elles sont formées seules, doublées, en bouquet ou en chaîne. Elles sont terminales ou intercalaires et différenciées par le mycélium ou par les conidies (**Messiaen et Cassini , 1968**).

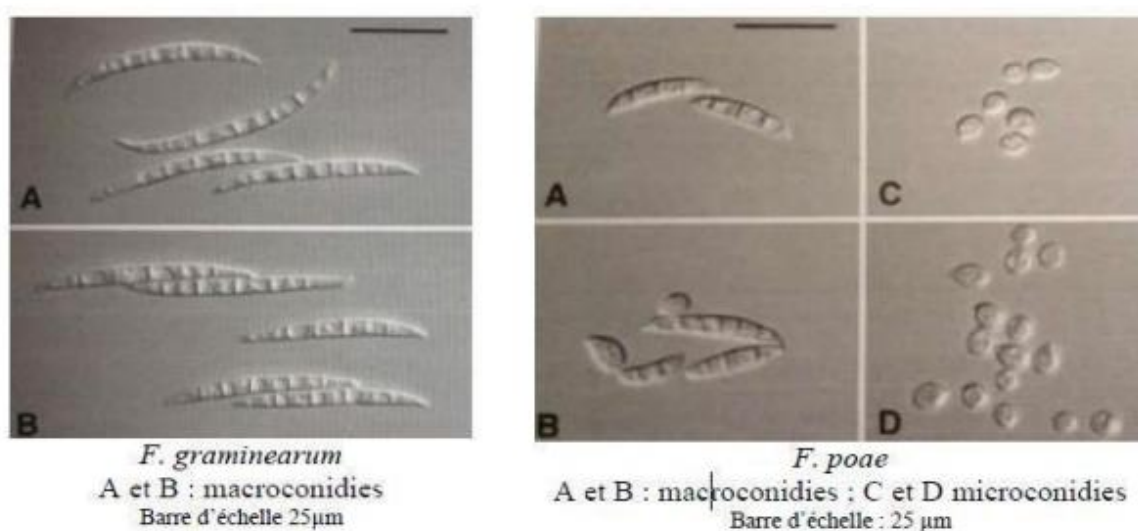


Figure 16 : Caractères morphologiques primaires de deux espèces de *Fusarium* (**Leslie et Summerell, 2006**).

Les espèces appartenant au genre *Fusarium* produisent un certain nombre de mycotoxines, le tableau si dessous (**Tableau 4**) représente quelques toxines produites le genre *Fusarium*.

Tableau 4 : Quelques toxines produites par le genre *Fusarium* (**Pitt, 2000**).

Espèces	Toxines produites
<i>Fusarium culmorum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone, Culmorine, Fusarine C
<i>Fusarium avenaceum</i>	Moniliformine, Fusarine C
<i>Fusarium graminearum</i>	Trichothécènes B, Zéaralénone
<i>Fusarium oxysporum</i>	Acide fusarique, Moniliformine, Oxysporine
<i>Fusarium poae</i>	Trichothécènes A, Fusarine C

6. Méthodes de détection des mycotoxines dans les aliments

Les méthodes disponibles pour l'évaluation des risques liés à la présence des mycotoxines sont celles qui permettent le dosage direct des mycotoxines. Les protocoles destinés à la quantification des mycotoxines incluent des étapes d'extraction, de purification et de concentration **(Riba , 2008)**.

L'analyse proprement dite comprend la détection, la quantification et la confirmation. Elle fait intervenir des techniques chromatographiques :

La chromatographie sur couche mince a été utilisée pendant longtemps mais, par cette technique, il est devenu difficile de mesurer les teneurs maximales autorisées par les règlements européens, trop basses pour cette technique. Elle a donc été remplacée avantageusement par la chromatographie liquide haute performance (HPLC) qui est particulièrement intéressante pour la détermination des très basses concentrations, pour la spécificité de ses modes de détection et pour ses possibilités d'automatisation. De nombreux protocoles analytiques existent. La technique la plus couramment utilisée est la HPLC avec détecteur spectro fluorimétrique. Les propriétés naturelles de certaines mycotoxines à fluorescer sont exploitées (Zéaralénone, ochratoxine A) ; pour d'autres on exalte leur fluorescence, par exemple par dérivation post colonne à l'iode ou au brome dans le cas des aflatoxines. Certaines molécules comme les fumonisines sont rendues fluorescentes par dérivation pré- colonne avec l'orthophthaldi aldéhyde. La HPLC avec détecteur spectrophotométrique est utilisée pour les analyses de Patuline, de nivalénol et Déoxynivalénol. On voit actuellement se développer une technique de détection plus coûteuse : la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. La chromatographie en phase gazeuse est surtout utilisée pour la détection de molécules du groupe des trichothécènes dans les céréales, avec détection par capture d'électron ou spectrométrie de masse. Les tests immuno-enzymatiques (ELISA) sont souvent considérés comme une méthode de tri. Cette technique est rarement retenue dans les méthodes normalisées et doit toujours être associée à une étape de confirmation par méthode classique **(Marie , 2002)**.

Chapitre III:
Incidence des mycotoxines sur la
santé humaine

1. Conditions de contamination

Depuis l'époque ancienne où l'homme a commencé à cultiver les céréales et stocker les aliments, la détérioration par les moisissures est inévitable. Le stockage du grain a généralement lieu dans des silos (**Oswald, 2000**).

L'aliment est progressivement envahi par un fin duvet (le mycélium) blanc, noir, vert, orange, rouge et brun. Ces moisissures acidifient, décolorent, font fermenter et rendent ces produits désagréables voire dangereux (**Pitt, 1998**)

Les facteurs qui affectent la formation de mycotoxines incluent la teneur en eau, la température, le temps de stockage, les dommages aux enveloppes des graines, la présence d'oxygène et de dioxyde de carbone, la composition du substrat, la prédominance d'espèces toxigènes, la dispersion des spores, les interactions microbiennes et la présence d'insectes (**Moreau et al, 2002**).

A côté des effets très bénéfiques et positifs des champignons dans la vie courante, ils sont capables de provoquer également d'importantes détériorations, notamment dans les domaines agronomique et alimentaire. C'est le cas de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, présents dans l'air ambiant, le sol, et sur les cultures. Ils sont capables de se développer sur certains substrats tels que l'arachide, le café, les céréales, de synthétiser et d'excréter des mycotoxines. Par exemple une contamination des aliments par les moisissures ou les mycotoxines ingérées par les animaux provoque le problème de la présence éventuelle de résidus toxiques se pose pour les produits animaux destinés à la consommation humaine (lait, viande, abats) (**Ruppel et al, 2004**).

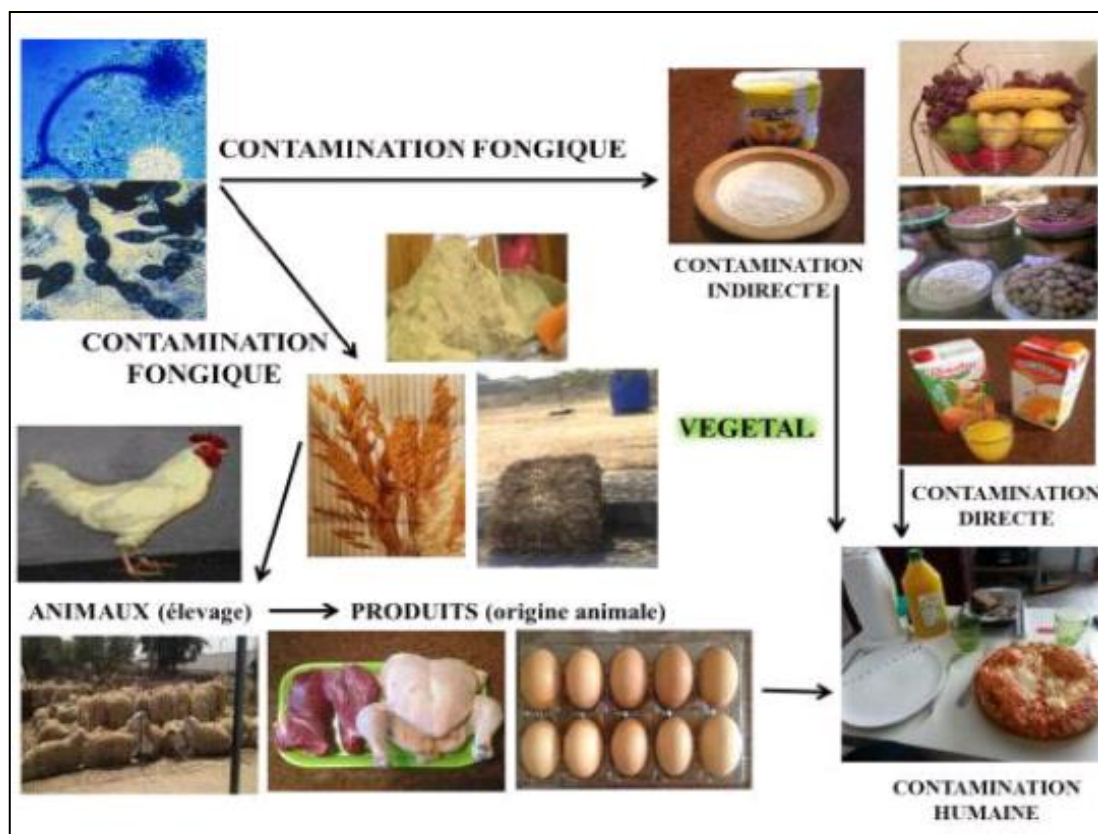


Figure 17 : Les mycotoxines tout au long de la chaîne, depuis le champ jusqu'à l'assiette du consommateur (Guezlane-Tbibel et al, 2016).

2. Les principales denrées concernées

2.1. Les céréales

Les céréales sont des vecteurs de mycotoxines très importants car elles sont universellement consommées par l'homme et par les animaux.

La contamination peut avoir lieu avant la récolte, au champ, au cours du séchage, du stockage et après transformation des graines. En général, ce sont les insectes qui en sont responsables. Environ 55 millions de tonnes de céréales sont perdus chaque année dans le monde. L'enquête réalisée par Pittet à l'échelle mondiale (1998) montre que 25 à 40% des céréales sont contaminées par des mycotoxines. Ce sont surtout dans les pays aux conditions climatiques chaudes et humides (en particulier les pays africains, Asie du Sud et Amérique du Sud) que la croissance des champignons toxigènes est le plus favorisée. Ainsi, le riz, le maïs et le millet, aliments de base des populations de ces pays, sont souvent contaminés surtout par les aflatoxines. Toutefois, les pays de l'Europe du Nord sont également touchés surtout par l'Ocratoxine A sécrétée par des espèces appartenant au genre *Penicillium* (*P. verrucosum*, *P. nordicum*) dont la croissance et la toxigénèse ne requièrent pas des températures élevées.

2.2. Les fruits et légumes

Les fruits et les légumes sont recouverts d'une multitude de champignons à l'état de spores qui peuvent proliférer aisément si les conditions de stockage leur sont favorables. Les fruits sont souvent altérés par des *Penicillia*, comme *P. digitatum* et *italicum* se développant sur les agrumes. Toutefois, la plupart ne sont pas toxigènes, bien qu'on puisse retrouver de la zéaralénone et des trichothécènes sur des bananes. Il faut aussi porter une attention particulière à certains produits tels que les jus de pommes, les compotes ou les petits pots pour bébés où des pommes pourries risquent d'être mélangées à des pommes saines et peuvent de ce fait augmenter le risque d'une contamination par la patuline provenant de *P. expansum* (Bissessur et al, 2001). Les jus de fruit insuffisamment stérilisés peuvent être envahis par des *Byssochlamys* dont les spores résistent à très haute température (Percebois et al, 1975).

2.3. Les produits laitiers

Une très grande variété de moisissures est utilisée dans la filière lait et produits dérivés. Certaines sont utilisées dans les fromages fermentés (il s'agit de ce qu'on appelle les « moisissures nobles » comme *P. roqueforti* et *P. camemberti*). De plus, on trouve aussi des moisissures qui n'ont pas été désirées et qui se révèlent néfastes. Ainsi, *Mucor* est responsable de l'accident dit « poil de chat » principalement en fromage à pâte moelle, se caractérisant par un défaut d'aspect des fromages, et par l'apparition de mauvais goûts. De même, *Geotrichum candidum* peut devenir un agent d'altération (défaut de texture et de goût) (Beuvier et Feutry, 2005).

La contamination exogène peut concerner de nombreuses souches de moisissures (les plus fréquentes appartenant au genre *Penicillium* du fait de sa capacité à se développer à basses températures).

Les espèces contaminant le lait en poudre et les yaourts appartiennent aux genres *Mucor*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporius*, *Aspergillus* et *Rhizopus* (le Bars Bailly et al, 1999).

L'AFB1 produite par *A. flavus* est excrétée dans le lait sous forme d'AFM1 (Spahr et al, 2000).

2.4. Les oléagineux

Dans les graines et les tourteaux, couramment utilisés en alimentation animale, on trouve des *Aspergillii*, des *Fusaria* et des *Penicillia*. Les noix au sens large et les oléagineux sous les climats chauds et humides sont des supports privilégiés pour la croissance d'*Aspergillus flavus*.

Les graines d'arachides, de coton et les produits dérivés, farines et huiles, contiennent très souvent de l'aflatoxine B1 (**Groopman et Donahue, 1988**).

2.5. La viande et les charcuteries

Les produits de charcuterie sont quelques fois recouverts de moisissures mais le substrat n'est pas forcément favorable à la production de mycotoxines. Néanmoins, des moisissures toxiques peuvent se développer comme *Wallemia sebi* responsable de la production de la walleminol A (**wood et al, 1990**). La contamination des viandes est plutôt le résultat d'une transmission par le biais de la chaîne alimentaire. L'accumulation d'aflatoxines dans les viandes est peu probable. En revanche il n'est pas impossible que les mycotoxines s'accumulent pour partie dans le foie et le rein. Par contre, l'ochratoxine A est fréquemment retrouvée dans le muscle de volaille ainsi que dans les abats et constituent de ce fait une source non négligeable en cette mycotoxine (**Malagutti et al, 2005**).

3. Lésions causées par les mycotoxines

Les mycotoxines s'exprimer par deux façons de toxicité soit aiguë ou chronique chez des organismes consommant des denrées alimentaires contaminées.

Certaines mycotoxines ont une toxicité aiguë très marquée d'être exposé à des doses toxiques en une seule ingestion d'aliments contaminés, mais il demeure exceptionnel.

Les effets chroniques résultent par l'exposition répétée à de faibles doses sont les plus redoutés en raison des habitudes alimentaires et du pouvoir de rémanence des mycotoxines. Ces effets toxiques affectent beaucoup plus les animaux notamment d'élevage du fait de l'importance des céréales dans leur alimentation.

La toxicité peut varier sensiblement d'une toxine à l'autre, et que le danger ne provient pas obligatoirement de la molécule elle-même même si qu'au sein d'une même famille structurale de toxines (**Afssa, 2009**).

Tableau 5 : Modes d'action et effets identifiés des principales mycotoxines (Afssa, 2009).

Mycotoxines	La lésion	Mécanisme d'action
Aflatoxines	-Hépatotoxicité. -Génotoxicité. - Immunotoxicité. -Concérogénèse	-Formation d'adduits à l'ADN. -Peroxydationlipidique. -Conjugaison à la Glutathion-transférase.
Ochratoxines	-Néphrotoxicité -Génotoxicité -Immunomodulation	-Modification de la synthèse protéique. - Inhibition de la production d'ATP. - Détoxification par les peptidases.
Fumonisines	-Neurotoxicité. -Hépatotoxicité. -Génotoxicité. -Immunomodulation.	-Inhibition de la synthèse des céramides . -Altération du cycle cellulaire. -Action sur le rapport Sphingosine/Sphinganine
Zéaralénone	-Toxique pour la reproduction. -Toxique pour la fertilité.	-Action œstrogénique. -Bio-activationpardes déshydrogénases. -Conjugaison à la glucuronyltransférase.
Alcaloïdes de l'ergot	-Cancérogénicité. -Génotoxicité. -Toxicité vasculaire	-Action dopaminergique. - Effets vasoconstricteurs. -Effets ocytotiques.
Trichothécènes	-Hématotoxicité. - Toxicité cutanée. -Immunomodulation.	-Altération des immunoglobulines. -Modification de la synthèse protéique. -Induction de l'apoptose des cellules immunitaires.
Patuline	-Mutagenèse. - Immunotoxique. -Neurotoxique.	-Inhibition indirecte de nombreuses enzymes (ADN et ARN polymérase).

Matériels et méthodes

Le présent travail vise à une étude mycologique de quelques fruits secs, et quelques types des épices commercialisés dans la région de Mila. Les fruits secs et les épices à question sont : Les noix, les raisins secs, les fèves, le poivre noir et le cumin.

1. Echantillonnage

Au cours de cette étude ;

- Deux échantillons d'épices commercialisés dans la région de Mila (Poivre noir et Cumin) ont été collectés au niveau des marchés de Mila.
- Deux échantillons de fruits secs commercialisés dans la région de Mila (Noix et raisin sec) ont été collectés au niveau des marchés de Mila.
- Un échantillon de légumes secs commercialisé dans la région de Mila (Fèves) a été collectés au niveau des marchés de Mila.

Dans le **tableau 6**, sont représentés les différents échantillons. Les échantillons en vrac contenus dans des sacs en plastique, sont mis dans des sacs en papiers et acheminés au laboratoire de biochimie au niveau du Centre Universitaire de Mila dans les heures qui suivent le collecte.

Tableau 6 : Les différentes variétés des échantillons étudiés.

Fruits secs et épices	Echantillon
Noix	
Raisins Secs	

Fève	
Cumin	
Poivre noir	

2. Isolement de la flore fongique

L'étude mycologique des fruits secs en question, a été faite en utilisant la méthode d'ulster (ou la méthode directe), par contre l'analyse mycologique des épices a été faite par la méthode des dilutions (ou la méthode indirecte) (**Compaor et al, 2016**).

2.1. Méthode directe d'Ulster

Pour chaque échantillon (Noix, raisins secs et Fèves), ont été désinfectés superficiellement par trempage dans l'eau de javel puis dans l'éthanol, pendant une minute, puis rincer plusieurs fois à l'eau distillée stérile, puis séchés à l'aide d'une compresse stérile (**Adjou et Soumanou , 2013**). Sous des conditions aseptiques, Les grains désinfectés ont été placés directement, à l'aide d'une

pince stérile, dans des boîtes de pétri contenant le milieu Potato Dextrose-Agar (PDA). L'ensemble est incubé à 28 °C pendant 4 à 6 jours (Ghiasian et al, 2004) (Figure 18).

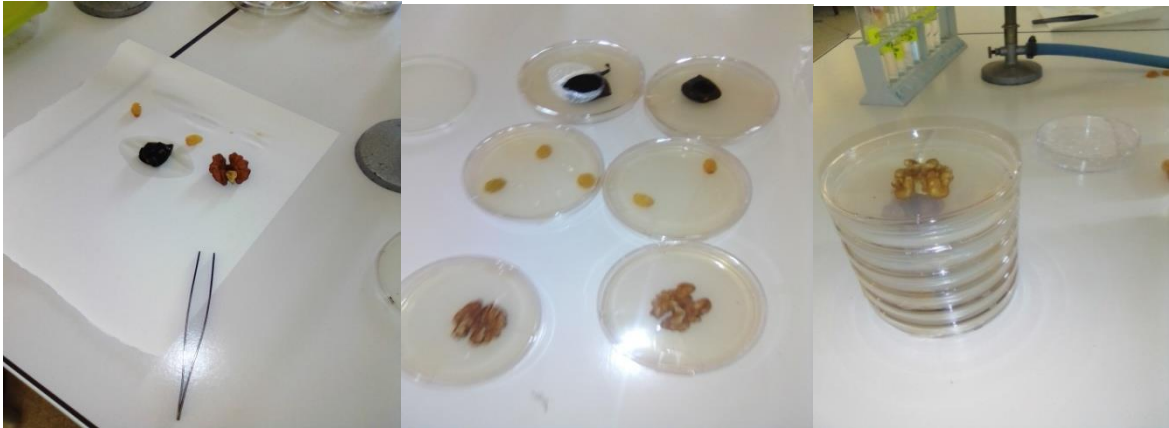


Figure 18 : Isolement de la flore fongique à partir des échantillons de Raisins secs, Noix et Fèves

2.2. Méthode indirecte de dilution

Un gramme de chaque échantillon d'épice broyée ont été additionnés à 9 ml d'eau physiologique stérile et homogénéisé par agitation de 10 min. Des dilutions décimales (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}) ont été réalisées à partir de la solution mère. 0.1 ml de chaque dilution ont été ensemencés sur la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Trois répétitions ont été réalisées par dilution (Figure 19).

L'incubation du matériel ensemencé a été réalisée dans un environnement favorable au développement des champignons recherchés, dans une étuve, à la température 28 °C, pendant 5 à 7 jours.

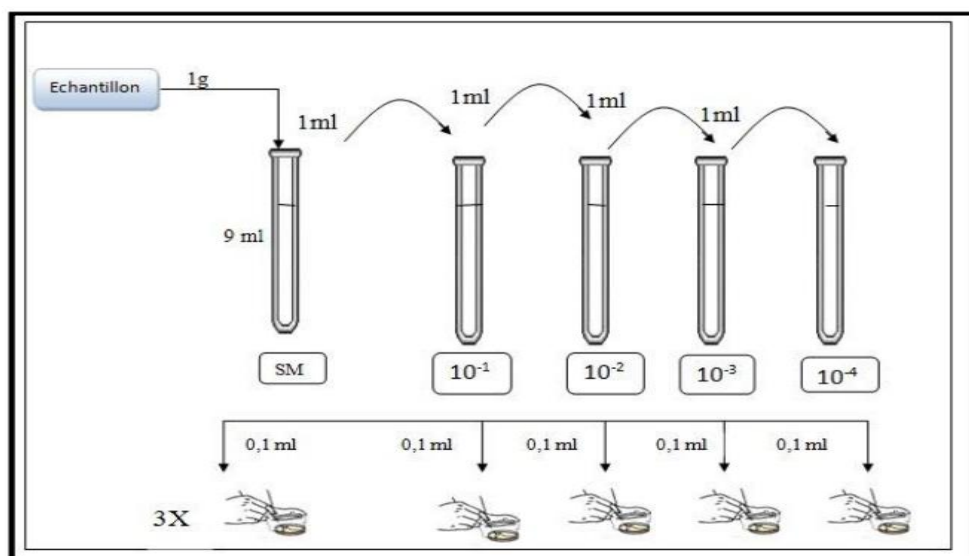


Figure 19 : Technique indirecte d'isolement des moisissures

3. Repiquage et Purification

Après un bon développement des colonies, nous avons effectué des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné **(Guiraud, 1998)**.

Le repiquage a été fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte sur le milieu PDA. Ce fragment a été déposé au centre d'une nouvelle boîte sur laquelle nous avons indiqué la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement. Le repiquage a été fait aseptiquement près du bec Bunsen et les boîtes ont été incubées à 28°C pendant six jours jusqu'à obtention des souches pures **(Figure20)**.

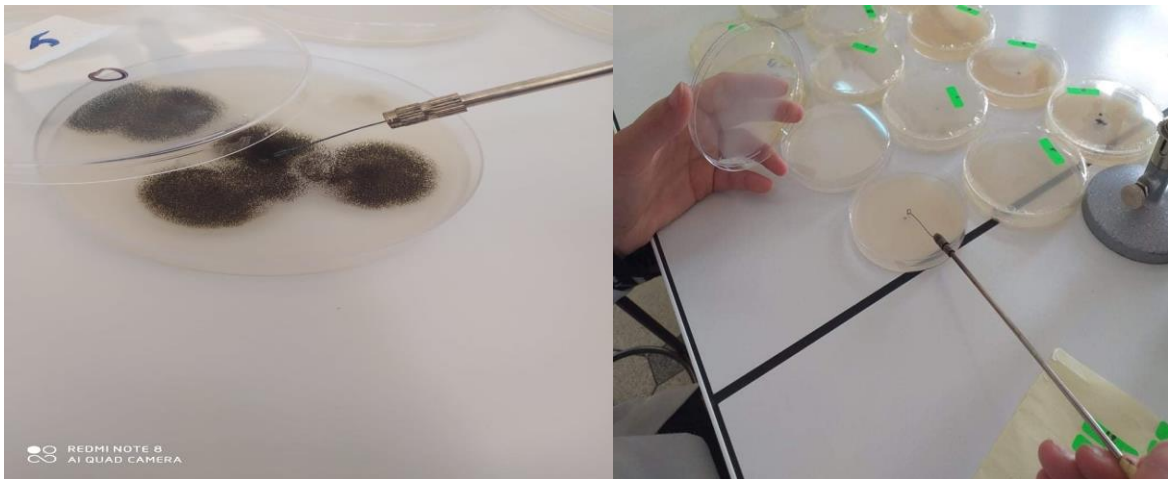


Figure 20 : Purification des isolats fongiques obtenus.

4. Identification

L'identification morphologique des champignons, fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques des moisissures isolées à l'état pure **(Botton et al., 1990)**.

L'identification reste l'opération la plus difficile dans le domaine de la mycologie, elle a pour but de classer les souches fongiques par genres et espèces selon les critères d'identification **(Botton et al., 1990)**. Elle est effectuée par deux techniques classiques, une observation macroscopique (aspect général des colonies) et une étude microscopique (étude des filaments végétatifs, des organes de fructification et des spores). Le milieu utilisé est PDA

4.1. Identification macroscopique

Les caractères morphologiques et cultureux ont été déterminés après ensemencement des souches pures sur les milieux de cultures spécifiques cités ci-dessus. Les milieux sont coulés sur

des boîtes de Pétri, ils ont été ensuite ensemencés par quelques spores ou une petite bouture mycélienne prélevée auparavant à l'aide d'une anse de platine stérile et déposée au centre de la boîte. L'évaluation de l'ampleur de la croissance et du développement a été observée après 7 jours d'incubation à 28°C. Ce suivi réalisable à l'œil nu mais aussi grâce à un binoculaire permettant ainsi de rassembler des indices révélateurs sur l'identité de nos souches (**Leghlimi, 2013**). Elle se base essentiellement sur les caractères suivants :

- **L'aspect des colonies** est également un bon critère d'orientation. Les champignons levuriformes donnent des colonies lisses, glabres, humides, d'aspect brillant ou mat, parfois rugueuses. A l'opposé des champignons filamenteux qui ont une texture différente : Duveteuse, laineuse, cotonneuse, veloutée, poudreuse ou granuleuse. Le relief des colonies (Plates, plissées, cérébriiformes, ...) tout comme leur consistance (molles, friables, élastiques, cartonnées ou dures) sont aussi à observer.
- **Le relief des colonies** il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure)
- **La taille des colonies**: Elle peut être très variable en fonction des genres fongiques: petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes
- (*Mucor*, *Rhizopus*).
- **La couleur des colonies** est un élément très important d'identification ; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleu, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*), (**Botton et al. 1990**).
- **Le thalle** : tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes) qui ensemble, forment le thalle filamenteux ou le mycélium; le thalle peut être siphonné ou septé
- **Les structures de fructification** : La présence ou l'absence, au centre de la colonie, des structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) est aussi un élément important de diagnose (**Botton et al. 1990**).
- **La vitesse de pousse** est déjà une bonne orientation. Elle peut être rapide comme chez les *Aspergillus* et les *Mucorales*, plus lente chez les Dermatophytes et certains Dématiés, ou même très lente comme chez *Onychocola canadensis*, agent d'onyxis.

- **Odeur.**
- **Exsudat** (gouttelettes transpirées par le mycélium aérien).

Enfin l'observation macroscopique des cultures devra rechercher en surface, et surtout au centre de la culture, les structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) ainsi que des amas mycéliens ou mèches (corémies) (**Chabasse et al, 2002**)

4.2. Identification microscopique

L'examen microscopique est basé sur les caractères morphologiques ; On notant les types de spores, aspect du thalle, aspect, couleur et disposition des spores, conidies (**Mouria et al, 2012**).

L'identification microscopique des champignons repose sur plusieurs méthodes, les deux les plus utilisées sont celles la méthode de bleu de méthylène et la méthode de scotch .Ces deux méthodes sont décrites ci- dessous.

A. Bleu de méthylène : un fragment de la colonie est prélevé à l'aide d'une anse de platine et déposé sur une lame porte-objet dans une goutte de colorant, ensuite recouvrir avec une lamelle (**Chabasse et al, 2002Guezlane et al, 2011**).

L'observation microscopique a été effectuée en microscope optique aux différents grossissements (GX10, GX40) ainsi qu'à l'immersion (GX100).

B. La technique de scotch

La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch (technique du drapeau) une fraction mycélienne on le recolte sur une lame préalablement étalée par une goutte de bleu de méthylène diluée avec deux gouttes de l'eau physiologique. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$ à l'aide d'un microscope optique (**Guezlane et al, 2011**).

Résultats et discussion

Dans cette étude, deux types de fruits secs, un légume sec et deux épices commercialisés au niveau de la Wilaya de Mila ont fait l'objet d'un isolement de leur microflore fongique sur un milieu gélosé PDA.

1. Analyse de la flore fongique totale des échantillons

1.1. Les fruits secs et légume sec

L'isolement des moisissures à partir des échantillons des fruits secs et l'échantillon de légume sec en question, a été fait en utilisant la méthode directe d'ulster ; qui repose sur le principe de stimulation du développement des moisissures par incubation des grains (**Compaore et al., 2016**).

La méthode d'Ulster est une méthode de mise en évidence de la moisissure de surface et de profondeur des grains étudiée, pour juger l'efficacité de tel ou tel mode de stockage (**Laouid et Neftia, 2007**).

L'isolement des moisissures a abouti à la sélection de sept (07) isolats répartis comme suit:

- ✓ 03 isolats fongiques à partir de l'échantillon des noix
- ✓ 02 isolats fongiques à partir de l'échantillon des raisins secs
- ✓ 02 isolats fongiques à partir de l'échantillon des Fèves

Le pourcentage des isolats obtenu selon chaque type de fruits et légume analysé, est représenté dans **la figure 21**.

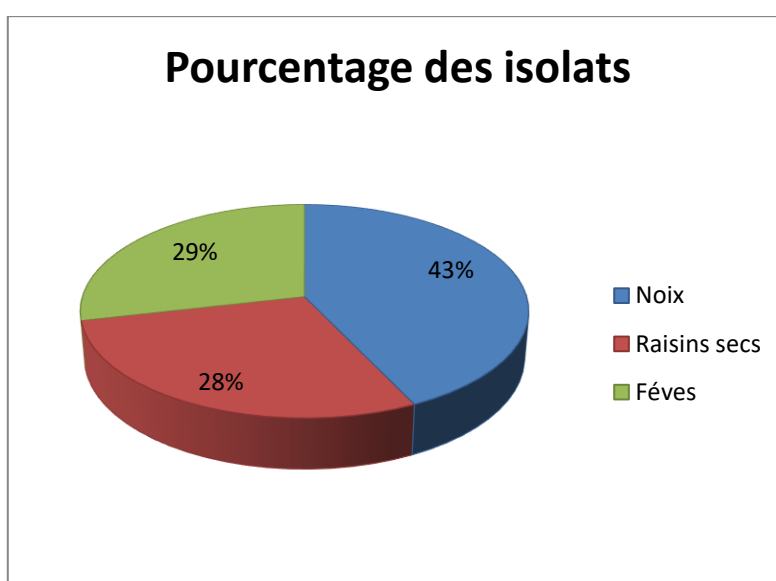


Figure 21 : Pourcentage des isolats fongiques obtenus à partir des fruits secs et un légume sec.

1.2. Les épices

Les analyses mycologiques réalisées sur les différents échantillons des épices, ont révélé la présence des moisissures.

La recherche de la mycoflore totale concerne l'ensemble de moisissures présentes au niveau des épices moulue. A cet effet les isollements sont effectués sur la méthode classique de dénombrements sur milieu (méthodes de dilution sur milieux PDA). Sur l'ensemble des résultats de la méthode de dilution sur le (PDA), Le cumin s'avère le plus contaminé par rapport au poivre noir, L'isolement a abouti à la sélection de neuf 08 isolats répartis comme suit

- ✓ 05 isolats fongiques à partir du cumin
- ✓ 03 isolats fongiques à partir du poivre noir

Le pourcentage des isolats obtenu selon chaque type d'épice analysée, est représenté dans la **figure 22**.

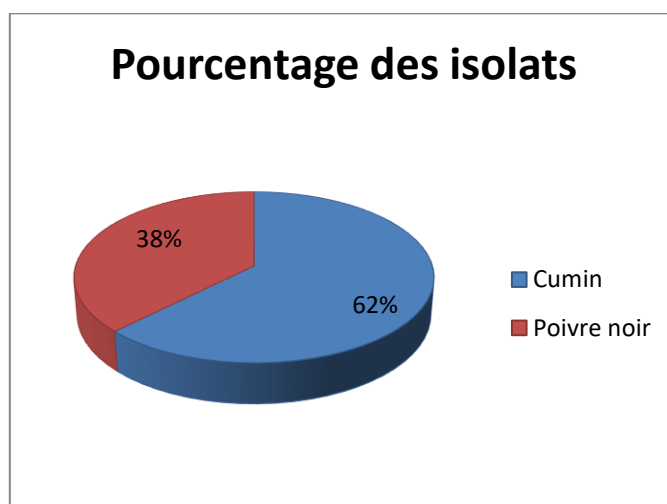


Figure 22 : Pourcentage des isolats fongiques obtenus à partir des épices.

2. Identification morphologique des souches fongiques isolées

L'identification de ces genres étant basée essentiellement sur les clés de détermination décrites par la littérature (**Botton et al, 1990 ; Guiraud, 1998**), en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, forme, contour, etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores (cloisonnement du mycélium, forme des spores, forme des organes de fructification, etc.)

2.1. Identification macroscopique

Les caractères macroscopiques des différentes souches ont été étudiés sur le milieu PDA (annexe), le plus communément utilisé à cet effet (**Botton, 1990**). Les (**Tableaux 7, 8, 9, 10, 11**) résume l'aspect, la couleur, la consistance des colonies, la couleur du revers de la boîte ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

Tableau 7 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir des noix

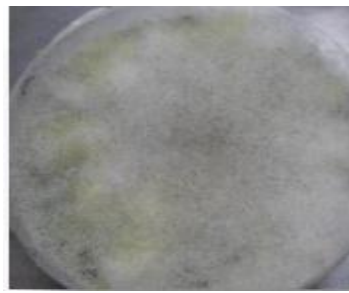
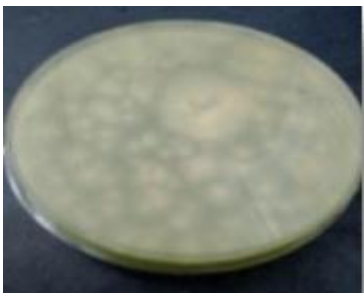
Souches	Aspect macroscopiques		Description
	Recto	Verso	
S1			Couleur : Verte Aspect : Floconneux Revers : pas des pigments Beige clair
S2			Couleur : noire Aspect : Granuleux à pourdeux Revers : pas des pigments Beige clair
S3			Colonie, blanche au départ, devient grise et foncée en vieillissant. Aspect :Cotonneux -Revers : jaune

Tableau 8 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir des raisins secs

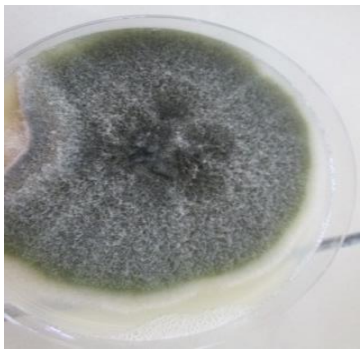
Souches	Aspect macroscopiques		Description
	Recto	Verso	
S4			Couleur : noire Aspect : Granuleux à pourdeux Revers : pas des pigments Beige clair
S5			Couleur : noire ou vert olive Aspect : Floconneux Revers : Noir

Tableau 9 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir des Fèves.

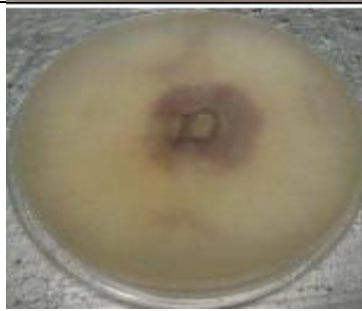
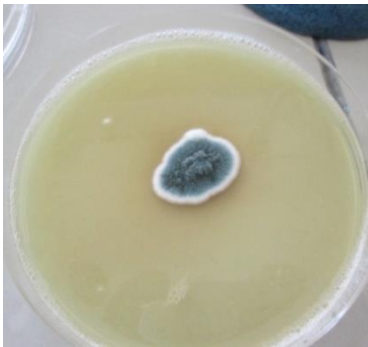
Souches	Aspect macroscopiques		Description
	Recto	Verso	
S6			Couleur : noire ou vert olive Aspect : Floconneux Revers : Noir
S7			colonie aplatie blanche, violette au centre. - revers incolore violet au centre.

Tableau 10 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir du Cumin

Souches	Aspect macroscopiques		Description
	Recto	Verso	
S8			Colonie, blanche au départ, devient grise et foncée en vieillissant. Aspect :Cotonneux -Revers : jaune
S9			Couleur : noire Aspect : Granuleux à poudreux Revers : pas des pigments Beige clair
S10			Couleur : grise entourée par un cercle blanc Aspect : velouté à poudreux Revers : pas de pigment beige clair
S 11			Couleur : Verte Aspect : Floconneux Revers : pas des pigments Beige clair
S12			Couleur : verte entourée par un cercle blanc Aspect : velouté à poudreux Revers : pas de pigment beige clair

Tableau 11 : Caractères macroscopiques des souches isolées à partir du poivre noir

Souches	Aspect macroscopiques		Description
	Recto	Verso	
S13			Couleur : verte entourée par un cercle blanc Aspect : velouté à poudreux Revers : pas de pigment beige clair
S14			Couleur : noire Aspect : velouté et de relief surélevé Revers : pas de pigment beige clair
S15			Couleur : verte entourée par un cercle blanc Aspect : velouté à poudreux Revers : pas de pigment beige clair

2.2. Etude microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des 15 souches fongiques (Conidiophores, conidies et mycélium). (**Tableaux 12, 13, 14, 15, 16**).

Tableau 12 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir des noix

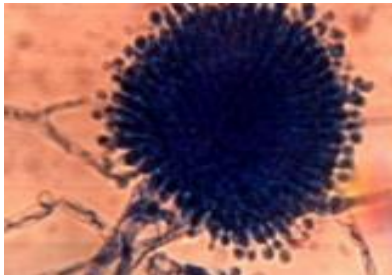
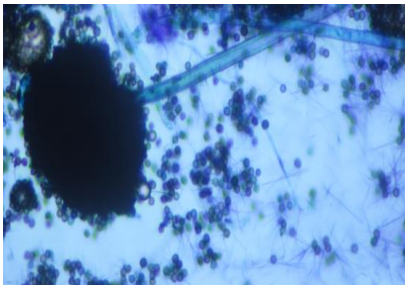
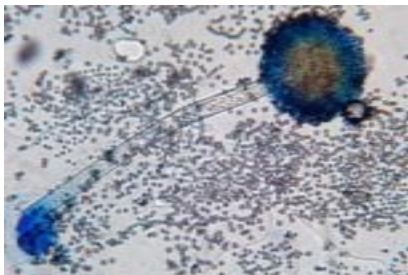
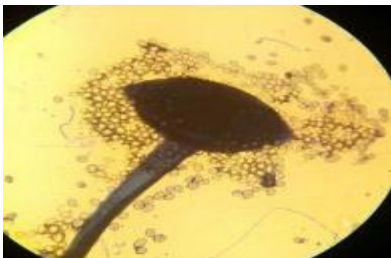
Souches	Aspect microscopiques	
	Aspect microscopique obtenu	Aspect microscopique deréférences
S1 <i>Aspergillus flavus</i>		 Chabasseet al 2002
S2 <i>Aspergillus niger</i>		 Yuri 2010
S3 <i>Rhizopus sp₁</i>		 Chabasseet al 2002

Tableau 13 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir des raisins secs

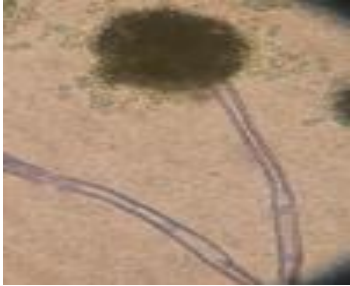
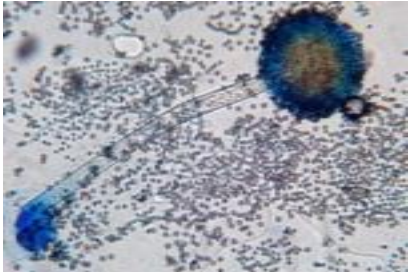
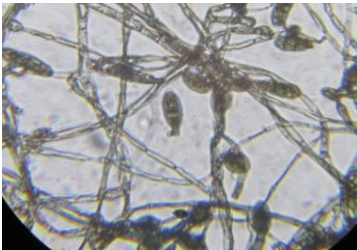
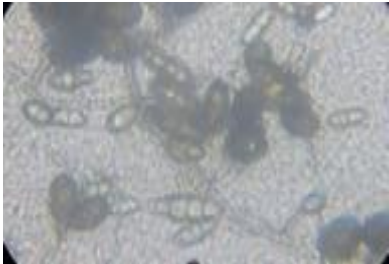
Souches	Aspect microscopiques	
	Aspect microscopique obtenu	Aspect microscopique de références
S4 <i>Aspergillus niger</i>		 Yuri 2010
S5 <i>Alternaria sp₁</i>		 Benlamoudi, 2016

Tableau 14 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir des fèves

Souches	Aspect microscopiques	
	Aspect microscopique obtenu	Aspect microscopique de références
S6 <i>Alternaria sp₂</i>		 Benlamoudi, 2016

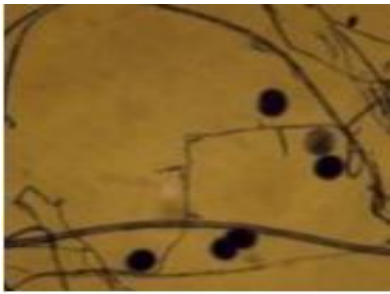
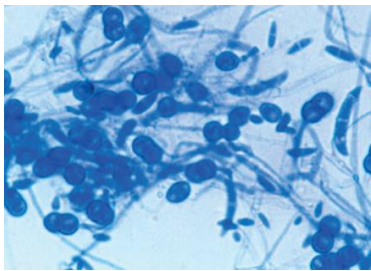
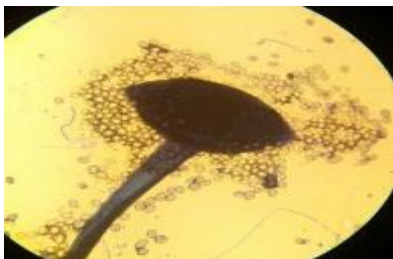
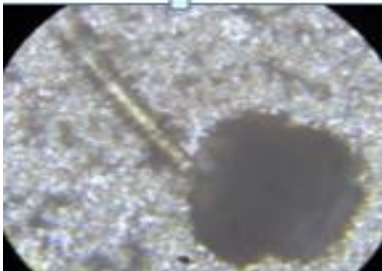
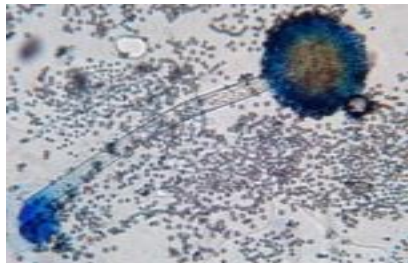
S7 <i>Fusarium sp</i>		 Chabasseet al 2002
S8 <i>Rhizopus sp₂</i>		 Chabasseet al 2002

Tableau 15 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir du cumin

Souches	Aspect microscopiques	
	Aspect microscopique obtenu	Aspect microscopique de références
S8 <i>Rhizopus sp₂</i>		 Chabasseet al 2002
S9 <i>Aspergillus niger</i>		 Yuri 2010

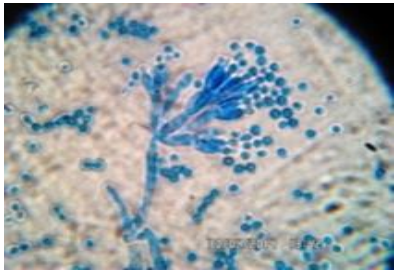
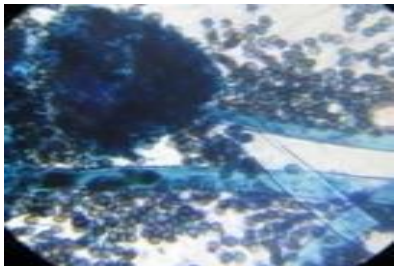
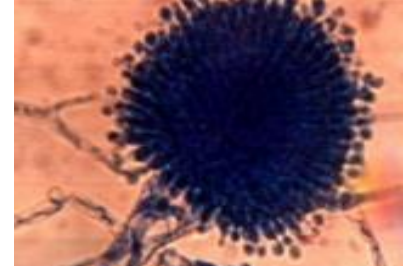
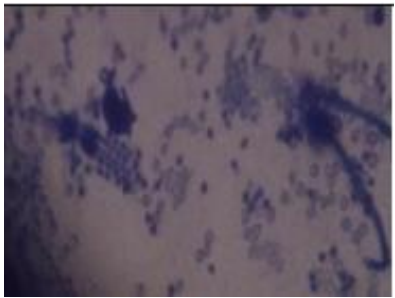
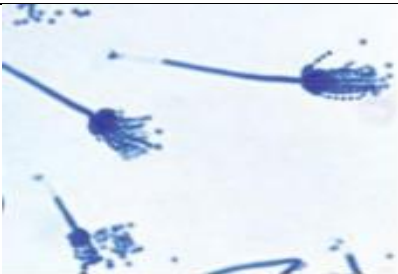
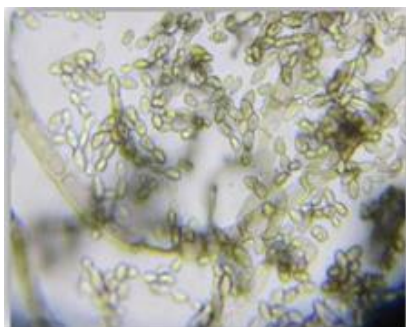
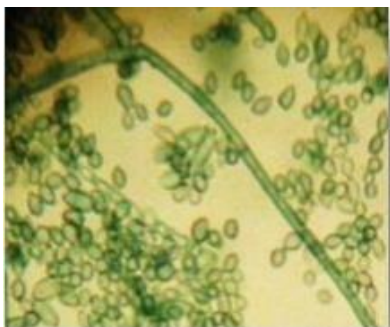
S10 <i>Penicillium sp₁</i>		 Chabasseet al 2002
S11 <i>Aspergillus flavus</i>		 Chabasseet al 2002
S12 <i>Penicillium sp₂</i>		 Chabasseet al 2002

Tableau 16 : Caractères microscopiques des souches isolées à partir du poivre noir

Souches	Aspect microscopiques	
	Aspect microscopique obtenu	Aspect microscopique de références
S13 <i>Penicillium sp₃</i>		 Chabasse et al 2002
S14 <i>Cladosporium sp</i>		 Chabasse et al 2002
S15 <i>Penicillium sp₄</i>		

L'isolement et la purification ont été réalisés sur milieu PDA et l'identification macro et microscopique ont mis en évidence 15 souches représentant 06 genres différents : *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus* et *Fusarium*.

➤ **5 souches présentent les caractéristiques suivantes :**

- ✓ Des conidies produites par des phiales insérées à l'extrémité dilatée d'un conidiophore large et non cloisonné (disposition en tête aspergillaire).
- ✓ Colonies souvent poudreuses ou granuleuses.

Ces souches semblent appartenir au genre *Aspergillus*.

➤ **4 souches caractérisées par:**

- ✓ Des conidies produites par des phialides groupées en verticilles à l'extrémité non dilatée d'un conidiophore fin et cloisonné (disposition en pinceau).
- ✓ Des phialides à col peu développées disposés en pinceaux serrés.

Ces souches appartiennent probablement au genre *Penicillium sp.*

➤ **02 souches présentent les caractéristiques suivantes :**

- ✓ Des spores grandes, colorées brunâtres et compartimentées par des septa (cloisons) transversaux.
- ✓ Les conidiophores sont bruns, septés et ont souvent l'aspect de « zigzags ». Ils portent des conidies simples ou ramifiées.

Ces souches semblent appartenir au genre *Alternaria*.

➤ **02 souches présentent les caractéristiques suivantes :**

- ✓ Un Filament non cloisonné, présentant à la base des rhizoïdes bien différenciés.
- ✓ Columelles brunes, semi globuleuses.

Ces souches semblent appartenir au genre *Rhizopus*.

➤ **01 souche présente les caractéristiques suivantes :**

- ✓ Un filament septé.
- ✓ Des macroconidies fusiformes
- ✓ Présence de chlamydospores terminales

Cette souche semble appartenir au genre *Fusarium*.

➤ **01 souche présente les caractéristiques suivantes :**

- ✓ Des hyphes septés et pigmentés de couleur verte qui produit des conidiophores de longueurs variables.
- ✓ Les conidies formées sont de grande taille, uni ou pluricellulaires. L'ensemble forme de longues chaînes et ramifiés

Cette souche semble appartenir au genre *Cladosporium*.

Le principal genre fongique identifié est *Aspergillus*, il a été identifié selon les caractères macroscopiques et microscopiques. Par ailleurs les résultats obtenus révèlent une nette dominance du genre *Aspergillus*, suivie de celle de *Penicillium* avec des taux respectifs de 33,33 % et 26,66 %. En effet le taux de contamination par *Aspergillus* varie de 14,28% à 21,42% selon le type d'épices.

L'analyse des résultats montre que le genre *Aspergillus* est le plus dominant avec une fréquence de 33,33% suivi par les genres *Pénicillium* avec un pourcentage de 26.66%. En outre les genres *Rhizopus* et *Alternaria* ont le même pourcentage de 13.33 %. En fin les souches *Cladosporium* et *Fusarium* ont le même pourcentage de 6.66%

La figure montre la distribution des isolats fongiques dans les différents échantillons analysés.

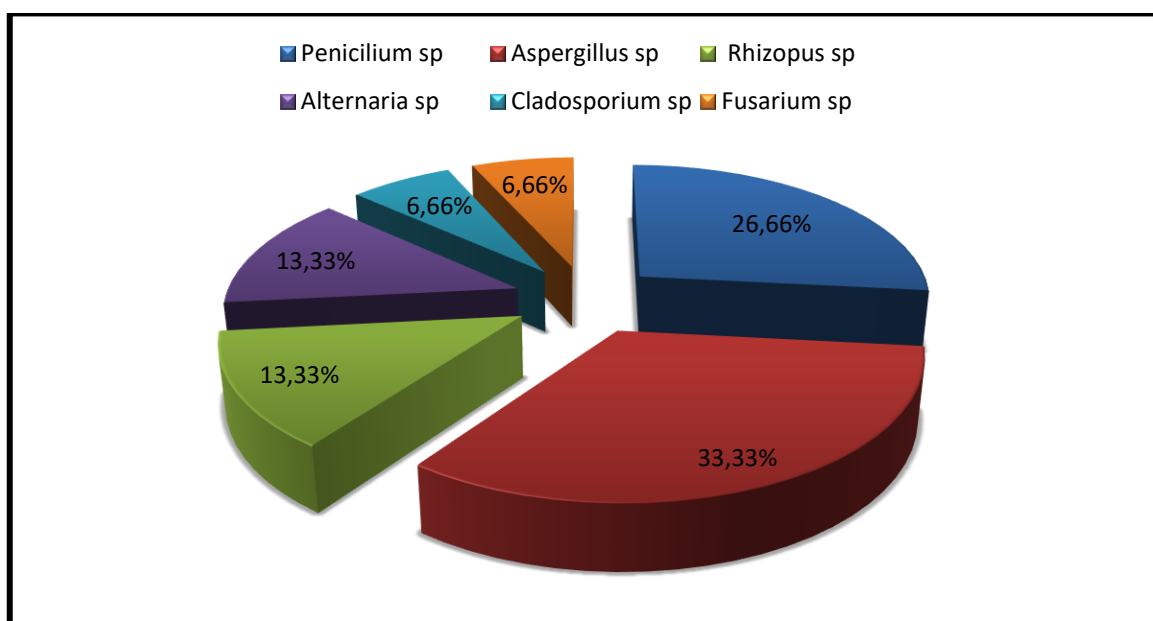


Figure 23 : Pourcentages des isolats fongiques.

Aspergillus est le genre majoritaire des souches isolées représenté par 03 espèces (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus sp₁*), suivi du genre *Penicillium* représenté par 04 espèces : *Penicillium sp₁*, *Penicillium sp₂*, *Penicillium sp₃* et *Penicillium sp₄*, suivi par le genre *Alternaria* représenté par deux isolats (*Alternaria sp₁* et *Alternaria sp₂*), le genre *Rhizopus* représenté par deux isolats (*Rhizopus sp₁* et *Rhizopus sp₂*) et enfin les deux genres *Cladosporium* et *Fusarium* avec une seule espèce.

À refaire le nombre important des isolats purs des champignons cultivés sur le milieu (PDA), explique que le (PDA) est un milieu adéquat par sa convenance à la plupart des champignons, en

plus de l'identification de son espèce précise d'une façon claire, la répartition et la propagation des spores. Le genre de champignon le plus répandu internement et extrêmement est l'*Aspergillus*, et ceci est en accord avec une étude faite précédemment à l'université de Blida en 2005/2006 (**Bendjeklil et Ghribi**).

En Comparant avec les études de Benmansour-Brixi (2005), le taux de contamination de l'*Aspergillus* est le plus dominant. Cette Comparation peut être expliquée par la durée de stockage, l'origine des grains et la période de prélèvement.

Les fruits secs et les légumes secs sont des aliments susceptibles d'infection fongique dans le champ et dans des conditions de stockage inadéquates. Les noix et les fèves endommagées par les charançons ou mécaniquement pendant la récolte et le transport sont particulièrement sujettes à l'invasion fongique et à la pourriture (**Saleh Nawar, 2008**).

Abdel-Gawad et Zoharii (1993) ont identifié un large éventail de moisissures provenant de cinq types de graines de noix pour la consommation humaine en Arabie Saoudite. **Denizel et al. (2006)** ont signalé que la mycoflore externe dominante des pistaches immatures de trois régions de Turquie était composée d'*A. niger*, *A. flavus* et de *Penicillium sp.* Ils ajoutent également que les noix stockés dans les entrepôts ont été largement contaminés par *A. flavus*, *A. niger* et *A. ochraceus* (**Saleh Nawar, 2008**).

Plusieurs autres auteurs ont signalé que les graines oléagineuses gâtées fournissent un substrat approprié pour la croissance, le développement et l'activité des moisissures de détérioration. (**Cuero et al., 1987 et Lacey., 1990 in Oyebanji et Efiuvwevwere., 2000**).

D'autres travaux similaire de (**Sib et al., 2005**) montrent une forte présence de Mucorale dans les échantillons de fruit secs (Noix, amandes, pistaches) surtout décortiquée, **Cahagnier(1996)** estime que les conditions de conservation sont médiocres .

Peu de travaux ont été consacrés sur la qualité microbiologique des épices. La plupart des références rencontrées traitent beaucoup plus l'aspect concernant leurs effets antimicrobiens et antioxydants et de la présence de mycotoxines.

La dominance du genre *Aspergillus* dans les denrées stockées dans les régions à climat chaud est très connue (**Pitt et Hocking, 1997**). *Aspergillus* est un champignon ubiquitaire capable de coloniser divers substrats et possède une grande capacité de sporulation (**Gourama et Bullerman, 1995**), il est très répandu dans la nature (**Pafenicovâet al., 2000**) et tout particulièrement dans les régions à climat chaud (**Mantle, 2002; Hocking et Pitt, 2003**), comme la wilaya de Mila . Ainsi,

la plupart des enquêtes menées dans les régions à climat chaud ont mis en évidence la prédominance des espèces fongiques du genre *Aspergillus* dans les épices. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés sur les épices et les plantes médicinales (**EL-Kady et al. , 1992 ; Hashem et Alamri, 2008 ; Abou Donia ; 2008**).

Le taux de l'altération reste une caractéristique de l'*Aspergillus* et *Penicillium*, et ainsi on peut dire que l'altération extrême est le résultat de l'activité des genres de stockage, et ceci est totalement en accord avec ce qu'à fait (**Elshaeieb et al, 1984**) lorsqu'il a trouvé que les espèces des champignons vénéneux appartenaient aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*.

Les genres les moins répandus sont *Alternaria* , *Rhizopus*, *Cladosporium* et *Fusarium*, ces dernières sont obtenues au niveau des échantillons étudiés et avec des taux moindre.

Nos résultats confirment le statut de flore de « stockage » de deux genres (*Aspergillus* et *Penicillium*) qui tendent à contaminer les denrées alimentaires pendant leur stockage. Contrairement aux champignons de « champ », *Alternaria*, *Rhizopus*, *Cladosporium* et *Fusarium*, qui exigent une forte humidité. La contamination des denrées alimentaires par les moisissures peut survenir tout au long de la filière : production, stockage, transport, transformation et conditionnement (**Doré et al., 2002**).

Toutes ces souches isolées, lorsqu'elles sont cultivées sur denrées alimentaires, sont capables de produire des mycotoxines (**Le Bars et Le Bars 2000**). Or, selon (**la Fao, 2013**), l'élimination complète des mycotoxines dans les produits alimentaires s'avère quasi-impossible en raison de leur stabilité thermique (**Boli et al ., 2018**).

Conclusion

Conclusion

Le présent travail est une contribution à l'étude mycologique et recherche des souches toxigènes des fruits secs (Noix et raisins secs), un légume sec (les fèves) et les épices (Cumin et poivre noir) commercialisés dans le marché algérien plus exactement dans la ville de Mila. Cette étude dévoile la présence d'une grande biodiversité de contaminants fongiques.

La corrélation entre les caractéristiques macroscopiques et microscopiques nous a permis de faire une identification des souches de : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Cladosporium* et *Fusarium*

Les résultats obtenus montrent que les différentes denrées analysées à savoir : les noix, les raisins secs, les fèves, le cumin et le poivre noir sont fortement contaminés par les moisissures dont les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les plus dominants 33, 33 % et 26.66 % respectivement. Ceci confirme le statut de flore de stockage de ces deux genres fongiques.

Ceux-ci montrent que ces niveaux de contaminations sont assez inquiétants à savoir que la majorité de ces souches à savoir *A. flavus*, *A. niger* et *Penicillium*, sont toxigènes secrètent des mycotoxines y compris les aflatoxines qui sont dangereuses donne des effets génotoxique cancérogènes néphrotoxique et leurs effets qui est chroniques s'avère plus grave.

Pour cette raison, nous devons fournir toutes les mesures préventives pour lutter contre ces contaminants de la chaîne alimentaire, pour cela réglementation doit être appliquée et des mesures strictes doivent être mise en place pour la toxinogénèse des souches identifiées.

Comme perspectives, il reste plusieurs travaux à mener afin de répondre aux questions soulevées lors de cette étude. Parmi ces travaux on cite :

- ✓ L'identification moléculaire de souches obtenues.
- ✓ L'étude mycotoxilogique des souches considérées les plus mycotoxinogénèse, à savoir *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium*
- ✓ Test in- vitro et in -vivo des toxines produites.
- ✓ L'élargissement de notre recherche sur les mycotoxines vers d'autres aliments afin d'avoir plus d'informations sur l'état hygiénique de ces denrées alimentaires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Images libres de droits, disponibles sur :** <https://www.aquaportail.com/definition-9936-moisissure.html>.
- **Images libres de droits, disponibles sur :** <http://www.colle-online.com/colley/alimentation/index.php>.
- **Images libres de droits, disponibles sur :** <http://commons.wikimedia.org>.
- **Images libres de droits, disponibles sur :** <http://www.flickr.com>.
- **Abbas, H.K., Mirocha, R.A., Meronuck, J.D., Pokorny, S.L. et Kommedahl, T. (1988).** Mycotoxins and Fusarium spp. associated with infected ears of corn in Minnesota. *Appl and Environ Microbiol*, 54, p. 1930-1933.
- **Abbas, H.K., Ocam, C.M., (1995).** First report of production of fumonisin B1 by *Fusarium polyphialidum* collected from seeds of *Pinus strobus*. *Plant Dis.*, 79, p. 642-645.
- **Abbas, H.K., Smeda, R.J., Duke, S.O., Shier, W.T., (1997).** Fumonisin-Plant interactions, *Bulletins of the Institute for Comprehensive Agricultural Sciences, Kinki University*, 5, p. 63-73.
- **Abouzied, M.M., Horvath, A.D., Podlesny, P.M., Regina, N.P., Metodiev, V.D., Kamenova-Tozeva, R.M., Niagolova, N.D., Stein, A.D., Petropoulos, E.A., Ganev, V.S., (2002).** Ochratoxin A concentrations in food and feed from a region with Balkan Endemic Nephropathy, *Food Addit Contam*, 19 (8), p. 755-764.
- **Abrar, M., Anjum, F.M., Butt, M.S., Pasha, I., Randhawa, M.A., Saeed, F.,**
- **Adjou, S., Soumanou M. (2013).** Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte au Bénin. *J. Appl. Biosci*, 70, 5555-5566 P.
- **Afssa, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. (2009).** Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale Rapport final. Maisons-Alfort. 308P.
- **Aigner, A.R.** Transcription factor xpp1 is a switch between primary and secondary fungal metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2016) 114(4), 560–569.

- **Al-Hilli, A.L., Smith, J.E.** Influence of propionic acid on growth and aflatoxin
- **Ayalew, A., Fehrmann, H., Lepschy, J., Beck, R., Abate, D., (2006),** Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia, *Mycopathologia*, 162 (1), p. 57-63.
- bactérie et la monde bactérien. Ed : Doin, Paris, p. 65-180.
- **Barnett, D., Kidwell, S. L., & Leung, K. H. (1998).** Parenting and preschooler attachment among low-income urban African –American families. *Child Development*, 69, 1657 – 1671.
- **Ben Miri Y. (2019).** Etude du potentiel antifongique, anti aflatoxinogène et antioxydant de certaines huiles essentielles et leur efficacité dans le système alimentaire. Thèse : Biochimie, Microbiologie et Sciences Alimentaires .Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou, 6-8 P.
- **Bennett, J.W., Klich, M.** Mycotoxins. *Clinical Microbiology Review*(2003) 16, 497–516.
- **Beuvier E. et Feutry F. (2005).** Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage. Unité de Recherches en Technologie et Analyses laitières.
- **Bhat, R. V., Vasanthi, S. 2003.** Mycotoxin food safety risks in developing countries. *Food Safety in Food Security and Food Trade. Vision 2020 for Food, Agriculture and Environment, Focus 10, brief 3 of 17*, 1-2.
- **Bissessur, J., Permaul, K., and Odhay, B.(2001).** Reduction of patulin during apple juice clarification. *J. food prot.*, 64, 1216-19.
- **Blackwell, B.A., Miller, J.D., Savard, M.E.** Production of carbon 14-labeled
- **Boiron P. (1996).** Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan, 13- 80. Bordas. Paris, 36-153 P.
- **Bottalico, A. (1998).** Fusarium diseases of cereals: species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *J Plant Pathol*, 80 (2), p. 85-103.
- **Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Raymond,**
- **Boudih, S. (2011).** Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers. Evaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Thèse : Spécialité Sciences de la Vie et de la Santé : Université Paris EST, 15 P.

- **Bourgeois, C.M ., Mescle J.F., Zucca J. (1989).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris : 216-244 P.
- **Bousseboua H. (2003).** Elément de microbiologie générale. Université Mantouri Constantine. Ed Campus club , 10-16, 238-239, 231-232 P.
- **Branger M., Bresler G., Vaamonde G., Degrossi C.& Pinto V. F., 2007.** Moisissures etrisques alimentaires (mycotoxicooses). *Revue Française des Laboratoires*.p : 373.
- **Carlile, M. J., Watkinson, S. C. etGooday, G. (1994).** The fungi, Springer.
- **Cassier, P, Brugerolles, G ; Combes, C. (1998).** Le parasitisme : un équilibre dynamique Enseignement des sciences de la vie. Edition Masson, 366P.
- **Castegnaro M., Pfohl-Leszkowicz A.** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier. *Tec&Doc.* (2002).
- **Chabasse, D., Bouchara, J. P., Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., & Penn, P. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. (Edn) Bioforma. 12 P.
- **Champion R., (1997) :** Identifier les champignons transmis par les semences. Techniques etpratiques, INRA Edition.
- **Chermette , R., Bussieras, J. (1993).**Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service deParasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons – Alfort, .
- **Colvin, B.M., Cooley, M., Beaver, R.W., (1993).**Fumonisintoxicosis in swine: clinical and pathologic findings, J. Vet. Diagn. Invest, 5, p. 232-241.
- **Combes, C. (2001).** Les associations du vivant : L'art d'être un parasite nouvellebibliothèque scientifique, Edition Flammarion, 348 P.
- **Compaore, H., Sawadogo-Lingani, H., Savadogo , A., Dianou D ' Alfred S.(2016).**
- **Creppy, EE. (2002).**Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *ToxicolLett*, 127 , p. 19-28.
- **D'Mello J.P, Porter J.K, McDonald. Fusarium Toxins. Boca Raton : CRC Press, (1997).** 287 – 301 P.
- **Damien Dagbedji Toffa. (2015).** Étude de la contamination de certains aliments d'origine

végétale de la République du Niger les moisissures toxigènes. Thèse : Mycologie-Environnement .Rabat .Maroc :Université Mohammed , 245 P.

- **Davet, P. (1996).** Vie microbienne du sol et production végétales, (edn) INRA.Paris.
- defined media. *Applied and Environmental Microbiology* (1983) 46(4), 805-812.
- **Derntl, C., Klugerb, B., Bueschl, C., Schuhmacher, R., Mach, R.L., Mach-**
- **Disponible sur :** www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins
- **Dongmo, G. Z., DJeugap J. F., Fenohi , N., Kenfack N.D., Takuet R, Teguefouet P (2017).** Contribution à l'identification des champignons de post-récolte associés aux amandes de *Ricinodendron heudelotii* et *Garcinia kola* collectées dans les Hauts Plateaux de l'Ouest Cameroun. *Biol. Chem. Sci.* 11(4), 1840-1850 P.
- **Doré T., Le Bail M., et Verger P. (2002).**- Pratiques agricoles et sécurité sanitaire des aliments en production végétale. *Cahiers Agricultures*, 11(13), 177–185.
- **El Khoury, A., Atoui, A., Rizk, T., Lteif, R., Kallassy, M., Lebrihi, A.(2011).** Differentiation between *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* from Pure Culture and Aflatoxin-Contaminated Grapes Using PCR-RFLP Analysis of aflR-aflJ Intergenic Spacer. *Journal of Food Science* , 76 (4), 247-253 P.
- **EL-SHAEIEB M.K., TAWFIK K.A. and SEJING M.; 1984.** studies on mycoflora of cereal grains in the Southern West of Saudi Arabia. Fungi associated with sonne cereal grain at post harvest and during storage. *Anal Agric. Sci Moshtohor*. 287-290p.
- Fumonisin in liquid culture. *Association of Official Analytical Chemists* (1994) 392, 506-511.
- **Gacem M.A., Ould El Hadj K.A and Gacemi B. (2012).**Étude de la qualité physicochimique et mycologique du blé tendre local et importé stocké au niveau de l'office algérien interprofessionnel des céréales (OAIC) de la localité de Saida (Algérie). *Alg.J.Env.* p :67-76.
- **Gams W, Christensen M, Onions A.H.S, et al. Infrageneric taxo of Aspergillus, in : Samson R.A. Pitt J.I(1986).** Advances of *Penicillium* and *Aspergillus* systematics. London&New- York, Plenum Publi.
- **Gauthier, A.** Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé.

- **Georges, B; Johnson Peter, H; Jonathan, R; Losos, B; Bouharmont, J; Susan, R; Singer. (2011).** Traduit par Jules Bouharmont, Pierre L Masson, Charles Van Hove. Biologie –Version luxe, Biologie générale. Éd. De Boeck Supérieur, 1406 P.
- **Ghiasian, S. A., Kord-Bacheh, P., Rezayat, S. M., Maghsood, A. H., Taherkhani, H. (2004).** Mycoflora of Iranianmaizeharvested in the main production areas in 2000. *Mycopathologia*, 158(1), 113-121 P.
- **Groopman, J.D. and Donahue, K.F. (1988).** Aflatoxin, a human carcinogen: Determination in foods and biological samples by monoclonal antibody affinity chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71, 861–867.
- **Guezlane.B ., Tbibel.N, Kahlouche.B ., Atmani .G.S (2011).** Microbiologie Travaux Pratiques 2ème année TCB et LMD, 4ème édition corrigée.
- **Guezlane-Tebibel N., Bouras N. et Ould El Hadj M. D. (2016).** Les Mycotoxines : Un Danger De Santé Public. *Algerian journal of arid environnement*, 6(1), 32-49P.
- **Guiraud, J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris, p. 7-330.
- **Hashem. M et Alamri.S, (2008)** Contamination of common spices in Saudi Arabia markets with potential mycotoxin-producing fungi: a King Khaled University, Faculty of Science, Biological Science Department, P.O. Box 10255, Abha 61321, Saudi Arabia, b Assiut University, Faculty of Science, Botany Department, Assiut 71516, Egypt.
- **Isolement et caractérisation morphologique de moisissures productricesde substance antibactériennes à partir d'aliments locaux au Burkina Faso.** *International journal of biological and chemical sciences*, 10(1), 198-210 P.
- **Jennings, D. H., etLysek, G. (1996).** Fungal biology: understanding the fungal lifestyle, Bios Scientific Publishers Ltd.
- **Joyeau A., 1982.** Les préparations industrielles d'enzymes. p :22-46.In : Durant G., Monsan. (ed.), Les enzymes production et utilisations industrielles. *Edition Gautier- Villars* .Paris.
- **Kachour L. (2005).** Identification des moisissures isolées à partir des eaux du lac Oubeira (PNEK) et impact des eaux usées sur leur diversité, Mémoire de magister en microbiologie de l'environnement .université baji mokhtar Annaba, 90 P.
- **Kaushal, K.S., Sinha, S.P.** Mycotoxins. *Asean Food Journal*(1993) 8, 87-93.

- **LARPENT JEAN-PAUL, JEAN-YVES LEVEAU ET MARIELLE BOUIX (2001) :**
Sécurité microbiologique des procédés alimentaires 1,1120-1120.19.
- **Lamaison, J. L., & Polese, J. M. (2005).** Encyclopédie visuelle des champignons. Editions Artemis , 344 P.
- **LAOUID A., NEFTIA H., 2007.** Isolement et identification des champignons de stockage des arachides cultivées à Oued Souf, Thèse DES en microbiologie. ITAS. Ouargla, page 43,44.
- **Le Bars, J., et P. Le Bars. (1987).** Les moisissures des denrées alimentaires et leurs séquences. Conférence de la « Section Midi-Pyrénées ». Toulouse.
- **LE BARS-BALLY, S. et al.** «Accidents de fabrication dus aux moisissures en fromager», SYNTHESE SCIENTIFIQUE [en ligne]. **1999**, http://mycotoxicologie.free.fr/publications/Fromages_RMV_1999.pdf, (page consultes le 03 Mars 2014).
- **Lecellier A., 2013-**Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. thèse de doctorat en Sciences Technologie Sante, université de Reims Champagne-Ardenneecole , 196p.
- **Leclerc H., GaillardJ.L. and Simonet M. (1995).** Microbiologie générale : La
- **Leghlimi H., (2013).** Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales). Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.Thèse de Doctorat. L'Universite De Reims Champagne- Ardenne.5-10p.
- **Lesage-Meesen, L., Cahagnier, B.** Mecanisme d'adaptation des micromycetes aux activites de l'eau reduite, dans : cahagnier b. Moisissures des aliments peu hydrates. Paris, Londres, New-York : *Tec&Doc*. P : 21-35. **(1998).**
- **Leslie, J.F., and Summerell, B.A. (2006).** The Fusarium Laboratory Manual (Ames, Iowa: Wiley-Blackwell).
- **Leyral, G. and Vierling, E. (2007)** Microbiologie et toxicologie des aliments, Hygiène et sécurité alimentaire. 4ème ed, Biosciences et techniques, Bordeaux, 286 p.
- **Lüttge, U., Kluge, M., Bauer, G. (2002).** Botanique. 3ème éd. Eds. TEC et DOC, Lavoisier, Paris , 50-85 P .

- **Magan, N. et D. Aldred. (2007).** Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1–2) , 131-139 P.
- **Malagutti, L., M. Zannotti, A. Scampini, and F. Sciaraffia. 2005.** Effects of ochratoxin A on heavy pig production. *Animal Research*. 54:179-184. doi:10.1051/animres: 2005019.
- **Marie-Paule H. (2002).** Dosage des mycotoxines dans les produits oléagineux .Laboratoire DGCCRF de Rennes, 26, rue Antoine Joly, 35000 Rennes, 10(4) , 1-6P.
- **MAROUF Abderrazak, RAYNAUD Joël.** Couverture de l'ouvrage La botanique de A à Z : 1662 ... Date de parution : 04-2007. Ouvrage de 342 p. 17x24 cm.
- **Marquardt, R.R., Frohlich, A.A., (1992),** A review of recent advances in understanding ochratoxicosis, *J. Anim. Sci.*, 70, p. 3968-3988.
- **Mcconnaughey, M. (2014).** Physical chemical properties of fungi. Reference module in biomedical sciences. 10P. doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.05231-4.
- **Messiaen, C.M, Cassini R. (1968).** Recherche sur les Fusarioses. IV La systématique des Fusarium. *Ann. Epiphyties* , 19. 387-454.
- **Meyer, A, Deiana, JEAN, Bernard, A. (2004).** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2eme éd. Doin, 72 p .
- **Moreau C. (1994).** Moisissures toxiques dans l'alimentation. Pologne : Masson Et Cie, 322 P.
- **Moreau, C.** Moisissures toxiques dans l'alimentation Paris -Vie Masson et Cie 1974. 471p. (2002).
- **Moss, M.O., Franck, M.** Prevention effects of biocides and other agents on
- **Mouria B, Ouazzani-Touhami A et Douira A. 2013.** Effet du compost de *Trichoderma harzianum* sur la suppression de la verticilliose de la tomate. *Journal of Applied Biosciences* **70**, 5531– 5543.
- mycotoxin production, in Watson D.H, ed, *Toxicants in foods*. Chichester: **Ellis Horwood**. P: 231-251. (1987).
- **Nasraoui B. (2006).** Les champignons parasites des plantes cultivées. Biologie, Systématique, pathologie, maladie. Centre de publication universaire. Tunisie, 78 P .

- **Nasraoui, B. (2015).** Les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées. Tunisie. Institut National Agronomique de Tunisie. 180P. <http://www.nasraouibouzid.tn/Livres/Livre7.pdf>.
- **Nelson, P.E., Plattner, R.D., Shackelford, D.D., Desjardins, A.E., (1992).** Fumonisin B₁ production by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section *Liseola* and by some related species, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, p.986-989.
- **Nguyen Minth Tri M., 2007.** Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxine dans le riz commercialisé de cinq provinces de la région centrale du Vietnam- études des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines, thèse de Doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse. 100 pages.
- **Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R. (2000).** L'essentiel microbiologie. Edition Berti, 210-216 P.
- **Nishio, T., Katahira, K., and Omote, Y. (1981)** *J. Chem. Soc. Perkin 'Duns. I*, 943-946
- **Norholt, M.D., Van Egmond, H.P., Paulsch, W.E.** Ochratoxin A production
- **Norred, W., Plattner, R.D., Vesonder, R.F., Bacon, C.W., Voss, K.A. (1992).** Effect of selected secondary metabolites of *Fusarium moniliforme* on unscheduled synthesis of DNA by rat primary hepatocytes, *Food Chem. Toxicol.*, 30, p. 233-237.
- **Oei, P ; avec la contribution de Nieuwenhijzen, B.N. (2005).** La culture des champignons à petite échelle, Edition Janna de feijter, P-8, 9 ? 82 P.
- **OMS. (1980).** Mycotoxines. Critères d'hygiène de l'environnement 11. publications. De l'OMS. Genève. P.142.
- **OMS. (2015).** Maladies d'origine alimentaire: près d'un tiers des décès surviennent chez les enfants d moins de 5 ans.
- **Oswald, F.L. (2000).** Personnel Selection: Looking toward the Future -Remembering the Past. *Annual Review of Psychology*, 51, 631-664.
- **Osweiler, G.D., Ross, P.F., Wilson, T.M., Nelson, P.E., Witte, S.T., Carson, T.L., Rice, L.G., Nelson, H.A.(1992).** Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisin in corn screenings, *J. Vet. Diagn. Invest.*, 4, p.53-59.
- **P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y .et Veau, P.** Moisissures utiles et nuisibles, Importance

industrielle, 2^{ème} Ed. Masson collection biotechnologies(1990) 5-10.

- **Parenicova, L., Skouboe, P., Samson, R. A., Rossen, L., Visser, J. (2000).** Genotypic and phenotypic variability among black Aspergilli. In: Samson, R. A. and Pitt, J. I. (eds), Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. (pp 413-424). Harwood Academic Publishers, Amsterdam the Netherlands
- **Payne, G.A., Hagler, W.M.** Effect of specific amino acids on *Aspergillus flavus* in
- **Pfohl-Leszkowicz, A.** Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque. Paris: Tec&Doc. P 478. (1999).
- **Pitt J.I, Hocking A.D. (1987).** Fungi and Food spoilage, 2nd edition. London : Blackie Academix and Professional.
- **Pitt, J.I.(1998).** Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds. Revue de Médecine Vétérinaire, 149 (6), p. 479-492.
- **Pohland, A.E., Nesheim, S., Friedman, L. (1992).** Ochratoxin A, a review, Pure, Appl. Chem., 64, p. 1029-1046.
- polymorphism and adaptive evolution in the trichothecene mycotoxin gene cluster
- **Prescott L. M., Harley J. P. and Klein D. A. (2003).** Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition P: 1164.
- production by *Aspergillus flavus*. *FEMS Microbiology Letters*(1979) 6, 367-370.
- **Quillien, J-F. (2002).** Les mycotoxines. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) - Centre de Réseaux pour l'Innovation en Agriculture et Agroalimentaire (CRIAA), Paris, France, p. 1-24.
- **Raper K.B, Fennel D.I. (1965).** The genus *Aspergillus*. New-York, USA, William er Wilkinson, 209 P.
- **Riba A. (2008).** Recherche sur les champignons producteurs d'aflatoxines et 'ochratoxine a dans la filiere ble En Algerie. Thèse : microbiologie.universite mouloud mammeri de Tizi Ouzou.145P.
- **RIVIÈRE, E. 1975.** « Prologo », El Processo Grupal : del psicoanàlisis a psicologia social, Buenos Aires, Nueva Visión, in « Psychanalyse et psychologie sociales – Hommage à Enrique Pichon Rivière », Revue de psychothérapie psychanalytique de groupe, Toulouse,

ères, 1994, p. 23, 7, 10, 11.

- **Roland J.C. et Vian B. (1985).** Atlas de Biologie végétale - Tome 1 : organisation des plantes sans fleurs. Ed Masson .366 P.
- **Roquebert M.F. (1997).** Les moisissures : nature, biologie et contamination. [Enligne] www.culture.gouv.fr/culture/conservation/fr/cours/roqueber.htm.
- **Ross, P.F., Rice, L.G., Osweiler, G.D., Nelson, P.E., Richard, J.L., Wilson, T.M. (1992).**A review and update of animal toxicoses associated with fumonisin-contaminated feeds and production of fumonisins by *Fusarium* isolates, *Mycopathologia*, 117, p. 109-114.
- **Ruppel P, Delfosse P, Hornick J, 2004.** La contamination de la filière laitière par les mycotoxines : un risque pour la santé publique en Afrique subsaharienne. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 2 148 : 141-146.
- *Sciences pharmaceutiques*. P :132. **(2016)**.
- **Scriban, R.** Biotechnologie. 5^{ème} édition. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris. P : 149-159. **(1999)**.
- **Senn-Irlet, B., Egli, S., Boujon, C., Küchler, H., Küffer, N., Neukom, H. P., & Roth, J. J. (2012).** Protéger et favoriser les champignons. Notice pour le praticien (49), Birmensdorf, Suisse, 12 P.
- some fungal species in relation to water activity and temperature. *Journal of Food Protection*. P : 485-490. **(1979)**.
- **Spahr, N. E., et al., (2000)**, water quality in the upper colorado river basin , colorado , 1996-98, circular 1214, U.S. Geological Survey.
- **Sugita-Konishi Y., Nakajima, M., Tabata, S., Ishikuro, E., Tanaka, T., Norizuki, H., Itoh, Y., Aoyama, K., Fujita, K., Kai, S., Kumagai, S. (2006)**, Occurrence of aflatoxins, ochratoxinA, and fumonisins in retail foods in Japan, *J Food Prot.*, 69 (6), p. 1365-1370.
- **Tabuc, C.** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Sous la direction de Sesan Tatiana et Bailly Jean-Denis. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. P 190. **(2007)**.
- **Vainio, H., Magee, P., McGregor, D., McMichael, A., (1992).** Mechanisms of Carcinogens in Risk Identification, IARC Scientific Publications No 116, IARC, Lyon.

- **Varga, J., Kevei, E., Rimyu, E., Teren, J., Kazakiewicz, Z., (1996).**Ochratoxin production by *Aspergillus* species, *Appl. Environ.Microbiol.*, 62, p. 4461-4464.
- **Vrabcheva, T., Petkova-Bocharova, T., Grosso, F., Nikolov, I., Chernozemsky, I.N., Castegnaro, M., Dragacci, S., (2004).** Analysis of ochratoxinA in foods consumed by inhabitants from an area with balkan endemic nephropathy: a 1 month follow-up study, *J Agric Food Chem.*, 52 (8), p. 2404-2410.
- **Vrabcheva, T., Usleber, E., Dietrich, R., Märklbauer, E. (2000).**Co-occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy, *J Agric Food Chem.*, 48 (6), p. 2483-2488.
- **Waqas, K.**Aflatoxins: Biosynthesis, Occurrence, Toxicity, and Remedies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*(2013) 53(8), 862–874.
- **Ward, Tj., Bielawski, Jp., Kistler, Hc., Sullivan, E., O'donnell, K.** Ancestral
- **Whitlow, W. et Hagler, W.M.(2001).**Mycotoxin contamination of feedstuffs - An additional stress factor for dairy cattle. in 25th symposium sur les bovins laitiers. Quebec.
- **Yiannikouris, A. et Jouany, J.P. (2002).** - Mycotoxins in feeds and their fate in animals, a review. *Animal Research*, 51, 81–99.
- **Zineddine, A . Larbi, I. (2007).**LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE, 7, 1-2.

Annexes

Annexes

- **Milieu PDA (Pomme de terre, Dextrose, Agar)**

- Pomme de terre200 g
- Agar 20 g
- Glucose20g
- Eau distillée 1000 ml

- Couper en cubes la pomme de terre non pelée dans 600 ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pendant 20 – 30 min.
- D'autre part faire fondre l'agar dans 600 ml d'eau distillée.
- Écraser la pomme de terre, filtrée puis ajouter le filtrat à la solution d'agar.
- Ajouter le glucose.
- Compléter le volume à 1000 ml.
- Stériliser par autoclavage à 121° C / 2h.

Nos aliments peuvent parfois présenter des risques sanitaires si les conditions de culture, d'élevage de fabrication de commercialisation et de conservation sont mauvaises. Dans ce cadre s'inscrit le problème de nuisances occasionnées par le développement dans les denrées alimentaires. Les raisins secs, les noix et les fèves sont des fruits secs et des légumes oléagineux, en outre les épices sont des denrées qui constituent un substrat préférable pour les moisissures qui peuvent provoquer une altération technologique et sanitaire induisant un risque accru de contamination croisée par les mycotoxines, leur danger toxique et cancérigènes pour l'homme et animal. A cet effet, l'objectif de ce travail s'inscrit dans le cadre de problématique de mycotoxine débutant par une analyse mycologique : isolement et purification des moisissures dans les épices et dans les fruits et légumes secs avec ces différentes catégories commercialisées décortiquée, avec coque, et décortiqués au labo, par deux méthodes : Ulster et la méthode classique de dilution. Les résultats obtenus montrent que Le cumin est le plus contaminés avec un pourcentage de 62% des souches isolées, suivi par la noix 43%, puis le poivre noir avec un pourcentage de 36% et en dernier la fève et le raisin avec un pourcentage des 29%. On remarque aussi, la dominance des genres *Aspergillus* et *penicilium* qui témoignent les mauvaises conditions de stockage et de commercialisation. Les souches ainsi identifiées sont : 2 *Rhizopus*, 5 *Aspergillus* dont : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus sp.* Et 4 *penicilium sp.* *Alternaria* représenté par deux isolats (*Alternaria SP1*, et *Alternaria SP2*) et enfin une souche de chaque genre de *Fusarium* et *Cladosporium*.

Mots clés : moisissures, mycotoxines, denrees alimentaires.

Our food can sometimes present health risks if the conditions of cultivation, breeding, manufacturing, marketing and conservation are poor. In this context, there is the problem of nuisances caused by development in foodstuffs. Raisins, nuts and beans are dried fruits and oleaginous vegetables, in addition spices are foodstuffs which constitute a preferable substrate for molds which can cause technological and sanitary deterioration inducing an increased risk of cross-contamination by mycotoxins, their toxic and carcinogenic danger for humans and animals. To this end, the objective of this work falls within the framework of mycotoxin problems starting with a mycological analysis: isolation and purification of molds in spices and in dried fruits and vegetables with these different marketed categories shelled, with hull, and shelled in the lab, by two methods: Ulster and the classic method of dilution. The results obtained show that cumin is the most contaminated with a percentage of 62% of isolated strains, followed by walnuts with 43%, then black pepper with a percentage of 36% and lastly beans and grapes with a percentage of 29%. We also note the dominance of the *Aspergillus* and *penicilium* genera, which testify to the poor storage and marketing conditions. The strains thus identified are: 2 *Rhizopus*, 5 *Aspergillus* including: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus* sp. And 4 *penicilium* sp. *Alternaria* represented by two isolates (*Alternaria* SP1, and *Alternaria* SP2) and finally a strain of each genus of *Fusarium* and *Cladosporium*.

Key words: molds, mycotoxins, foodstuffs.

يمكن أن يشكل طعامنا أحياناً مخاطر صحية إذا كانت ظروف النمو والتربية والتصنيع والتسويق والتخزين سيئة. في هذا السياق ، تنشأ مشكلة المضايقات الناجمة عن تطور المواد الغذائية. الزبيب والمكسرات والفاصوليا هي فواكه مجففة وخضروات زيتية ، بالإضافة إلى التوابل هي مواد غذائية تشكل ركيزة مميزة للقوالب التي يمكن أن تسبب تدهوراً تقنياً وصحياً مما يؤدي إلى زيادة خطر التلوث المتبادل بالسموم الفطرية وخطر السام والمسرطن على البشر والحيوانات. تحقيقاً لهذه الغاية ، يندرج الهدف من هذا العمل في إطار مشاكل السموم الفطرية ، بدءاً من التحليل الفطري: عزل وتنقية العفن في التوابل والفواكه والخضروات المجففة مع هذه الفئات المسوقة المختلفة التي تم قشرها وقشرها في المختبر بطريقتين: أولستر وطريقة التخفيف التقليدية. أظهرت النتائج أن الكمون هو الأكثر تلوثاً بنسبة 62٪ من السلالات المعزولة ، يليه المكسرات بنسبة 43٪ ، ثم الفلفل الأسود بنسبة 36٪ ، وأخيراً الفول والعنب بنسبة 29٪. نلاحظ أيضاً هيمنة أجناس الرشاشيات والصنوبر ، والتي تشهد على سوء ظروف التخزين والتسويق. السلالات التي تم تحديدها على هذا النحو هي: *Aspergillus 5* و *Rhizopus 2* بما في ذلك: *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* و *Aspergillus sp*. و 4 بنيسيليوم ليرة سورية. يتم تمثيل *Alternaria* بواسطة عزلين (*Alternaria SP1*) و (*Alternaria SP2*) وأخيراً سلالة من كل جنس من *Fusarium* و *Cladosporium*.

الكلمات المفتاحية: الفطريات، السموم الفطرية، المواد الغذائية.