

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعلیم العالی و البحث العلمی

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire SALHI Ahmed – NAAMA

Institut des Sciences et de Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER Académique

En : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> BEN MAROUF Hanane

M<sup>elle</sup> DINE Mounira

Intitulé

**Caractérisation de la flore fongique d'un produit terroir de la région de Naâma – cas du couscous traditionnel ou Taâm traditionnel.**

Soutenu, devant le jury composé de :

Président	Mr.KEBDANI Mohamed	M.C.B	CUN Naâma
Encadreur	Mr.AMROUCHE Abdel-ilah	Professeur	CUN Naâma
Examineur	Mme.YAKOUBI Meriem	M.A.B	CUN Naâma

Session : Juillet 2021  
Promotion : 2020 / 2021



---

## **Remerciements**

---

*Avant tout propos, Le grand Merci nous le réservons à Dieu le tout puissant et miséricordieux de nous 'avoir donné la force et le courage de mener ce travail à terme.*

*A notre promoteur : Mr Amrouche Abdel-ilah., Professeur au CUN, qui a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ça bien vaillance, son aide moral et sa disponibilité pendant toute la période de travail. Nos profondes reconnaissances pour vos encouragements votre patience et vos conseils.*

*A Mr Kébdani Mohamed., Maître de conférences (B) au CUN, pour nous' avoir fait l'honneur de présider le jury, qu'il trouve ici l'expression de nos respectueuses reconnaissances.*

*Nous adressons également nos chaleureux remerciements à Mme Yağoubi Meriem Maître assistant (B) au CUN, pour nous' avoir fait l'honneur de juger notre travail et qui nous a énormément aider par ses conseils et son aide dans l'élaboration de ce mémoire en mettant en œuvre tout le fruit de son expérience.*

*A Melle Khiri Zahia., doctorante à l'université de Tlemcen, pour son soutien, ses conseils, ses encouragements et son aide précieux tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Un grand merci chaleureux pour tous les ingénieurs de laboratoire de microbiologie de CUN.*



---

# **Dédicaces**

---

*Avant toute dédicace je tiens à remercier « Allah » le tout puissant qui m'a donné le courage pour mener ce travail à terme.*

*Un grand merci à mes parents d'avoir fait que je puisse réaliser mes longues études dans des conditions idéales dans les moments de découragement et qui sont toujours mon exemple et source de sacrifice et d'espoir, que dieu les gardes et je ne pourrais jamais assez les remercier.*

*A mes très cher frères Bachir et Mohammed pour leur amour et soutien.*

*Je dédie aussi ce travail à mes chères sœurs : Saâdya, Ikram et Marwa.*

*Ma chère amie et ma sœur et mon binôme Mounira, que Dieu me le garde pour toute ma vie, pour son soutien, sa patience et son amour.*

*A toutes mes cousines surtout Hasnia*

*A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin.*

*A mes amies : Amina, Khadidja, Houda, Karima.*

*Et toute la promotion MMA 2020/2021.*

*Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas citées et à tous ce qui me connaissent.*

*Hanane*

---

# Dédicaces

---

*A celui qui m'a toujours nourrit d'amour et de tendresse, qui grâce à ses encouragements, son soutien, son compréhension et surtout son affection j'ai pu avancer dans la vie. L'être le plus cher à mon cœur, mon très cher Papa.*

*A celle qui m'a toujours encouragé « à sa manière », et qui m'a appris de ne jamais me contenter du minimum et que dans les études comme dans la vie il faut persévérer pour atteindre ses buts, la prunelle de mes yeux ma très chère Maman.*

*À mes sœurs : Amina et Ikhlâs ; mes frères : Ismail et Iyad ; pour leur courtoisie et leur confiance permanente à mon égard.*

*Je vous souhaite un avenir radieux, plein de bonheur et de succès.*

*À mon adorable grand-mère, que Dieu te garde pour nous.*

*A ma très chère tante Soumia, celle qui m'a énormément aidé et soutenu.*

*A mon binôme et ma très chère amie Hanane pour le travail que nous avons fourni.*

*A mes chères collègues : Houâda, Ymina, Khadidja, et Karima.*

*A tous les membres de ma famille.*

*A tous ceux qui m'aiment... Mounira*

## **Abstract**

Food safety has become the main focus of the food industry and health professions with regard to both the food source and the toxic substances produced by the vector.

Fungal contamination is one of the main causes of food spoilage, especially after the discovery of mycotoxins produced by these microorganisms, which have only increased the worries of farmers, industrialists, scientists and consumers.

The present contribution is a trial to study the fungal diversity that can contaminate a cereal product of the region of Naâma - the artisanal couscous.

In a preliminary context, we tried to evaluate the quality status of the product by carrying out a microbiological analysis to attest the hygienic status. The second step was devoted to the isolation, purification and identification of molds contaminating the couscous to attest their toxinogenic capacities.

Microbiologically, the traditional couscous analyzed showed a microbial load of  $1.8 \times 10^4$  CFU/mL for total aerobic mesophilic flora, 3.3 CFU/mL for sulfite-reducing Clostridium, and  $2.5 \times 10^2$  UF/mL for yeasts and molds, and a total absence of total coliforms, thermotolerant coliforms and Staphylococci, although it is still in conformity with the Algerian regulations, Order N° 39 (2017).

Regarding the mycological investigation a noticeable dominance and frequency of five distinct taxonomic groups has been shown, namely: *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. *Ulocladium* sp. *Cladosporium* sp. and *Mucor* sp.

These results conclude that the raw material of which couscous is made has been subject to poor storage and processing conditions. It should be mentioned that the taxonomic groups could be producers of secondary metabolites with toxicity (mycotoxins).

The present study results did not allow us to affirm that couscous is improper for consumption. To attest the quality of this product constituting the dorsal spine of the Algerian consumption a more detailed study must be realized to affirm its hygienic and qualitative status.

**Keywords:** artisanal couscous, fungal diversity, mycotoxins, Naâma.

## ملخص

أصبحت سلامة الأغذية، الشغل الشاغل لصناعة الأغذية والمهن الصحية والتي تعتبر في آن واحد مصدر غذائي وناقل للسموم. يعد التلوث الفطري أحد الأسباب الرئيسية لتلف الطعام، خاصة بعد اكتشاف السموم الفطرية التي تنتجها هذه الكائنات الدقيقة والتي زادت من قلق المزارعين والمصنعين والأكاديميين والمستهلك البسيط. هذه المساهمة هي محاولة لدراسة التنوع الفطري الذي يمكن أن يلوث إحدى منتجات الحبوب المحلية في منطقة النعامة -الكسكس التقليدي.

في سياق أولي، حاولنا تقييم جودة المنتج من خلال إجراء تحليل ميكروبيولوجي لتقييم الجودة الصحية. وخصصت الخطوة الثانية لعزل وتنقية وتحديد الفطريات الملوثة للكسكس وإثبات قدرتها على السمية. من وجهة نظر ميكروبيولوجية، أظهر الكسكس التقليدي نتائج تبلغ  $1.8 \times 10^4$  UFC/mL لإجمالي بكتيريا متوسطة الحرارة الهوائية ،  $3.3$  UFC/mL Clostridium sulfito-réducteurs ، و  $2.5 \times 10^2$  UF/mL للخمائر والفطريات ، وغياب تام للبكتيريا القولونية ، القولونيات المقاومة للحرارة والمكورات العنقودية ، لكنها متوافقة مع اللوائح الجزائرية ، قرار رقم 39 (2017).

فيما يتعلق بعزل الفطريات، تبين وجود هيمنة وتواتر ملحوظين لخمس مجموعات تصنيفية متميزة، وهي:

*Mucor sp.* و *Penicillium sp.* *Ulocladium sp.* *Cladosporium sp.* *Aspergillus sp.*

تؤكد هذه النتائج أن المادة الخام التي يصنع منها الكسكس قد خضعت لظروف تخزين ومعالجة سيئة. وتجدر الإشارة إلى أن المجموعات التصنيفية يمكن أن تكون سمية (السموم الفطرية). في ضوء مساهمتنا، فإن النتائج التي تم الحصول عليها لا تسمح لنا بالتأكيد أو النفي أن الكسكس غير صالح للاستهلاك. للمصادقة على جودة هذا المنتج الرائد الذي يشكل الطبقة الرئيسي في الجزائر، يجب إجراء دراسة أكثر شمولاً وتفصيلاً لتأكيد وضعه الصحي والنوعي.

الكلمات المفتاحية: الكسكس التقليدي، التنوع الفطري، السموم الفطرية، النعامة.

## Résumé

La sécurité sanitaire des aliments est devenue la principale préoccupation de l'industrie agroalimentaire et des professions de santé considérant à la fois la source d'aliment et les substances toxiques produites par le vecteur.

La contamination fongique compte parmi les principales causes de détérioration des denrées alimentaires, surtout après la découverte des mycotoxines produites par ces micro-organismes qui n'ont fait qu'accentuer les soucis des agriculteurs, des industriels, des scientifiques et du simple consommateur.

La présente contribution est une tentative d'étude de la diversité fongique pouvant contaminer un produit céréalier du terroir caractéristique de la région de Naâma - le couscous traditionnel.

Dans un contexte préliminaire nous avons essayé d'évaluer le statut qualitatif du produit en réalisant une analyse microbiologique pour attester du statut hygiénique. La deuxième étape a été consacrée à l'isolement, la purification et l'identification des moisissures contaminant le couscous pour attester de leurs capacités toxinogéniques.

Sur le plan microbiologique, le couscous traditionnel analysé a montré une charge microbienne de  $1.8 \times 10^4$  UFC/mL pour la flore aérobie mésophile totale, 3.3 UFC/mL pour les *Clostridium sulfito-réducteurs*, et  $2.5 \times 10^2$  UF/mL pour les levures et moisissures, et une absence totale des coliformes totaux, coliformes thermotolérants et des Staphylocoques, mais reste toujours conforme à la réglementation Algériennes, Arrêté N°39(2017).

En ce qui concerne l'investigation mycologique une nette dominance et fréquence de cinq groupes taxonomiques distincts a été affichée à savoir : *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Ulocladium sp.*, *Cladosporium sp.* et *Mucor sp.*

Ces résultats confirment que la matière première dont est issue le couscous a été sujet à mauvaises conditions de stockage et de transformation. Il est à mentionné que les groupes taxonomique peuvent être producteurs de métabolites secondaires dotés de toxicité (mycotoxines).

Les résultats obtenus dans cette étude, ne nous ont pas permis d'affirmer que le couscous est impropre à la consommation. Pour attester la qualité de ce produit constituant l'épine dorsale de la consommation algérienne une étude plus approfondie et plus détaillée doit être réalisée pour affirmer son statut hygiénique et qualitatif.

**Mots clés :** couscous artisanal, diversité fongique, mycotoxines, Naâma.

## Liste des abréviations

<b>AW</b>	Activité d'eau
<b>CODEX</b>	Commission du codex alimentaius faisant partie de la FAO/OMS
<b>CSR</b>	Clostridium sulfito réducteurs
<b>CYA</b>	Milieu Czapek Yeast Agar
<b>DCPA</b>	Milieu Dichloran chloramphenicol peptone agar
<b>FMAT</b>	Flore aérobie mésophile totale
<b>G25N</b>	Glycérol à 25% et nitrate
<b>L-M</b>	Levures et moisissures
<b>MEA</b>	Malt Extract Agar
<b>OGA</b>	Gélose à la base l'oxytetracycline
<b>OTA</b>	Ochratoxines A
<b>PCA</b>	Plat Count Agar
<b>PDA</b>	Potatoes Dextrose Agar
<b>PDAa</b>	Potatoes Dextrose Agar acidifié
<b>Ph</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>SA</b>	<i>Staphylocoque aureus</i>
<b>TSE</b>	Trypton sel eau
<b>VF</b>	Viande foie

## Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	Classification générale des champignons.	17
<b>Figure 2</b>	Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure.	20
<b>Figure 3</b>	Modes de formation des conidies.	24
<b>Figure 4</b>	Modes de groupement des conidies des champignons filamenteux.	25
<b>Figure 5</b>	Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i> .	26
<b>Figure 6</b>	Caractères morphologiques des <i>Penicillium</i> .	28
<b>Figure 7</b>	Organisation schématique des objectifs de la recherche.	37
<b>Figure 8</b>	Carte géographique de la zone de prélèvement.	38
<b>Figure 9</b>	Diagramme de fabrication de couscous artisanal.	39
<b>Figure 10</b>	Techniques d'isolement et de dénombrement des souches fongiques.	46
<b>Figure 11</b>	Méthode d'identification microscopique des moisissures.	47
<b>Figure 12</b>	Micro-culture des moisissures pour l'identification microscopique.	48
<b>Figure 13</b>	Type d'inoculation des différents isolats fongique.	49
<b>Figure 14</b>	Valeurs moyennes de FAMT des trois échantillons étudiées.	52
<b>Figure 15</b>	Valeurs moyennes de CSR des trois échantillons étudiées.	54
<b>Figure 16</b>	Valeurs moyennes de Levure et Moisissure des trois échantillons étudiées.	55
<b>Figure 17</b>	Aspects macroscopiques des colonies d' <i>Aspergillus</i> spp.	61
<b>Figure 18</b>	Aspects macroscopiques des colonies des <i>Penicillium</i> spp.	64
<b>Figure 19</b>	Aspects macroscopiques des colonies des <i>Ulocladium</i> spp.	66

<b>Figure 20</b>	Aspects macroscopiques des colonies des <i>Cladosporium</i> spp.	68
<b>Figure 21</b>	Aspects macroscopiques des colonies de <i>Mucor</i> sp.	70
<b>Figure 22</b>	Aspects microscopiques des <i>Aspergillus</i> spp.	72
<b>Figure 23</b>	Aspects microscopiques des <i>Penicilium</i> spp.	73
<b>Figure 24</b>	Aspects microscopiques des <i>Ulocladium</i> spp.	74
<b>Figure 25</b>	Aspects microscopiques des <i>Cladosporium</i> spp.	75
<b>Figure 26</b>	Aspects microscopiques des <i>Mucor</i> sp.	76

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>Tableau 1</b>	Composition chimique mentionnée sur l'étiquetage de la semoule du couscous.	8
<b>Tableau 2</b>	Origine et date de prélèvement des échantillons.	40
<b>Tableau 3</b>	Caractérisation macroscopiques des isolats des <i>Aspergillus</i> spp.	57
<b>Tableau 4</b>	Caractérisation macroscopiques des isolats des <i>Penicillium</i> spp.	62
<b>Tableau 5</b>	Caractérisation macroscopiques des isolats des <i>Ulocladium</i> spp.	65
<b>Tableau 6</b>	Caractérisation macroscopiques des isolats des <i>Cladosporium</i> spp.	67
<b>Tableau 7</b>	Caractérisation macroscopiques des isolats de <i>Mucor</i> sp.	69

## Sommaire

Remerciements	i
Dédicaces	ii
Abstract	iv
ملخص	v
Résumé	vi
Liste des abréviations	vii
Liste des figures	viii
Liste des tableaux	x
Sommaire	xi
Introduction Générale	1
<b>Partie 1 : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Couscous traditionnel</b>	
I. Le couscous	6
I.1 .Généralités sur le couscous	6
I.1.1. Historique	6
I.1.2. Etymologie du mot couscous	6
I.1.3. Définition de couscous	7
I.1.4. Les dérivés de couscous	7
I.1.5. Place du couscous dans le régime alimentaire	7
I.1.6. Composition globale du couscous	8
I.1.7. Procédés de fabrication du couscous	8
I.1.7.1. Mode artisanal	9
a. Préparation et classification de la semoule	10

b. Roulage	10
c. Pré-cuisson du couscous	12
d. Séchage	12
I.1.8. Notion de qualité de couscous	13
I .1.8.1. Qualité nutritionnelle	13
I .1.8.2. Qualité hygiénique	13
I .1.8.3. Qualité organoleptique	14
I .1.8.4. Qualité culinaire	14

## Chapitre II : Flore fongique

II. Les moisissures	16
II.1. Généralités	16
II.2. Phylogénie des champignons	16
II.2.1. Mastigomycotina	18
II.2.2. Zygomycotina	18
II.2.3. Ascomycotina	18
II.2.4. Basidiomycotina	19
II.2.5. Deuteromycotina	19
II.3. Cycle de vie des moisissures	19
II.4. Critères d'identification	21
II.4.1. Identification morphologique	21
II.4.2. Identification macroscopique	21
II.4.3. Identification microscopique	22
II.5. Principaux genres fongiques	25
II.5.1. Le genre <i>Aspergillus</i>	25

II.5.1.1. Morphologie microscopique	27
II.5.2. Le Genre <i>Penicillium</i>	27
II.5.2. 1. Morphologie microscopique	28
II.6. contamination des aliments par les moisissures	29
II.6.1. Condition de développement des moisissures	29
II.6.1.1. Activité en eau (Aw)	29
II.6.1.2. Ph	30
II.6.1.3. Présence d'oxygène	30
II.6.1.4. Température	30
II.6.1.5. Lumière	31
II.6.2. Contamination des aliments par les moisissures	31
II.6.2.1. Les céréales	32
II.6.2.2. Produits alimentaires à base de céréales	32
II.7. Les mycotoxines	33
II.7.1. Les mycotoxines dans la chaîne alimentaire	33
II.7.2. Les différents types de mycotoxines	33
II.7.2.1. Aflatoxines	34
II.7.2.2. Ochratoxine A	34
II.7.2.3. Fumonisines	34
II.7.2.4. Trichothécènes	35
II.7.2.5. Zéaralénone	35
II.7.2.6. Patuline	35

## Partie 2 : Matériels et méthodes

<b>III. Démarche de travail</b>	<b>37</b>
<b>III.1. Objectif</b>	<b>37</b>
<b>III.2. Description de la zone de prélèvement</b>	<b>38</b>
<b>III.3. Diagramme de fabrication de couscous artisanal</b>	<b>39</b>
<b>III.4. Echantionnnlage</b>	<b>40</b>
<b>III.5. Caractérisations du couscous artisanal</b>	<b>41</b>
<b>III.5.1. Caractérisations microbiologiques</b>	<b>41</b>
<b>III.5.1.1. Préparation de la solution mère et des dilutions</b>	<b>41</b>
<b>III.5.1.2. Préparation des dilutions décimales</b>	<b>41</b>
<b>III.5.1.3. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale</b>	<b>42</b>
<b>III.5.1.4. Dénombrement des coliformes totaux et coliformes         thermo tolérants</b>	<b>42</b>
<b>III.5.1.5. Recherche des <i>Staphylocoques</i></b>	<b>43</b>
<b>III.5.1.6. Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs</b>	<b>43</b>
<b>III.5.1.7. Dénombrement des levures et moisissures</b>	<b>43</b>
<b>III.5.2. Caractérisations mycologiques</b>	<b>44</b>
<b>III.5.2.1. Isolement de la flore fongique</b>	<b>44</b>
<b>a. Préparation des solutions mères</b>	<b>44</b>
<b>III.5.2.2. Repiquage des souches</b>	<b>45</b>
<b>III.5.2.3. Identification des genres de moisissures</b>	<b>47</b>
<b>a. Identification des genres par la technique de scotch</b>	<b>47</b>
<b>b. Identification des genres par la technique de micro-culture</b>	<b>48</b>
<b>III.5.2.4. Identification des espèces « single spore »</b>	<b>48</b>

a. Préparation de la suspension sporale	49
<b>Partie 3 : Résultats</b>	
IV.1. Caractérisations du couscous artisanal	52
IV.1.1. Caractérisations microbiologiques	52
IV.1.1.1. Flore aérobie mésophile totale (FAMT)	52
IV.1.1.2. Coliformes totaux et coliformes thermotolérants	53
IV.1.1.3. <i>Staphylocoques</i>	53
IV.1.1.4. Anaérobies sulfito-réducteurs	53
IV.1.1.5. Levures et moisissures	54
IV.1.2. Caractérisations mycologiques	56
IV.1.2.1. Identification des moisissures	56
a. Identification macroscopique	56
b. Identification microscopique	71
<b>Partie 4</b>	
Discussion	78
<b>Conclusion générale</b>	
Références bibliographiques	88
<b>Annexes</b>	

---

# ***Introduction Générale***

---

La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole dans l'histoire de l'industrie alimentaire (**DJERMOUN, 2009**) dont le blé occupe actuellement la première place dans la production mondiale des céréalières (environ 40 %) face à la forte demande consécutive à l'augmentation de la population et à la régression des productions suite aux changements climatiques et aux sécheresses sévères et présente une importance nutritionnelle et économique considérable (**CHARDOUH, 1999**).

Les céréales et leurs dérivés (semoule, pâte, couscous) constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien. Ils fournissent plus de 60 % de l'apport calorique de la ration alimentaire nationale (**BEN BELKACEM et al ., 1995**).

En tant que source énergétique et protéique, les aliments à base de blé demeurent la principale nourriture des humains. La fabrication de produits issus de blé et spécialement le blé dur tels que les semoules, pâtes alimentaires, couscous ... etc, est répandue dans l'industrie agroalimentaire (**BAR, 2001**).

Parmi les pâtes traditionnelles, le couscous vient en tête des pâtes consommées par la famille algérienne. Une enquête sur la population algérienne a révélé une consommation moyenne du couscous fin de l'ordre de 9.21 kg/an/habitant (**BENLACHEHAB, 2008**).

Le couscous n'est pas seulement le "plat national" mais il fait partie de la vie quotidienne de la famille algérienne ; il faut signaler aussi la richesse de cet aliment en amidon ce qui augmente son apport énergétique (354 Kcal/100g), et la présence de certaines protéines nécessaires pour l'organisme (**FREDOT, 2005**).

Les aspects qualitatifs et sanitaires sont très importants. En effet, un des critères importants de la qualité sanitaire des céréales est la contamination en mycotoxines. La présence de moisissures et de toxines dans les aliments est devenue un sujet de préoccupation pour les professionnels de la santé, et pour le commerce mondial (**AMROUCHE et al., 2012**).

Les céréales (le blé en particulier) sont des substrats naturellement favorables au développement fongique. Cette croissance des micromycètes peut avoir plusieurs conséquences néfastes comme l'altération de l'aspect et des propriétés technologiques des matières premières, le développement de mycoses ou d'allergies et la production et l'accumulation de mycotoxines (**BENNETT et al., 2003**).

Les graines de céréales constituent, depuis toujours, la principale ressource alimentaire de l'homme et de l'animal et possèdent un pouvoir nutritionnel important. Dans la plupart des cas, la production des céréales est assurée par une seule récolte dans l'année alors que la consommation est prolongée toute au long de l'année, d'où la nécessité du stockage. Malheureusement, de nombreux agents de détériorations (vertébrés, insectes, moisissures, acariens,...) sont la cause de la perte d'une grande partie des récoltes de céréales. Les moisissures et leurs métabolites secondaires entraînent, à l'échelle mondiale, des pertes de céréales et leurs dérivées estimées de 5 à 10% (**PFOHL-LESZKOWICZ, 1999**).

Les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Elles sont omniprésentes dans la nature et possèdent un arsenal enzymatique très varié, ce qui leur permet de croître sur divers substrats. Les moisissures diminuent la qualité technologique (taux du gluten) et sanitaire (allergie, agents toxiques responsables de graves intoxications humaines et animales) réduisant la valeur nutritionnelle, modifiant l'aspect organoleptique et enfin provoquant des problèmes économiques dus aux coûts de détoxification des grains ou les rejets des produits contaminés (**GACEM ,2012**).

Les paramètres régulant la croissance fongique et qui permettent la production de toxines sont nombreux. On cite principalement la charge initiale en microflore, la présence de grains brisés, le taux d'humidité et la température de stockage des grains, mais la présence de moisissures productrices de mycotoxines sur une denrée alimentaire ne signifie pas toujours qu'une mycotoxine est produite. La production des mycotoxines peut s'effectuer depuis le champ jusqu'à l'assiette (**AMROUCHE et al., 2012**).

Cependant, le type de mycotoxines contaminant les aliments ainsi que la quantité de mycotoxine produite dépend de plusieurs éléments comme les espèces fongiques, les conditions écologiques dans lesquelles les champignons se développent. Il dépend également de la stabilité de ces toxines dans le milieu alimentaire (**AMROUCHE et al., 2012**).

Notre travail a pour objectif, l'étude de la diversité fongique pouvant contaminer un produit dérivé des céréales en l'occurrence le couscous préparé de façon artisanale, et de voir l'impact de la fabrication artisanal sur cette diversité fongique. Il est aussi question d'identifier les principaux acteurs de cette diversité fongique et d'essayer de voir le profil toxicologique de ces propagules fongique.

Pour se faire, une synthèse bibliographique représentant la première partie de notre étude a été réalisée afin de regrouper les informations essentielles sur le couscous artisanal et les éventuelles moisissures pouvant se développer lors de sa fabrication et son stockage.

Dans la seconde partie de notre étude, la méthodologie est représentée par les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivie des principaux résultats et leurs discussions.

L'étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives.

---

***Partie 1 : Synthèse  
Bibliographique***

---

**Chapitre I : Couscous traditionnel**

**Chapitre II : Flore fongique**

---

***Chapitre J: Couscous  
Traditionnel***

---

## **I. Le couscous**

### **I.1 .Généralités sur le couscous**

#### **I.1.1. Historique**

Le couscous est un plat d'Afrique du Nord, d'origine berbère, populaire dans de nombreux pays. C'est le symbole de l'identité alimentaire des populations du Maghreb. L'origine du mot couscous est moins sûre. Il vient de l'arabe classique KOUSKOUS et du berbère SEKSU, qui désigne à la fois la semoule de blé dur et le plat populaire dont elle est l'ingrédient de base (LOUAFI & KHEDIM, 2016). Il a plusieurs appellations au sein des familles algériennes à savoir « Taâm » qui signifie nourriture. Il y a de multiples manières d'accommoder ce plat. La partie invariante reste le grain qui en est la base. Pour le reste en général il s'accompagne d'un bouillon de viande - et de légumes appelé « Marka » (MARKAL, 2008). Le couscous est quelque chose de mystérieux par suite de la variété de ses préparations et de ses présentations (MOREAU & ARDRY, 1942). Du simple couscous au petit lait jusqu'au couscous royal, servi avec côtes de bœuf. Les différents écrits ont conclu que les Berbères utilisent depuis l'antiquité la cuisson à la vapeur et ils ont créé une nouvelle méthode de cuisson des céréales permettant de conserver les qualités nutritives (HUBERT, 1995).

#### **I.1.2. Etymologie du mot couscous**

L'origine berbère du mot couscous ne fait pratiquement pas de doute, même si sa formation exacte présente quelques obscurités. En effet, Le mot couscous provient du berbère « SEKSU », dialectes berbères algéro-marocains : Kabyle, chleuh, rifain. Les dialectes berbères sahariens (touareg, Ghadames) présentent une forme légèrement différente : keskesu (CHAKER, 1995 & BEJI-BECHEUR, 2008).

### **I.1.3. Définition de couscous**

Le couscous est un produit composé de semoule de blé dur qu'elle est ajoutée, pour les agglomérations, de l'eau potable et soumise à des traitements physiques (malaxage et roulage) et à des traitements thermiques (pré-cuisson et séchage). Aucun additif alimentaire ou aucun autre ingrédient n'entre dans la composition de ce produit sauf le sel éventuellement présent dans l'eau d'hydratation utilisée pour l'agglomération (AFNOR, 1991).

### **I.1.4. Les dérivés de couscous**

Le terme générique du couscous englobe deux produits dérivés :

- a) **Le couscous humide** : tel qu'il résulte de l'agglomération de quelques grains de semoule de blé dur par un procédé industriel ou artisanal et que l'on emploie tel quel.
- b) **Le couscous sec** : résultant des mêmes procédés de fabrication mais qui a subi un séchage avant son utilisation (SALSELET, 1991).

Les appellations différentes rencontrées en Afrique du Nord pour désigner le couscous, sont liées au mode de préparation et aux ingrédients qui y sont ajoutés lors de la préparation (FEILLET, 2000).

### **I.1.5. Place du couscous dans le régime alimentaire**

Malgré la richesse de la cuisine Algérienne en différentes préparations à base de semoule, le couscous demeure le plat le plus consommé et le plus apprécié. Ce plat traditionnel varie selon les régions et peut comprendre des légumes, de la viande ou du poisson. Les préparations sucrées sont aussi très appréciées. Au début des années 90, on assiste à un développement important, des salades fraîches à base des grains de couscous et des couscous dits (aromatisés), le fameux (salade de couscous) est devenu un plat très populaire (RABANY, 2010).

### I.1.6. Composition globale du couscous

Le *Codex alimentarius* (NORME DE CODEX 202-1995) indique que la teneur en humidité du couscous ne doit pas dépasser 13,5 %, avec une teneur en cendres au maximum de 1,1 %. Le couscous est riche en glucides (70%) mais pauvre en protéines (13%) et en lipides (2%). Il présente aussi un large éventail de minéraux (Mg, P, K, Ca, Mn, Fer, Cu, Zn) et de vitamines (B1, B2, B3, B5, B6, B9) (tableau 1) (ZIANE, 2014).

**Tableau 1** : Composition chimique mentionnée sur l'étiquetage de la semoule du couscous (ZIANE, 2014).

Protéine	12.8 %
Glucides	69.5 %
Lipides	2 %
Sodium	20 %
Eau	11.2 %
Méniraux	Mg,P ,K,Ca,Mn,Fer,Cu,Zn
Vitamines	B1,B2,B3,B5,B6,B9

### I.1.7. Procédés de fabrication du couscous

Selon le *Codex Alimentarius* standard N° 202 (1995), le couscous est le produit composé de semoule de blé dur (*Triticum durum*) dont les éléments sont agglomérés en ajoutant de l'eau potable et qui a été soumis à des traitements physiques tels que la cuisson et le séchage. Le couscous est préparé à partir d'un mélange de semoule grosse et de semoule fine. Il peut aussi être préparé à partir de la semoule dite « grosse-moyenne ». Les processus de fabrication de couscous artisanal diffèrent d'une région à une autre, d'un foyer à un autre, voir même d'une personne à une autre.

La fabrication traditionnelle du couscous exige l'emploi d'une main d'œuvre importante. Dans les traditions, c'est un groupe de femmes qui se rassemblaient et fabriquaient pendant plusieurs jours les quantités nécessaires à leur besoin annuel. Dans l'industrie, le couscous est fabriqué avec des machines pour être vendu en grandes quantités dans les supermarchés comme toutes les autres pâtes alimentaires. La préparation industrielle du couscous est la transposition sur une vaste échelle des méthodes artisanales (BOUCHEHAM, 2009).

### **I.1.7.1. Mode artisanal**

La préparation du couscous demeure globalement identique : le grain de couscous est fait à partir de la semoule, de l'eau et du sel, hydraté et roulé avec les mains en utilisant 5 types des tamis. Ensuite, il est précuit puis séché sur une ligne à l'air libre (DAGHER, 1991). Les différences concernent notamment les tamis utilisés (soit la nomination, soit les ouvertures de maille), l'ordre chronologique des étapes surtout les points d'addition de l'eau et de la semoule fine. A notre avis ces différences sont non seulement dues à la diversité du savoir-faire de chaque ménagère mais aussi à des défaillances dans la description du protocole de fabrication. Les tamis utilisés dans la fabrication du couscous ne sont pas des tamis normalisés mais des grilles en fibres métalliques d'ouvertures de mailles différentes. Un tamis de la même nomination peut correspondre à des ouvertures de mailles différentes. On peut trouver donc Chez la même ménagère par exemple : sekkat mehloul (c'est-à-dire d'ouverture de maille large) et sekkat makfoul (d'ouverture de maille plus serrée).

Les 5 types des tamis utilisés dans la fabrication du couscous sont :

- ✚ **Bouzawedj** : d'ouverture de maille allant de 2860 $\mu$ m jusqu'à 3300  $\mu$ m ;
- ✚ **Sekkat 16** : d'ouverture de maille de 1600 $\mu$ m à 2500 $\mu$ m ;
- ✚ **Sekkat 14** : d'ouverture de maille de 1130 $\mu$ m à 1400 $\mu$ m ;
- ✚ **Reffad** : d'ouverture de maille de 1000 $\mu$ m à 1100 $\mu$ m ;
- ✚ **Sdid** : d'ouverture de maille de 500 $\mu$ m à 580 $\mu$ m.

En effet, les filles qui s'initient à la technique de fabrication du couscous dès leur jeune âge apprendront aussi à connaître les différents tamis et de choisir l'ouverture de maille qui convient pour chaque étape de fabrication. Les traitements artisanaux se distinguent uniquement par la nature du roulage et de précuisons par rapport aux traitements industriels. Ils sont mieux adaptés à la fabrication d'un couscous de qualité (YOUSFI, 2002).

Pour les étapes de fabrication, nous nous attacherons à décrire en priorité les points principaux de diagramme de fabrication, et nous essaierons d'indiquer également leurs principales différences.

### a. Préparation et classification de la semoule

C'est une opération de classement et de purification. La semoule est passée au tamis qui sépare la semoule fine. La grosse semoule s'accumule au fond du tamis tandis que les éléments les plus légers se regroupent à la surface et au centre, et forment "l'œil" qui est enlevé à la main (GOBERT, 1940). Le tamis utilisé pour cette opération est le tamis « Sdid ». C'est le tamis qui a l'ouverture de maille la plus fine dans la gamme des tamis utilisée pour la fabrication traditionnelle du couscous.

### b. Roulage

Il est basé sur l'agglomération des particules de semoule avec de l'eau, les grains formés sont plus ou moins arrondis, la taille de ces granulés varie d'une région à une autre.

#### ✚ Première étape « Hydratation »

L'hydratation de la semoule est une étape délicate, qui est nécessaire pour obtenir un mouillage homogène de la semoule en contrôlant le volume de l'eau ajoutée. La grosse semoule est mise dans un grand plat en bois, la guessâa. Cette semoule est arrosée d'eau salée et remuée des doigts à demi fléchis, des deux mains, formant râteau pour répartir également l'humidité dans la masse. Une désagrégation des grumeaux ayant pris naissance au cours de l'hydratation- malaxage de la semoule, (MOREAU & ARDRY, 1942 ; BAHCHACHI, 2002 ; BENATALLAH et al., 2006).

### **Deuxième étape « Nucléation »**

Cette étape est caractérisée par l'addition tantôt de l'eau, tantôt de la semoule fine. C'est un grossissement des grains formés pendant la première étape. L'eau est pour humidifier les grains et faciliter l'adhésion de la semoule fine. A ce stade la rouleuse utilise le plat des mains et avec un mouvement répété d'essuie-glace, applique une certaine force sur les particules qu'elle roule pour avoir des gains compacts et de forme bien ronde. Les grains de couscous ainsi formés sont séparés par le tamis « Bouzawedj » et mise à part pour éviter qu'ils prennent des tailles excessives.

### **Troisième étape « Façonner »**

Les grains obtenus (le couscous) sont passés au « sekkat 16 » puis au « reffad » pour calibrer les grains, briser ceux qui sont trop grands ou qui se sont agglutinés. Pour réduire les grumeaux qui peuvent se former au fond du tamis, on y jette un peu de semoule fine et l'on roule sous la paume de la main. Pendant cette étape seule la semoule fine est ajoutée.

### **Quatrième étape « Finition »**

Une dernière étape correspond à une opération de laminage des grains de couscous humides, constitue le point le plus intéressant dans la région de Naâma, appelée « Lbride » ou le couscous obtenu est remis dans la guessâa à nouveau en ajoutant un peu d'eau puis la farine de blé ou le féculé de maïs. L'eau est pour humidifier les grains et faciliter l'adhésion de la farine de blé ou le féculé de maïs. L'utilisation de farine de blé ou de féculé de maïs vise à homogénéiser et à améliorer encore la texture des grains de couscous en leur donnant une forme plus sphérique, une surface plus lisse et des grains bien individualisés.

A ce stade les ménagères utilisent toujours le plat des mains et avec un mouvement circulaire répété, appliquent une certaine force sur les particules qu'elles roulent pour avoir des gains compacts et de forme bien ronde. C'est une « finition » des grains de couscous formés. Les tamis utilisés dans cette étape sont « Sekkat 14 » puis « Reffad ».

### **c. Pré-cuisson du couscous**

Un traitement, avant séchage du produit, à la vapeur pendant environ 15 min dans un couscoussier semble utile pour permettre le maintien la forme du couscous roulé. L'étape de cuisson à la vapeur contribue à l'amélioration de la digestibilité et conserve les formes des grains de couscous en gélatisant son amidon. Le couscous ainsi tamisé est mis dans un couscoussier constitué de deux parties. Un récipient inférieur contenant de l'eau de l'ébullition surmonté par un autre récipient percé de nombreux trous pour faciliter le passage de la vapeur et lequel sont placés les produits à cuire (**BENATALLAH et al., 2006**). Selon **GUEZLENE (1993)**, la pré-cuisson constitue le traitement hydrothermique obligatoire que l'on impose au couscous juste après l'avoir mis en forme pour gélatiser l'amidon (intérêt nutritionnel) et éviter l'agglomération des particules de couscous au cours de la réhydratation.

La fin de la précuisson s'évalue principalement par l'apparition de la vapeur à la surface du couscous, le changement d'aspect de couleur (qui vire au jaune ambré), et l'attendrissement du couscous particules. Ces caractéristiques sont principalement visibles après les 15 premières minutes de précuisson. De plus, le cassage manuel de gâteau du couscous formé à la fin de cuisson doit être effectué immédiatement à l'aide d'un tamis « sekkat » pour obtenir une bonne séparation des grains, ce qui permet au couscous précuit d'être prêt pour le séchage.

### **d. Séchage**

En vue d'assurer sa conservation, le séchage constitue la dernière opération de la fabrication du couscous. Il consiste à un séchage par étalement sur un tissu propre en couche mince à l'air libre soit directement au soleil soit à l'ombre. Il semble que le séchage puisse se faire exclusivement à l'ombre, ce qui réduit l'exposition du couscous précuit au soleil et aux températures élevées. Le choix de cette méthode de séchage s'explique par la préservation de la qualité nutritionnelle et organoleptique du couscous séché. Pendant ce temps, certains fabricants supposent que le séchage de l'ombre prend beaucoup de temps et que le couscous est plus exposé aux altérations et aux contaminations. Par conséquent, le séchage au soleil semble être plus rapide et plus efficace pour une réduction maximale de l'humidité du couscous mais il peut entraîner un brunissement et une diminution du goût.

Selon l'enquête de **YOUSFI (2002)** et de **DEROUICHE (2003)** la majorité des ménagères préfèrent le séchage à l'ombre pour obtenir un produit propre et plus clair. A la fin de l'étape de séchage, le produit final est dénommé «couscous sec», est repris au tamis «sdid» pour être nettoyé de semoule, et ensuite classé en mesfouf, couscous fin et couscous moyen et qui sera conditionné dans des sacs en plastique et conservé dans un endroit sec et à température ambiante.

Le couscous est généralement emballé dans des paquets en plastique. Ce type d'emballage présente l'inconvénient de concentrer par condensation l'humidité sur les parois des sachets en plastique. Ces points de forte humidité peuvent permettre une croissance des micro-organismes présents, pour cela pour augmenter la durée de conservation ou pour améliorer la qualité organoleptique du couscous, les femmes au foyer ajoutent d'autres ingrédients tels que le poivre noir ou rouge, la feuille de laurier, le giroflier, ou l'halite (sel gemme) au couscous séché.

## **I.1.8. Notion de qualité de couscous**

### **I .1.8.1. Qualité nutritionnelle**

La qualité nutritionnelle d'un aliment dépend de ses caractéristiques propres, c'est-à-dire de sa composition mais également des conditions dans lesquelles il est préparé et consommé (**DEROUICHE, 2003**). Par ailleurs, le couscous fournit une part importante de l'apport énergétique de la ration (350 kcal / 100g de ms) vue sa richesse en glucides (75g/100g) (**DAGHER, 1991**).

### **I .1.8.2. Qualité hygiénique**

Selon le codex alimentarius (**NORME DE CODEX 202-1995**), le couscous doit être exempt de microorganismes susceptibles de se développer dans le produit dans des conditions normales d'entreposage et ne doit contenir aucune substance provenant de micro-organismes en quantités pouvant présenter un risque pour la santé.

### **I .1.8.3. Qualité organoleptique**

La qualité organoleptique du couscous regroupe la qualité commerciale qui concerne l'aspect du couscous (couleur, granulométrie, forme des particules, etc) et la qualité culinaire qui représente le comportement des grains du couscous au cours de la cuisson (gonflement, prise en masse, délitescence, fermeté, etc.). Une consistance qui n'est pas trop ferme, un aspect moelleux, une facilité à la mastication. Selon **GUEZLANE (1993)**, le couscous de "bonne qualité" est un produit jaune ambré, d'une capacité d'absorption d'eau élevée, ses grains restent individualisés et fermes une fois hydratés.

### **I .1.8.4. Qualité culinaire**

La qualité culinaire d'un produit alimentaire correspond au comportement de l'aliment pendant et après sa cuisson (**YETTOU, 1998**). Par ailleurs, selon l'auteur, la cuisson des produits céréaliers a pour but de gélatiniser l'amidon pour le rendre hydrophile, de modifier l'aspect textural des produits de manière à leur conférer les caractéristiques souhaitées et d'élever la température des produits. **BOUDREAU et al., (1992)** ont souligné que la qualité culinaire du couscous est appréciée par sa tenue à la cuisson telle que reflétée par l'état de surface qui doit être non collant et par la délitescence qui traduit la désintégration des particules de couscous.

---

## ***Chapitre JJ : Flore fongique***

---

## **II. Les moisissures**

### **II.1. Généralités**

Les moisissures sont des champignons microscopiques ubiquistes hétérotrophes à croissance filamenteuse qui regroupent des milliers d'espèces. Elles sont aérobies strictes, peu exigeantes possédant un potentiel élevé de sécrétion d'enzymes exocellulaires (IOM., 2000 ; NYC, 2000 ; PITT et al., 2000) .

Le terme familier de « moisissures » fait généralement référence à leur texture laineuse, poudreuse ou cotonneuse (MARIE-ALIX et al., 2002) . Certains de ces microorganismes peuvent être bénéfiques et très utiles à l'homme et sont considérés comme des éléments importants dans plusieurs procédés de fermentations. On peut citer, *Penicillium roquefortii* et *Penicillium camembertii* qui sont utilisés pour la production de fromages. D'autres moisissures sont utilisées pour la production d'enzymes telles les protéases produites par *Aspergillus niger*, de médicaments (production de pénicilline par *Penicillium chrysogenum*). *Fusarium graminearum* est utilisé pour produire une mycoprotéine vendue comme aliment protéique d'origine végétale (JARD, 2009). A côté de ces effets bénéfiques, la présence de certaines autres moisissures sur plusieurs produits d'origine animale ou végétale peut avoir un effet négatif sur la qualité des aliments ainsi que sur la santé humaine et animale (BEJAOU, 2005). Le côté inesthétique de la contamination fongique fut longtemps considéré comme le préjudice majeur (BERTHIER & VALLA., 1998), mais des diagnostics confirmèrent que le développement des moisissures nuisibles sur les aliments pouvait être associé à une synthèse des substances toxiques telles que les mycotoxines.

### **II.2. Phylogénie des champignons**

Dans l'arbre du vivant, ils constituent un groupe à part au sein des eucaryotes. Classiquement, les champignons étaient regroupés dans un règne distinct, celui des eumycètes (figure 01) ou cinquième règne (KENDRICK ,2001). Les classifications les plus récentes font apparaître les champignons dans le règne unique des eucaryotes et plus précisément dans le groupe des Opisthokonta (ADL et al., 2005 ; SIMPSON & ROGER, 2002).



### **II.2.1. Mastigomycotina**

Cette division comprend les Oomycètes et les Chytridiomycètes, qui sont très rarement impliqués en pathologie humaine (CHABASSE et al., 1999 ; CHABASSE et al., 2002). Ils sont caractérisés par la présence des spores asexuées munies de flagelles (un pour Chytridiomycètes et deux pour Oomycètes). Aujourd'hui la nomenclature ne retient dans le règne des champignons que les Chytridiomycètes, en raison de la présence de chitine dans leur paroi et de leur nutrition qui se fait par absorption (CHABASSE et al., 2002).

### **II.2.2. Zygomycotina**

Cette division qui est caractérisée par la production de spores sexuées appelées zygospores, comporte de nombreux pathogènes : les mucorales et les Entomophthorales. Ils sont considérés avec les Mastigomycotina comme des champignons inférieurs, deux caractéristiques les différencient des autres champignons dits « supérieurs » (Ascomycotina et Basidiomycotina) : le mycélium végétatif des zygomycètes est plus large, souvent dilaté et peu cloisonné et une reproduction asexuée endogène (CHABASSE et al., 2002 ; SPICER, 2003).

### **II.2.3. Ascomycotina**

Ce groupe comprend un grand nombre d'espèces pathogènes pour l'homme et les animaux (levures ascospores ou champignons filamenteux comme les *Aspergillus*). L'appareil végétatif est un thalle à mycélium septé. Les Ascomycètes présentent une structure caractéristique appelée asque, formée au cours de la reproduction sexuée, qui renferme un nombre défini d'ascospores. Ce sporocyste, globuleux, cylindrique ou plus ou moins claviforme, avec une paroi simple ou double représente un important critère d'identification (BOTTON et al., 1990 ; SUTTON et al., 1998). Certaines espèces peuvent entraîner des altérations aux denrées alimentaires et élaborer des toxines ; d'autres interviennent dans des processus de fermentations des industries agro-alimentaires (CRISTINA, 2007).

#### **II.2.4. Basidiomycotina**

La plupart des basidiomycètes sont des saprophytes de l'environnement ou parfois des pathogènes de plantes mais ils sont peu impliqués en pathologie humaine. Ils sont caractérisés par la production des spores sexuées (appelé basidiospores) formés par bourgeonnement à l'apex de cellules allongées, les basides. Les basidiomycètes ont un thalle cloisonné avec présence de « boucles » au niveau des cloisons (CHABASSE et al., 2002).

#### **II.2.5. Deuteromycotina**

Appelé aussi *Fungi imperfecti* ou champignons imparfaits. Sont réunissent le plus grand nombre d'espèces pathogène pour l'homme et les animaux, ce groupe très hétérogène. Ces espèces caractérisées par une reproduction végétative réalisée par des spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium (CHABASSE et al., 2002 ; TABUC, 2007 ; CHABASSE, 2008).

### **II.3. Cycle de vie des moisissures**

Les moisissures se propagent sur différents substrats, par l'intermédiaire de spores qui sont des corpuscules de 2 à 250 µm de diamètre. Les spores sont disséminées principalement par l'air ambiant ou par le contact de l'homme ou les animaux. Lorsqu'elles se déposent sur un substrat organique, elles germent si les conditions d'humidité et de température y sont favorables (CHABASSE et al., 1999). La spore germera alors et donnera naissance à un premier filament non différencié, appelé hyphe, qui s'allongera pour former un ensemble appelé mycélium. Cet ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, constitue le thalle des champignons. En présence de conditions favorables à la sporulation, le mycélium donnera naissance à des structures plus spécialisées, qui produiront des spores asexuées (conidies) ou, plus rarement, des spores sexuées (KENDRICK, 1999).

Donc, le cycle de vie des champignons comprend deux types de reproduction :

✚ **Reproduction asexuée** : au cours de laquelle une spore ou un fragment de mycélium croît et se développe sur un substrat. Le mycélium émet des conidiophores à l'extrémité desquels des conidies sont émises puis disséminées. Chez les moisissures, plusieurs types de spores de reproduction végétative peuvent être produites : arthrospores (issues de la septation de la paroi cellulaire), sporangiospores (formées dans un sporange à l'extrémité d'un hyphes), conidiospores (produites à la périphérie des hyphes), blastospores (formées par un bourgeonnement de surface d'une cellule végétative) (BRANGER *et al.*, 2007).

✚ **Reproduction sexuée** : implique la rencontre de deux mycéliums de signes sexuels opposés. Un mycélium à  $n$  chromosomes va rencontrer un autre mycélium à polarité complémentaire pour donner lieu à la fusion des cytoplasmes, ce qui engendre un nouveau mycélium à  $2n$  chromosomes. Les cycles de vie diffèrent d'un champignon à un autre selon leur type de spores. Les spores pénètrent dans par voie chimique (production d'enzymes, de toxines) ou par voie mécanique en exerçant une pression sur le substrat (CHABASSE *et al.*, 1999).

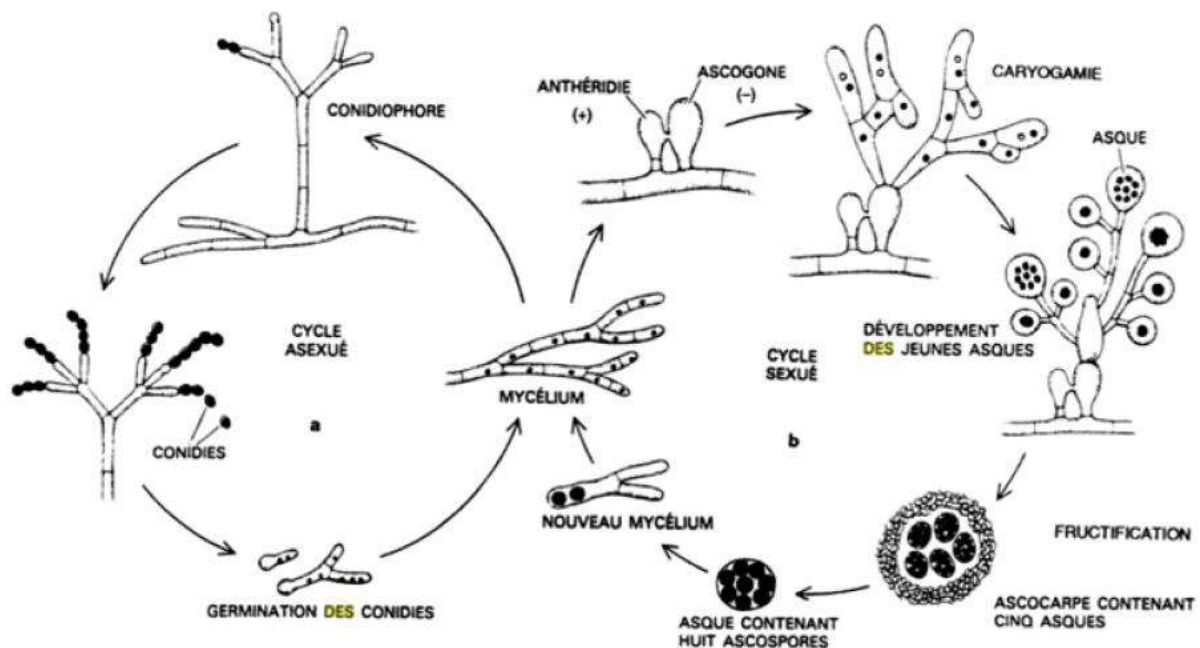


Figure 2 : Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure (LECELLIER, 2013).





## **II.4. Critères d'identification**

L'identification des très nombreuses espèces fongiques susceptibles de coloniser les aliments et d'en altérer les qualités, voire de produire des mycotoxines est une étape indispensable à l'évaluation du risque mycotoxique (CRISTINA, 2007).

### **II.4.1. Identification morphologique**

L'identification d'une espèce fongique repose sur l'analyse de critères cultureux (température et vitesse de croissance, milieux favorables) et morphologiques. Ces derniers sont constitués des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopique (aspect du mycélium, des spores, des phialides, des conidiophores,...) (CAHAGNIER & RICHARD-MOLARD, 1998).

### **II.4.2. Identification macroscopique**

-  **Aspect des colonies** : représente un critère d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses ; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l'absence ou pauvreté du mycélium aérien).
-  **Relief des colonies** : il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).
-  **Taille des colonies** : Elle peut être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*).
-  **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 bleue, 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*).

✚ **Structures de fructification** : la présence ou l'absence, au centre de la colonie, de structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) est aussi un élément important de diagnose (**BOTTON et al., 1990**).

### **II.4.3. Identification microscopique**

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation au Bleu Cotton. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose (**CAHAGNIER & RICHARD-MOLLARD, 1998**).

✚ **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 :

a) **Thalle siphonné**, constitué d'éléments tubulaires peu ou pas ramifié, de diamètre large et irrégulier (5-15  $\mu\text{m}$ ), non cloisonné est caractéristique des Zygomycètes ;

b) **Thalle septé ou cloisonné**, constitué de filaments de diamètre étroit (2-5  $\mu\text{m}$ ) et régulier, divisé par des cloisons en articles uni ou pluricellulaires est caractéristique des Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes (**BADILLET et al., 1987**).

✚ **Couleur des hyphes** : La paroi des hyphes peut être mélanisée (ou foncée). Les Hyphomycètes dont les filaments restent claires (ou hyalins) sont appelées Mucédinées ou hyalohyphomycète. En revanche, les Hyphomycètes qui ont une paroi pigmentée ou foncée seront appelées Dématies ou phaeohyphomycètes.

✚ **Spores** : Les spores qui sont le produit de la reproduction asexuée peuvent être endogènes ou exogènes :

a) **Spores endogènes (endospores)** sont produites à l'intérieur d'un sac fermé (sporange), porté par un filament spécialisé (sporangiophore). Ces spores, que l'on observe par exemple chez les *Mucorales*, sont libérées par le déchirement de la paroi de sporange à maturité.

b) **Spores exogènes (conidies)**, retrouvées chez les Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes, sont formés par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisée (cellule conidiogène). L'examen des spores et de leur organisation est une étape importante de l'identification fongique (**CAMPBELL et al., 1996**).

✚ **Aspect des spores** : D'après la forme et les modalités de septation (**CRISTINA, 2007**), on distingue 5 groupes de spores :

a) **Amérospores** : spores unicellulaires de petite taille (*Penicillium*, *Aspergillus*).

b) **Didymospores** : spores bicellulaires (*Trichothecium*).

c) **Phragmospores** : spores pluricellulaires à cloisons transversales (*Curvularia*).

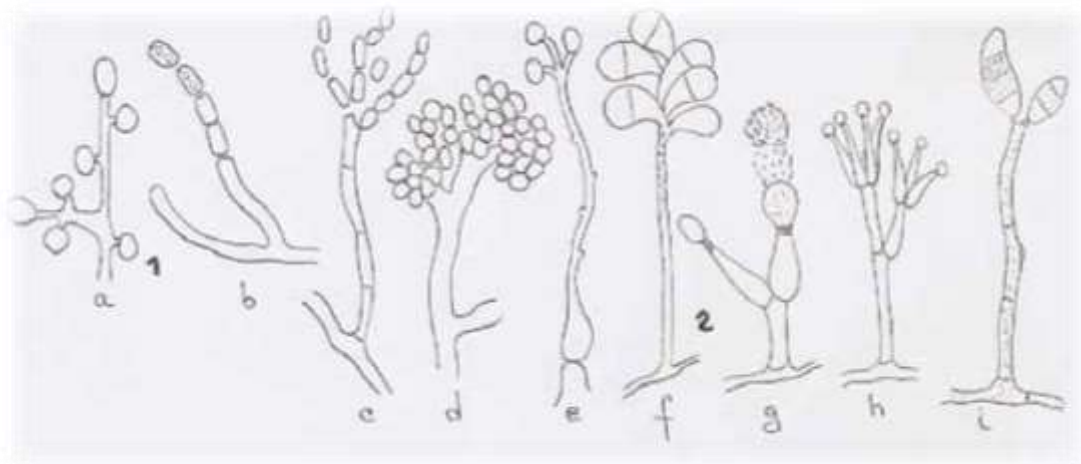
d) **Dictyospores** : spores pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales (*Alternaria*).

e) **Scolécospores** : spores étroites, effilées, souvent incurvées et cloisonnées transversalement (*Fusarium*).

✚ **Présence de chlamydo-spores** : Les chlamydo-spores sont des éléments de résistance qui sont formés à partir du filament mycélien ou à son extrémité. Elles ont une paroi épaisse. Contrairement aux autres spores, les chlamydo-spores ne possèdent pas de mécanismes de libération permettant leur dissémination à maturité. Bien que peu spécifiques puisqu'elles se retrouvent pratiquement chez toutes les espèces lorsque les conditions sont défavorables, elles peuvent cependant constituer une aide dans l'identification lorsqu'elles apparaissent précocement (comme chez certaines espèces de *Fusarium*) (**CRISTINA, 2007**).

✚ **Modes de formation des conidies :**

- a) **Mode thallique** : la formation des spores s'effectue à partir d'éléments préexistants du thalle.
- b) **Mode blastique** : les spores sont formées par bourgeonnement à partir de cellules conidiogènes différenciées ou pas, puis une cloison se forme à l'émergence de bourgeon et la cellule fille (la spore) se sépare de la cellule mère.

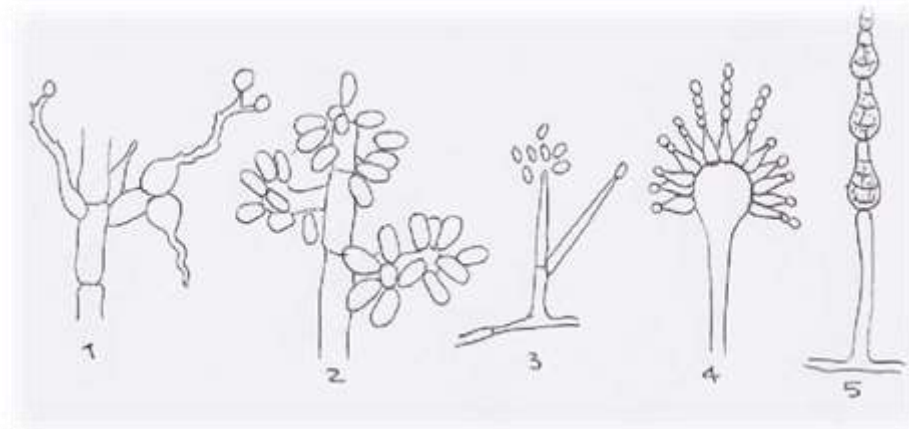


**Figure 3 : Modes de formation des conidies (BOTTON et al., 1990).**

1. Formation thallique : a : solitaire (*Chrysogenum*), b : arthritique (*Geotrichum*)
2. Formation blastique : c : acropète (*Cladosporium*), d : synchrone (*Botrytis*), e : sympodial (*Beauveria*), f : regressif (*Trichothecium*), g : annelidique (*Scopulariopsis*), h : phialidique (*Penicillium*), i : poric (*Curvularia*).

✚ **Mode de groupement des conidies** : Les conidies sont, en général, regroupées à l'extrémité de la cellule conidiogène. L'organisation de ce regroupement est aussi un facteur d'identification. Les principaux types sont :

- 1) **Grappes** , ex : *Beauveria* , *Trichothecium*
- 2) **Masse** , ex : *Botrytis*
- 3) **Têtes ou balles** , ex : *Acremonium*, *Trichoderma*
- 4) **Chaînes basipètes** , ex. : *Scopulariopsis* , *Aspergillus* , *Penicillium*
- 5) **Chaînes acropètes** , ex : *Cladosporium*, *Alternaria* (**Figure 4**) (BOTTON et al., 1990).



**Figure 4 :** Modes de groupement des conidies des champignon filamenteux(CRISTINA,2007)  
1. grappes (*Beauveria*), 2. masses (*Botrytis*), 3. têtes (*Acremonium*),  
4. chaînes basipètes (*Aspergillus*), 5. chaînes acropètes (*Alternaria*).

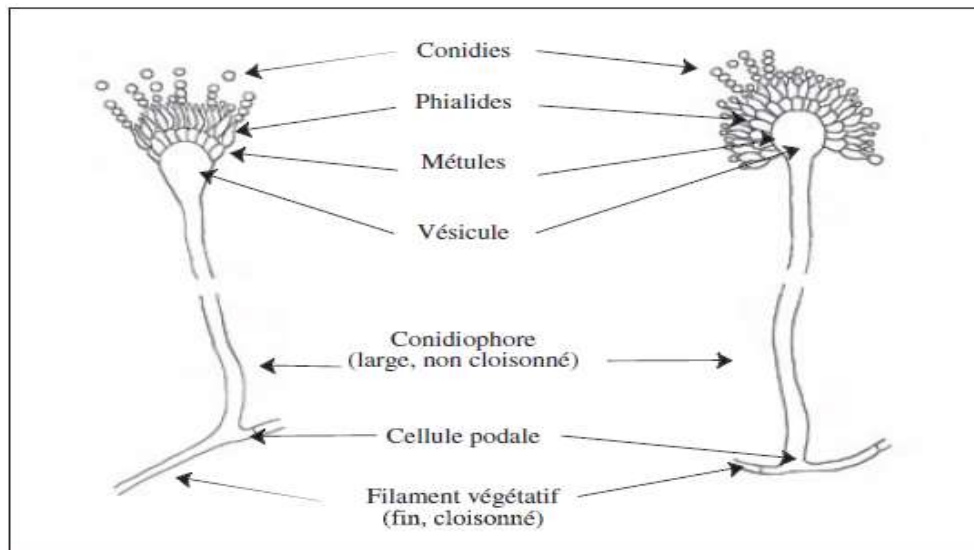
## II.5. Principaux genres fongiques

Les genres les plus importants de point de vue économique et médical sont les *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium* qui représentent les contaminants les plus fréquents des aliments. On les retrouve principalement dans les céréales, mais aussi dans de nombreux autres produits végétaux et d'origine animale (CRISTINA, 2007).

### II.5.1. Le genre *Aspergillus*

C'est un genre appartenant à la classe des Ascomycètes. Le thalle, hyalin ou coloré, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule (Figure 5) (RAPER & FENNELL, 1965). Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches (RAPER et FENNELL, 1965 ; BOTTON et al., 1990 ;ROQUEBERT, 1998) .

Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (CASTEGNARO & PFOHL-LESZKOWICZ, 2002) ; ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. Certaines espèces peuvent être directement pathogènes pour l'homme et les animaux en étant capable d'envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses (*Aspergillus fumigatus* responsable de mycoses pulmonaires ; *Aspergillus niger* responsable d'aspergilliose du conduit auditif) (MORIN, 1994) .



**Figure 5 : Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (CRISTINA, 2007).**

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont aussi connues pour leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies animales et humaines. Enfin, certaines espèces d'*Aspergillus* sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie des produits biotechnologiques notamment pour la production d'enzymes, d'acides organiques (BOTTON et al., 1990) .

### **II.5.1.1. Morphologie microscopique**

Les *Aspergillus* sont caractérisés par un appareil végétatif (thalle) formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. Sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés (conidiophores) qui se terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule (têtes unisériées) ou portées par des petits structures insérés sur la vésicule (têtes bisériées) nommées métules ou Stérigmates (**BADILLET et al., 1987 ; RAPER & FENNELL, 1965**).

Les conidies, sèches, disposées en chaînes divergentes ou associées en colonnes compactes, sont toujours unicellulaires, globuleuses, sub-globuleuses ou elliptiques, lisses ou ornementées, hyalines ou pigmentées en jaune, vert, brun ou noir.

L'ensemble vésicule ± métules + phialides + conidies constitue la tête aspergillaire caractéristique du genre *Aspergillus*.

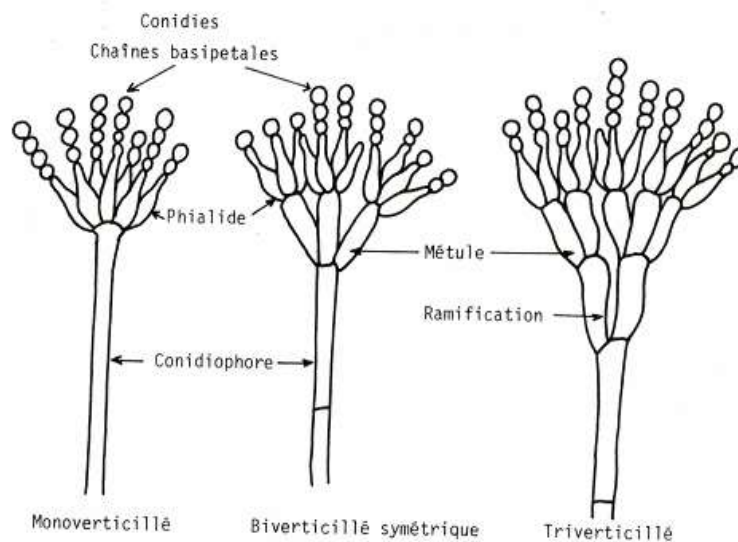
### **II.5.2. Le Genre *Penicillium***

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des Ascomycètes. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (**PITT, 1988**). Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très communs dans l'environnement, polyphages, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition, le compost, les céréales.

Les espèces du genre *Penicillium* se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus*, à des températures plus basses. Il s'agit de contaminants fréquents des régions tempérées (**CRISTINA, 2007**).

### II.5.2. 1. Morphologie microscopique

Au point de vue morphologique *les Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés (Figure 6) (CRISTINA, 2007).



**Figure 6 :** Caractères morphologiques des *Penicillium* (CRISTINA, 2007).

Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Les phialides, ampulliformes ou lancéolées, sont serrées les unes contre les autres donnant à l'ensemble un aspect de pinceau. Les phialides (cellules conidiogènes) donnent naissance à des conidies disposées en longues chaînes. Les conidies sont des spores unicellulaires, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines, grisâtres ou verdâtres (BOTTON *et al.*, 1990). Ils sont utilisés dans l'industrie, notamment dans l'industrie agro-alimentaire (affinage de fromage et du saucisson) et pharmaceutique. Par contre, rares sont les espèces incriminées en pathologie humaine.

## **II.6. contamination des aliments par les moisissures**

### **II.6.1. Condition de développement des moisissures**

Les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes : elles peuvent se développer seulement si le milieu lui apporte les éléments nutritifs nécessaires. La paroi rigide de la cellule fongique l'empêche de phagocytter les substances nutritives complexes du milieu ; la moisissure est obligée les transformer préalablement en molécules simples absorbables. Ceci est rendu possible grâce à des dépolymérase qui sont excrétées dans l'environnement. Sous leurs actions les polymères complexes sont transformés en molécules simples (monosaccharides, acides gras, acides aminés). Comme tout micro-organisme, la croissance fongique est aussi dépendante d'un certain nombre de paramètres intrinsèques et extrinsèques du milieu (CRISTINA, 2007).

#### **II.6.1.1. Activité en eau (Aw)**

L'Aw d'un aliment dépend de sa composition chimique, c'est-à-dire de la quantité d'eau retenue par les sels, sucres et protéines, ainsi que de ses caractéristiques physiques (porosité, polarité). Ce paramètre peut varier de 0 (pour les substrats dans lesquels toute l'eau est retenue) à 1 (pour l'eau pure).

Les moisissures sont, de façon schématique, plus xérotolérantes que les autres microorganismes (bactéries, levures). La plupart des moisissures se développent bien pour des activités en eau voisines de 0,85. Par conséquent, beaucoup de produits dont l'activité hydrique ne permet pas la croissance bactérienne peuvent être colonisés par les moisissures. Les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables de se développer à des Aw voisines de 0,7 à 25°C ; elles peuvent donc se développer dans les aliments pauvres en eau comme les céréales au cours de stockage, les fruits secs, les produits dont l'activité hydrique a été réduite (produits de salaison sèche, confitures,...) (CASTEGNARO, PFOHL-LESZKOWICZ, 2002). Par comparaison, les *Fusarium* ne peuvent pas se développer que pour des Aw supérieurs à 0,9. Il s'agit donc d'espèces se développant au champ, sur les plantes vivantes (CASTEGNARO, PFOHL-LESZKOWICZ, 2002).

### **II.6.1.2. Ph**

La plupart des micromycètes préfèrent un environnement légèrement acide, leur croissance étant normalement optimale entre 5 et 6. Leur tolérance est importante vis-à-vis du Ph. Elles se multiplient souvent dans une gamme étendue de pH allant de 3 à 8, mais variable selon les espèces. Il y a cependant des limites à leur tolérance et les variations drastiques du pH peuvent les endommager (LAHOUAR, 2016).

### **II.6.1.3. Présence d'oxygène**

La plupart des moisissures rencontrées dans les aliments sont considérées comme aérobies strictes. Cependant certaines espèces appelées microaérophiles ou tolérantes au confinement (BOUDRA, 2002). Certaines espèces de moisissures peuvent se développer sur les denrées alimentaires dans une atmosphère pauvre en O<sub>2</sub>. C'est le cas d'*Aspergillus flavus* qui tolère des pressions très faibles en O<sub>2</sub>. Par contre, pour d'autres moisissures, comme *Fusarium proliferatum*, dépendants de l'oxygène, la biomasse fongique se trouve considérablement réduite en absence d'O<sub>2</sub> (KELLER et al., 1997). Certaines espèces peuvent se développer en anaérobiose : c'est le cas de *Byssochlamys* qui contaminent les jus de fruits conservés par pasteurisation (PFOHL-LESZKOWICZ, 2001).

### **II.6.1.4. Température**

Les moisissures sont généralement mésophiles : la croissance des hyphes est optimale à 20- 25°C. En dehors de cet intervalle de température les hyphes se développent plus lentement. Les spores de moisissures mésophiles ne peuvent pas germer à une température inférieure à 5°C, mais elles peuvent résister longtemps aux basses températures allant jusqu'à -20°C (PFOHL-LESZKOWICZ, 2001). Il existe aussi des espèces psychrophiles, comme, par exemple, *Penicillium expansum*, *P. verrucosum*, *P. viridicatum*. Elles peuvent se développer, lentement, à des températures basses, inférieures à 4°C. Ces espèces sont responsables des altérations d'aliments conservés au froid (PFOHL-LESZKOWICZ, 2001).

Les espèces thermophiles sont plus rares. C'est le cas de *Aspergillus flavus*. La température optimale pour sa croissance est comprise entre 25 et 35°C, mais cette moisissure peut se développer bien dans un intervalle plus large (15-45°C) et parfois jusqu'à 50°C (CASTEGNARO & PFOHL-LESZKOWICZ, 2002).

Ces caractéristiques physiologiques (besoin d'une faible teneur en eau et développement possible dans un large intervalle de température) font que cette espèce très fréquemment impliquée dans la détérioration des matières premières et des aliments (CASTEGNARO & PFOHL-LESZKOWICZ, 2002). Il faut souligner que les moisissures sont, pour la très grande majorité, sensibles à une élévation de la température et un traitement de cuisson ou de pasteurisation permet le plus souvent de détruire les mycéliums ainsi que les spores fongiques (PFOHL-LESZKOWICZ, 2001).

#### **II.6.1.5. Lumière**

La lumière favorise la maturation des conidies et la germination des spores. Les moisissures sont, généralement, indifférentes à l'action de lumière. Toutefois, certaines espèces (les *Tuberales*) ne supportent pas la lumière et se développent dans des endroits obscurs (grottes) ; Inversement, d'autres se développent sur les versants de montagne ensoleillés en permanence ou dans les régions désertiques (les *Discomycetes*) (PFOHL-LESZKOWICZ, 2001).

#### **II.6.2. Contamination des aliments par les moisissures**

Les moisissures sont des microorganismes ubiquistes qui peuvent se développer sur une grande variété de substrats. Les espèces de moisissures les plus fréquentes retrouvées dans les aliments appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Ces moisissures peuvent proliférer et produire des mycotoxines avant ou après la récolte, pendant le stockage, le transport, ou la transformation des matières premières et des aliments (CRISTINA, 2007).

### **II.6.2.1. Les céréales**

Les céréales sont sans doute les denrées alimentaires les plus fréquemment contaminées par les moisissures. La contamination peut avoir lieu avant la récolte, au champ, au cours du séchage, du stockage et après transformation des graines. Si de très nombreuses études sont disponibles concernant la contamination mycotoxique des céréales, les enquêtes sur la contamination fongique de ces matières premières sont plus rares. De manière schématique, elles mettent en évidence une relation entre la flore fongique et les conditions climatiques pendant le développement et/ou le stockage des grains (CRISTINA, 2007).

### **II.6.2.2. Produits alimentaires à base de céréales**

Les céréales représentent une matière première importante pour l'alimentation. Elles sont transformées en farines à partir desquelles sont élaborés de nombreux aliments finis comme produits issus de la panification, de la biscuiterie, les céréales pour le petit déjeuner, les gâteaux... Ces produits, comme les aliments composés pour les animaux, peuvent être contaminés soit par les spores qui se trouvent initialement dans les céréales, soit plus tard, pendant le stockage. Les principales espèces de moisissures qui les contaminent appartiennent toujours aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (CRISTINA, 2007).

Les données concernant la contamination fongique de produits alimentaires à base de céréales ne sont pas nombreuses. En effet, les recherches sont, en général, orientées directement vers l'analyse de la présence de mycotoxines dans ces produits. De plus, la nature des procédés de fabrication implique souvent la réalisation de traitements thermiques suffisants pour détruire les spores fongiques présentes. Il peut néanmoins se poser la question de recontamination de ces produits après le traitement thermique et le développement des moisissures pendant le stockage (CRISTINA, 2007).

## **II.7. Les mycotoxines**

Nous avons énoncé précédemment la définition des moisissures, leurs caractéristiques, identifications. Il arrive parfois que ces moisissures produisent des métabolites secondaires dont certains, les mycotoxines, faisant partie des contaminants alimentaires les plus significatifs en termes d'impact sur la santé publique, la sécurité alimentaire et l'économie de nombreux pays. Elles sont produites sur une large variété de denrées alimentaires avant, pendant et après récolte (**KHALDI, 2017**).

Les principales denrées alimentaires contaminées par ces mycotoxines sont les céréales (blé, orge, maïs, riz, seigle, avoine, orge), les oléagineux (arachide, soja, tournesol), les fruits (agrumes, bananes, pommes, raisins), les fruits secs, le café, le cacao, les épices, les haricots et les petits pois. Les mycotoxines peuvent être également présentes dans la bière et le vin produits à partir de céréales ou de raisins contaminés. Elles peuvent aussi entrer dans la chaîne alimentaire humaine par consommation de produits carnés, les oeufs, le lait et le fromage (**TURNER et al., 2009**). Une même espèce fongique peut produire plusieurs sortes de mycotoxines selon les conditions de culture et une même mycotoxine peut être produite par plusieurs espèces fongiques différentes.

### **II.7.1. Les mycotoxines dans la chaîne alimentaire**

Les aliments contaminés par les mycotoxines peuvent être classés en deux groupes : produits d'origine végétale et ceux d'origine animale (**GALTIER et al., 2006**). Parmi les aliments d'origine végétale, les céréales et leurs dérivés comme le café et les épices qui présentent le plus grand facteur de risque, compte tenu de leur consommation importante dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins (**DJERMOUN, 2009**).

## **II.7.2. Les différents types de mycotoxines**

Plusieurs mycotoxines ont été identifiées mais heureusement, seules une vingtaine de familles posent des problèmes en alimentation humaine et animale et seules six familles sont fréquemment rencontrés en agro-alimentaire : les aflatoxines, les ochratoxines, les fumonisines, les trichotécènes, la zéaralénone et la patuline (HADJEBA, 2012).

### **II.7.2.1. Aflatoxines**

Trois espèces d'*Aspergillus* sont connues pour leur capacité à synthétiser des aflatoxines. *A. flavus* produit principalement l'aflatoxine B<sub>1</sub> et l'aflatoxine B<sub>2</sub>, *A. parasiticus*, produit les 4 aflatoxines (B<sub>1</sub> ; B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) et *A. nomius*, une souche rare, proche de *A. flavus*, est capable de produire des aflatoxines (CASTEGNARO & PFOHL-LESZKOWICZ, 2002). Les conditions les plus favorables à la production d'aflatoxines sont une activité en eau relativement faible (0,84 -0,86) et une température élevée, comprise entre 25 et 40°C (PFOHL- LESZKOWICZ, 2001 ; CASTEGNARO & PFOHL-LESZKOWICZ, 2002).

### **II.7.2.2. Ochratoxine A**

La famille des ochratoxines comprend une dizaine de molécules connues, mais l'ochratoxine A est le représentant le plus important. L'ochratoxine A ou OTA est produite par des espèces d'*Aspergillus* (*A. ochraceus*) et de *Penicillium* (*P. verrucosum*, *P. viridicatum*) ce qui en fait un contaminant pouvant être produit dans des conditions assez variables. 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) .

### **II.7.2.3. Fumonisines**

Elles forment une famille d'environ 15 molécules dont les fumonisines B1, B2, B3, B4 sont les plus importantes (JARD, 2009). Les fumonisines constituent un groupe de mycotoxines structurellement reliées, solubles dans l'eau, il s'agit de chaînes d'hydroxyles de carbone à la différence des aflatoxines ou des ochratoxines. Cette famille de mycotoxines est principalement produite par *Fusarium verticillioides* (anciennement *F. moniliforme*) et *F. proliferatum* (GELDERBLOM et al., 1988 ; BOUDIH, 2011) .

### **II.7.2.4. Trichothécènes**

Les trichothécènes sont produites, principalement, par des espèces de genre *Fusarium* qui contaminent les céréales, particulièrement le maïs Les trichothécènes constitue un groupe de métabolites secondaires produits par de nombreuses espèces du genre *Fusarium*, en particulier *F.graminearum*, *F.culmorum*, *F.poa* et *F.sporotrichioide* s. Plus de 160 trichothécènes ont été identifiés, notamment le déoxynivalénol (DON), le nivalénol (NIV), la toxine T-2, la toxine HT-2, le diacétoxyscirpénol (DAS) et la fusarénone X (FX). Le trichothécène le plus fréquemment retrouvé est le DON (AFSSA, 2006).

### **II.7.2.5. Zéaralénone**

La ZEA est une lactone de l'acide résorcyclique, l'une des propriétés qui inquiète le plus est son effet oestrogénique. Elle est produite par *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense*, *F. equiseti* et *F. oxysporum*. qui sont des contaminants fréquents des aliments (AFSSA, 2009 ; JARD, 2009).

### **II.7.2.6. Patuline**

Elle est produite par *Penicillium expansum* et dans une moindre mesure par *Aspergillus clavatus* et *Byssochlamys nivea*. Le *P. expansum* produit la patuline entre 0 et 30°C contrairement à la plupart des champignons microscopiques (AFSSA, 2009 ; BOUDIH, 2011).

---

***Partie 2: Matériels et  
Méthodes***

---

### III. Démarche de travail

#### III.1. Objectif

Notre travail s’articule sur une étude caractéristique globale de la flore fongique de couscous traditionnel de la région de Naâma.

Les différentes analyses réalisées dans cette étude ont été menées aux laboratoires pédagogiques de Microbiologie du Centre Universitaire SALHI Ahmed Naâma.

La fiche suivante résume la démarche de notre travail :

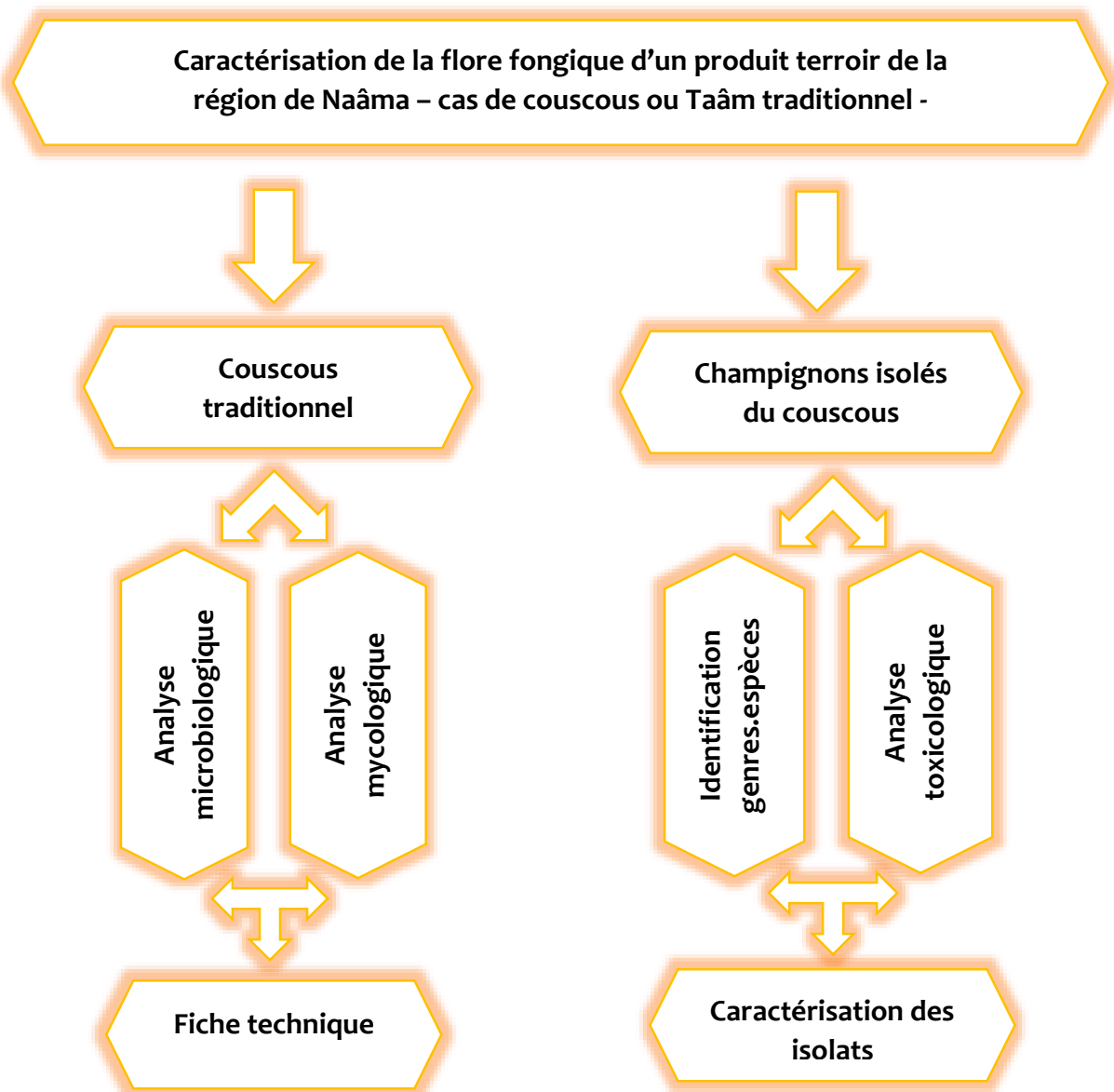


Figure 7 : Organisation schématique des objectifs de la recherche.

### **III.2. Description de la zone de prélèvement**

Les échantillons du couscous artisanal a analysés ont été prélevés à partir des trois communes (Mécheria, El biod et Ain sefra) de la région de Naâma.

La wilaya de Naâma, se situe dans la partie occidentale des hauts plateaux, aux confins Algéro-Marocains. Elle se décompose en deux grandes zones : une zone steppique au Nord et une zone présaharienne au Sud. Elle couvre une superficie de 29514.14Km<sup>2</sup>.



**Figure 8** : Carte géographique de la zone de prélèvement (GOOGLE EARTH, 2021).

### III.3. Diagramme de fabrication de couscous artisanal

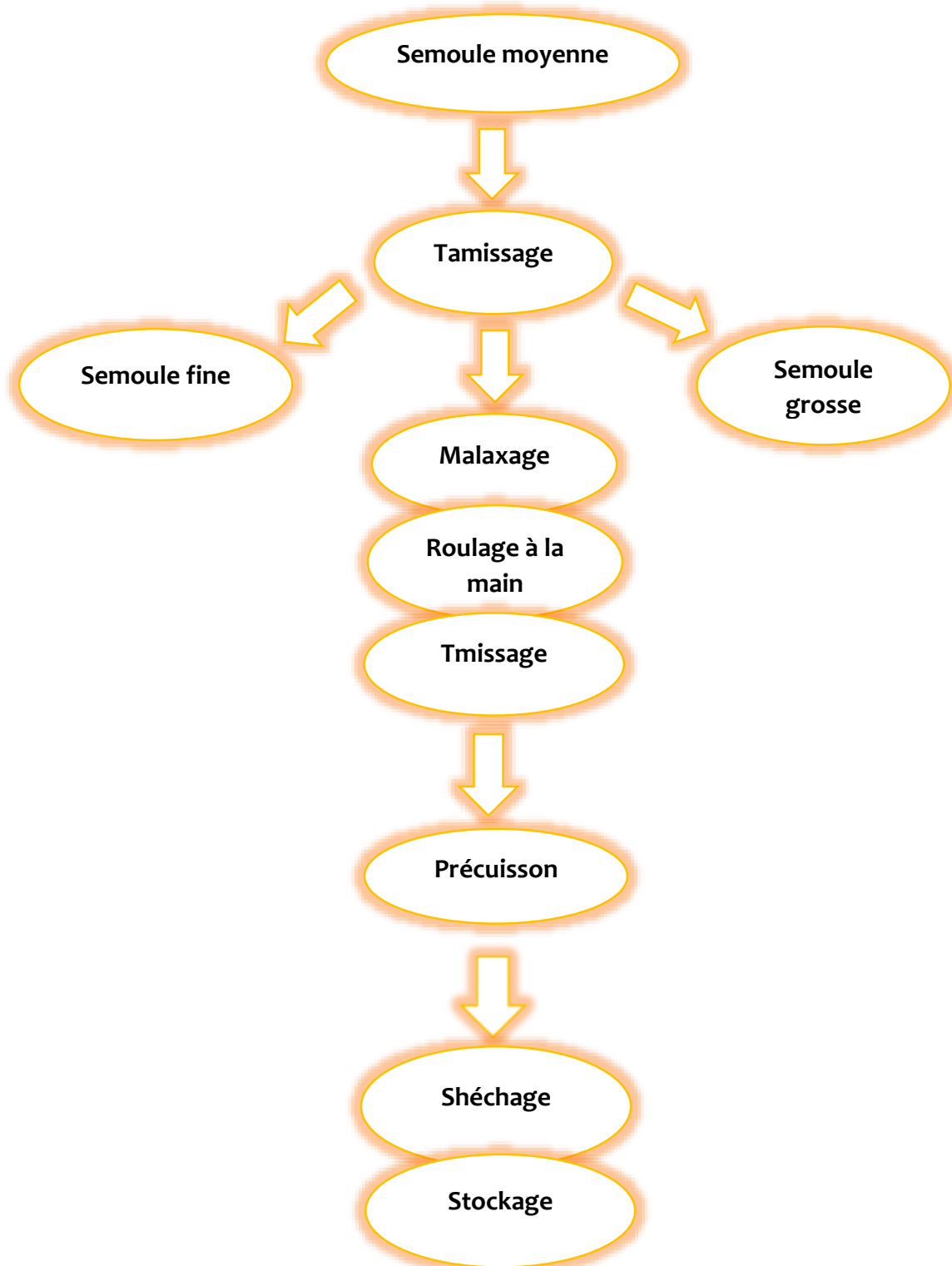


Figure 9 : Diagramme de fabrication du couscous artisanal.

### III.4. Echantionnage

Avant toute analyse, il convient de prélever un échantillon représentatif du produit à analyser. Néanmoins, les techniques de prélèvements habituellement recommandées pour d'autres analyses ne sont guère probantes quand il s'agit d'analyses microbiologiques. En général, sur les produits secs, granuleux et pulvérulents, la microflore est toujours répartie de façon très hétérogène (DUNOYER, 1989).

SUTRA *et al.*, (1998), stipulent que les échantillons doivent être prélevés rigoureusement au hasard, en évitant les biais (par exemple, éviter des prélèvements "systématiques" en début ou en fin de production).

Dans cette étude et afin d'avoir un échantillon représentatif, trois échantillons (03) décrits comme produits du terroir de la région de Naâma ; trois échantillons de couscous artisanal (couscous moyen qui le produit fini) de Mécheria, trois échantillons de El biod, et trois échantillons de Ain sefra, ont été prélevés au hasard (diagramme de fabrication artisanal présenté dans la figure 9), ont été collectés durant le mois d'Avril (la saison de printemps) de l'année 2021. Ils sont ensuite transportés au laboratoire de l'université où ils sont soumis à des analyses microbiologiques et mycologiques.






**Tableau 2 : Origine et date de prélèvement des échantillons.**

Echantillons	Date de prélèvement	Lieu de prélèvement	Nombre d'échantillons
Couscous moyen 1	04/04/2021	Mécheria	03
Couscous moyen 2	17/04/2021	El biod	03
Couscous moyen 3	23/04/2021	Ain sefra	03

### **III.5. Caractérisations du couscous artisanal**

#### **III.5.1. Caractérisations microbiologiques**

Cette analyse va nous permettre d'avoir une idée sur la constitution microbiologique du couscous artisanal produit dans cette région. Elle comporte le dénombrement et/ou la recherche des flores suivantes :

-  Flore aérobie mésophile totale,
-  Coliformes et les coliformes thermotolérants,
-  Staphylocoques,
-  Anaérobies Sulfito réducteurs,
-  Levures et moisissures.

#### **III.5.1.1. Préparation de la solution mère et des dilutions (NF V 08 010 de mars 1996)**

La réalisation des analyses microbiologiques nécessite d'effectuer une série des dilutions décimales pour obtenir une répartition uniforme des microorganismes et pour réduire le nombre de ces microorganismes afin de faciliter l'analyse microbiologique.

La méthode de dilution consiste à introduire 10g de couscous artisanal dans un flacon contenant 90ml de TSE (Tryptone Sel Eau) suivi d'une bonne agitation, c'est la solution mère.

#### **III.5.1.2. Préparation des dilutions décimales**

Pour obtenir la dilution  $10^{-1}$ , prélever 1 ml de la solution mère et l'introduire dans un tube contenant 9 ml de même diluant en respectant l'asepsie puis suivie d'une agitation. Pour la dilution  $10^{-2}$ , on introduit aseptiquement 1 ml de la dilution  $10^{-1}$  dans un tube contenant 9 ml de TSE avec une homogénéisation, et ainsi de suite pour les autres dilutions jusqu'à l'obtention du nombre de dilutions voulues.

### **III.5.1.3. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale à 30 °C (FAMT)**

Cette flore est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits. Le dénombrement a été réalisé sur gélose PCA (Plat Count Agar), par ensemencement en masse d'1 ml de chacune de solution mère et la dilution décimales de  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  en double suivi d'une incubation à 30 °C pendant 72 h en aérobie. On compte les colonies lenticulaires ayant poussé en masse. Le dénombrement a été effectué à l'aide d'un compteur de colonies, en tenant compte uniquement des boîtes contenant entre 30 et 300 colonies (**BOUSSOUAR, 2017**). On calcule le nombre de microorganismes par ml à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0.1n_2)d}$$

Où

$\Sigma C$  : La somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues ;

$n_1$  : Le nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

$n_2$  : Le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution ;

$d$  : le taux de dilution correspondant à la première dilution.

### **III.5.1.4. Dénombrement des coliformes totaux et coliformes thermo tolérants (NF V 08-050 et NF V 08-060)**

Ce dénombrement consiste à ensemencer en profondeur, dans les mêmes conditions, une quantité déterminée (1ml) de la solution mère et des dilutions décimales  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  dans un milieu gélosé de Désoxycolate coulé dans une boîte de Pétri. Recouvrir les boîtes avec une couche du même milieu, et les incuber à 30 °C pendant 24 h pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes thermo-tolérants.

Le dénombrement repose sur le comptage des colonies caractéristiques qui sont violacées, d'un diamètre de 0,5 mm ou plus, et parfois sont entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile. Retenir les boîtes contenant moins de 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques au niveau de deux dilutions successives. Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies caractéristiques. Calculer le nombre N de coliformes/coliformes thermo-tolérants par millilitre, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{1, 1d}$$

Où

$\Sigma C$  : la somme des colonies caractéristiques comptées sur les deux boîtes retenues ;

$d$  : le taux de dilution correspondant à la première dilution comptée.

### III.5.1.5. Recherche des Staphylocoques (JORA n° 68 du 23 novembre 2014)

Consiste à ensemercer en surface un milieu de culture gélosé sélectif (100 ml de la gélose Baird Parker, 5 ml du surnageant de l'émulsion de jaune d'œuf, 1 ml de Tellurite de potassium) coulé dans une boîte de Pétri, avec 0,1 ml de la solution mère en double.

Après 24 à 48 heures d'incubation à 37 °C, les colonies noires (réduction de tellurite en tellure noire), brillantes et convexes (1,5 à 2,5 mm de diamètre après 48 heures d'incubation) entourées d'une auréole d'éclaircissement (hydrolyse des protéines de jaune d'œuf) avec un liseré blanc opaque (hydrolyse des lécithines) sont dénombrées .

Pour s'assurer qu'il s'agit bien de colonie de *Staphylococcus aureus*, une recherche de catalase est effectuée sur 2 à 3 colonies par boîtes Pétri (LEBRES et al., 2002).

### III.5.1.6. Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs

Après destruction des formes végétatives, par chauffage à 80 °C pendant 10 minutes de 5 ml en double de la solution mère de l'échantillon, et refroidissement immédiat par l'eau de robinet pendant 10 minutes. Ces prélèvements sont incorporés dans des tubes à vis stériles contenant un milieu de base fondu, régénéré, additionné de sulfite de sodium et de sels de fer (le milieu viande foie). Après incubation à 37°C, les colonies noires ayant poussées en profondeur sont comptées après 18 h, 48 h et 72 h.

### III.5.1.7. Dénombrement des levures et moisissures

Ensemencement en profondeur d'un milieu de base OGA, en double d'1 ml de la solution mère de l'échantillon. Les boîtes sont incubées pendant 5 jours à une température de 25 °C. Le dénombrement se fera en fonction de la formule de calcul suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{1, 1d}$$

$\Sigma C$  : la somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues ;

$d$  : le taux de dilution correspondant à la première dilution comptée.

## **III.5.2. Caractérisations mycologiques**

### **III.5.2.1. Isolement de la flore fongique**




La microflore des échantillons de couscous artisanal choisis a été isolée par la méthode de dilution (ou méthode indirecte).

La méthode de dilution (ou méthode indirecte) consiste à dénombrer les microorganismes des grains de céréales mises en suspension avec 45 ml d'eau physiologique (le diluant) et quelques gouttes de Tween 80. L'intérêt de cette méthode réside dans le fait que les propagules fongiques sont dénombrées à partir de la même suspension mère et qu'elles intègrent la flore interne et externe (MULTON, 1982).

#### **a.Préparation des solutions mères**

Sur le paillasse une zone stérile de (20 à 30 cm) de diamètre est créé par la flamme du bec Bunsen, soigneusement nettoyée, un échantillon de 10 g de couscous artisanale est prélevé et mis en suspension avec 90 ml d'eau physiologique (le diluant) et trois (3) gouttes de Tween 80, homogénéisé à l'aide de vortex , c'est la dilution (mère).

A partir de la dilution mère réalisée pour chaque échantillon de couscous artisanal prélevé, deux boîtes pour chaque dilution sontensemencées avec 1 ml d'inoculum étalé en surface. L'incubation se fait à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 7 jours (Figure 10). Trois milieux sont couramment utilisés pour le dénombrement de ces propagules fongiques :

-  PDAa (Potato Dextrose Agar acidifié) ;
-  CDA (Czapek Dextrose Agar) ;
-  MEA (Malt extract agar).

Afin d'éviter la contamination bactérienne, le milieu PDA est acidifié jusqu'à un pH de 4,5 à 5 en ajoutant 1 ml d'acide lactique à 25% par flacon de milieu (LARPENT, 1990).

### **III.5.2.2. Repiquage des souches**

En vue de l'obtention d'isolats purs servant à l'identification des souches, plusieurs repiquages successifs sur milieu PDA acidifié ont été réalisés. Après un bon développement des colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les moisissures et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'une moisissure donnée.

Le repiquage se 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 au milieu PDA (annexe), ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement chaque colonie devenir un numéro (1, 2, 3, ...). Le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen. Ces boîtes sont incubées à 25 °C pendant 7 jours jusqu'à l'obtention des souches pures.

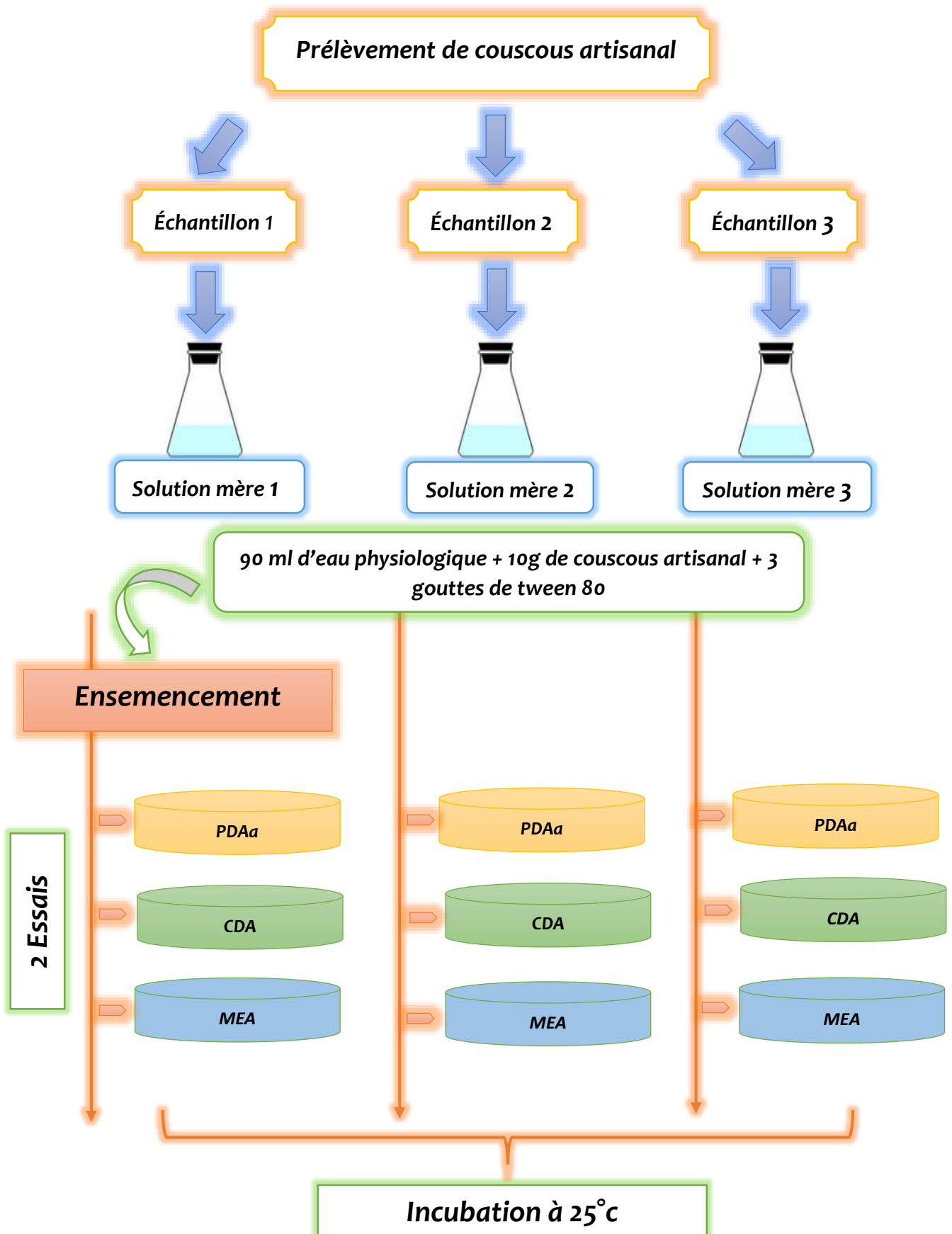


Figure 10 : Techniques d'isolement et de dénombrement des souches fongique.

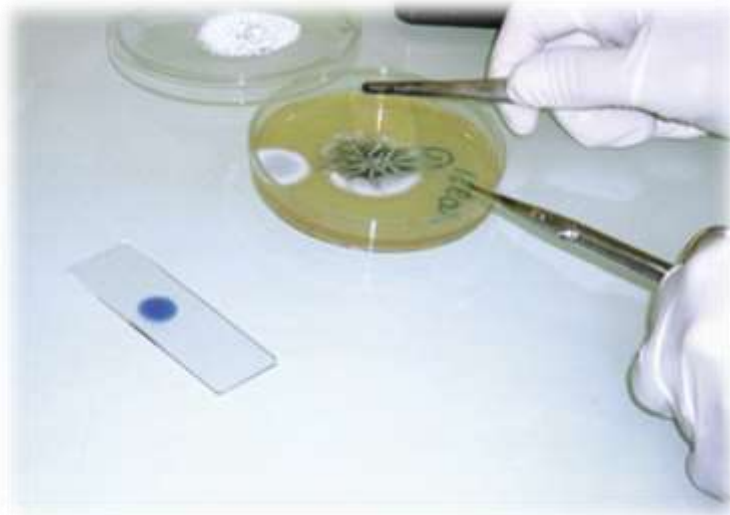
### III.5.2.3. Identification des genres de moisissures

Selon **BOTTON et al., (1990)**, l'identification des moisissures fait essentiellement appel aux caractères cultureux et morphologiques :

- ✚ Les caractères cultureux reposent sur des critères macroscopiques tels la vitesse de croissance, la texture, la couleur du thalle, la couleur du revers de la culture, l'odeur, l'exsudat et la présence d'un pigment diffusible (**CHABASSE et al., 2002**).
- ✚ Les caractères morphologiques représentent une étude microscopique du mycélium, la nature des organes différenciés et l'étude biométrique. Les caractères morphologiques sont déterminés suivant une méthode classique dite « méthode de Scotch ».

#### a. Identification des genres par la technique de scotch

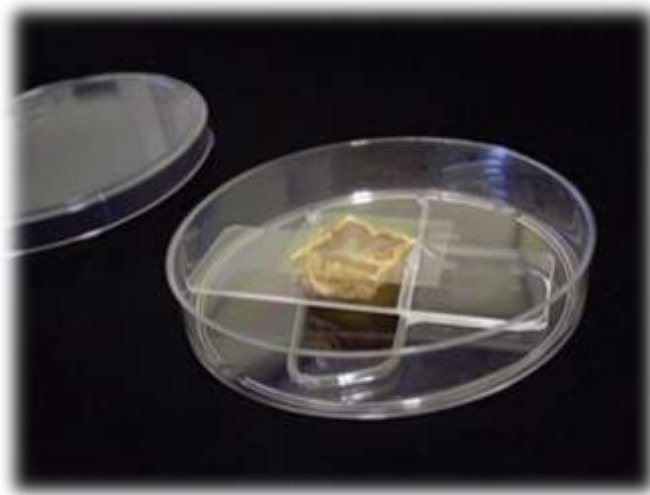
La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de lactophérol (figure 11) (**CHABASSE, 2002**). Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements  $\times 10$ ,  $\times 40$  et  $\times 100$  à l'aide d'un microscope.



**Figure 11 :** Méthode d'identification microscopique des moisissures (**CHABASSE, 2002**).

## **b. Identification des genres par la technique de micro-culture**

Décrite par **HARIS (1989)**, la technique de micro-culture consiste à inoculer les spores des moisissures sur une lame menée de petits carrés, de milieu PDA acidifié et les recouvrir par une lamelle. Les spores sontensemencées sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubé à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 3 à 5 jours (figure 12). Après incubation, les lamelles auxquelles s'adhèrent le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements  $\times 10$ ,  $\times 40$  et  $\times 100$ . Les genres sont déterminés par les caractères culturaux et microscopiques en se référant au manuel de **BARNETT & HUNTER (1972)**.



**Figure 12** : Micro-culture des moisissures pour l'identification microscopique (CHABASSE, 2002).

### **III.5.2.4. Identification des espèces « single spore »**

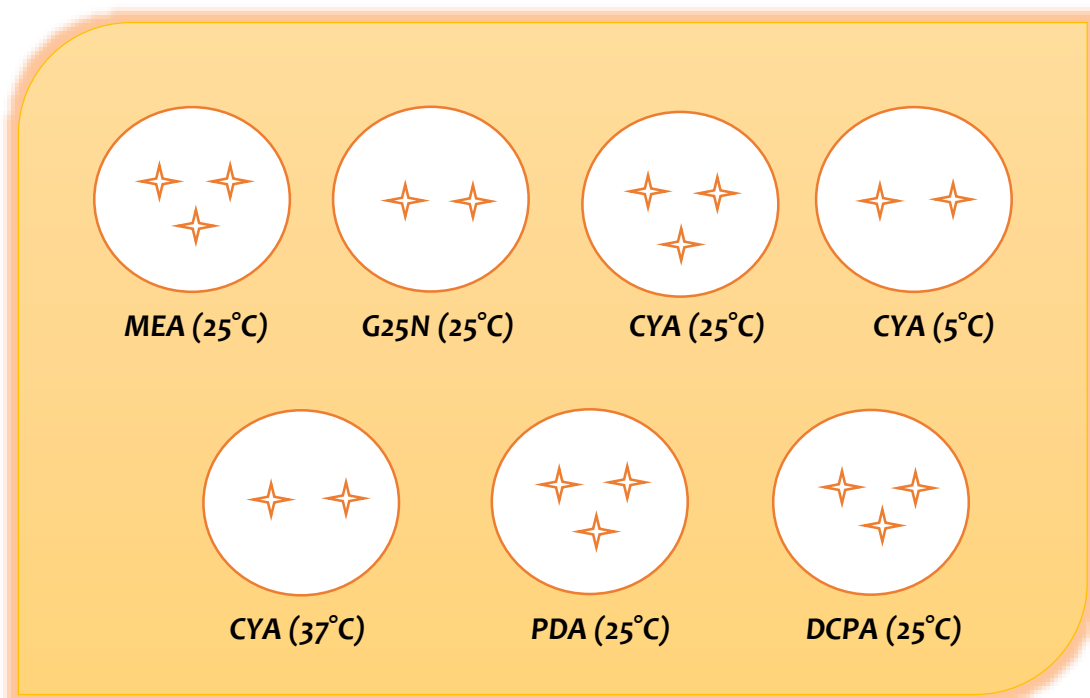
L'identification de l'espèce est effectuée par la méthode de single spore décrite par **PITT & HOCKING (2009)**, en utilisant un schéma taxonomique basé sur les caractères morphologique . Selon **PITT et al., (1973)**, cette méthode est basée sur la relation entre l' $A_w$  du milieu de culture et la température d'incubation et la vitesse de croissance d'autre part.

**a. Préparation de la suspension sporale**

A partir des cultures âgées de 7 jours des isolats obtenues. Un fragment de mycélium de chaque isolat est introduit dans 9 ml d'eau physiologique stérile, après une agitation avec le vortex la suspension sporale est obtenues. Ensuite, on inocule un volume de suspension sporale obtenue dans des tubes à hémolyse au 2/3 de leurs volumes par une suspension d'un milieu de transfert à base de 0,2% d'agar et 0,2 ml de tween 80. Avant l'ensemencement sur les différents milieux, la suspension est agitée. Les milieux de culture sont :

- ✚ Malt Extract Agar (MEA) à 25°C.
- ✚ Glycérol Nitrate Agar (G25N) à 25°C.
- ✚ Czapeck Yeast Agar (CYA) à 5°C, 25°C, et à 37°C.
- ✚ Dichloran Chloromphenicol Pepton Agar (DCPA) à 25°C.
- ✚ Potato Dextrose Agar (PDA) à 25°C.

Les milieux sont inoculés comme ceci est montré la figure ci-après :



**Figure 13 :** Type d'inoculation des différents isolats fongique  
**PITT et HOCKING (2009).**

**NB :**

- ✚ L'ajout du chloramphénicol au milieu DCPA à raison 2,5ml par flacon afin d'inhiber la croissance bactérienne.
- ✚ Les boîtes incubées à 37°C doivent être renfermées dans des sacs en polyéthylène pour éviter l'évaporation, donc l'assèchement du milieu. A moins que l'humidité soit très basse, les boîtes incubées à 25°C ne subissent pas l'évaporation excessive en 7 jours et 14 jours.

**Examen des cultures**

Les cultures obtenues après 7 jours sont authentifiées en se référant au manuel de clefs d'identification de **PITT, (1973)** selon les caractéristiques suivantes :

✚ **Diamètre de colonie :**

Il peut être variable en fonction des genres fongiques. On mesure les diamètres des colonies macroscopiques en millimètre. La croissance ou la germination microscopique à 5°C est évaluée par analyse en microscopie à faible grossissement, en mettant la boîte de Pétri (maintenue à 5°C) sur le champ optique du microscope (**BOTTON et al., 1990**).

✚ **Caractères de colonie :**

L'aspect et la couleur des colonies sont des éléments très importants pour l'identification. L'aspect de la colonie est examiné à l'œil nu ou sous une loupe. La couleur est examinée à la lumière du jour ou sous lumière fluorescente (**SLIMANI, 2018**).

---

## ***Partie 3: Résultats***

---

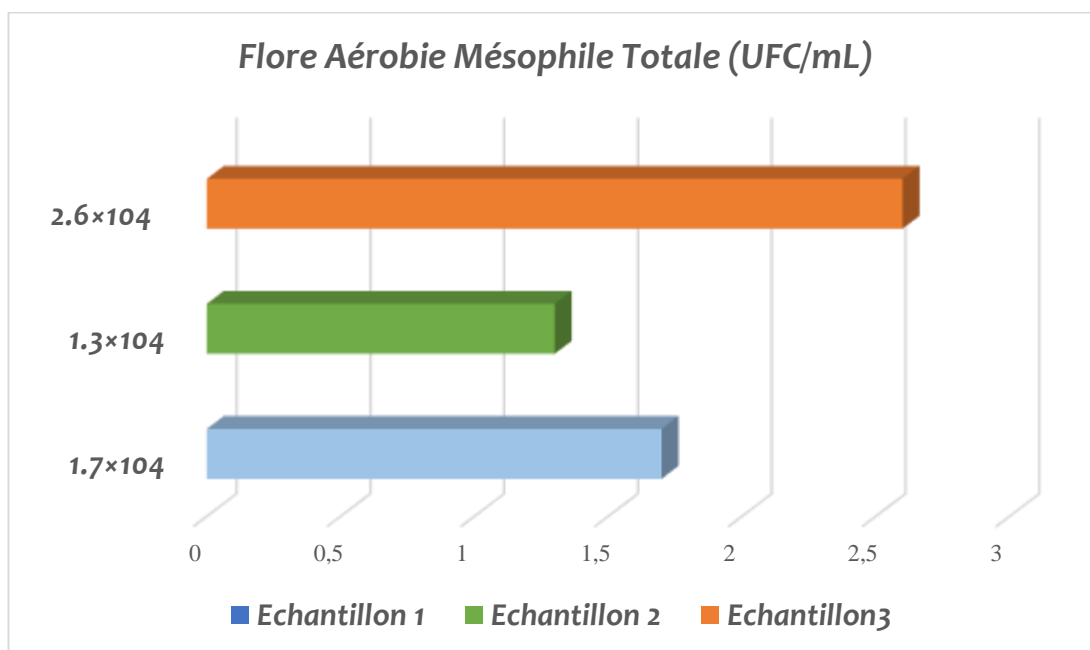
## IV.1. Caractérisations du couscous artisanal

### IV.1.1. Caractérisations microbiologiques

L'étude de statut microbiologique s'est focalisée sur l'évaluation de la qualité hygiénique de nos échantillons du couscous artisanal (couscous moyen qui le produit fini). Cette évaluation consiste à vérifier la conformité du produit et de s'assurer si ce produit est propre à la consommation.

#### IV.1.1.1. Flore aérobie mésophile totale (FAMT)

La Flore aérobie mésophile totale (FAMT) est un indicateur sanitaire qui tente de représenter la charge microbienne totale d'un aliment. Les valeurs moyennes de FAMT des trois échantillons étudiés ont fluctué entre [ $1.3 \times 10^4$  UFC/mL –  $2.6 \times 10^4$  UFC/mL]. Cette charge microbienne pouvait provenir de l'absence des mesures d'hygiène rigoureuses lors de la fabrication du couscous.



**Figure 14 :** Valeurs moyennes de FAMT des trois échantillons étudiés. Les valeurs des propagules bactériennes sont affichées en UFC/mL (Unité formant colonies).

#### IV.1.1.2. Coliformes totaux et coliformes thermotolérants

Les coliformes décrivent des bactéries à coloration à Gram négative fermentant le lactose avec production de gaz, ce sont des bacilles non sporulants, donnant une réponse négative au test à l'oxydase, aérobies ou anaérobies facultatives, capables de cultiver en présence de sels biliaires ou équivalents . Une absence de coliformes totaux et fécaux (coliformes thermo tolérants) a été enregistrée dans les trios échantillons du couscous artisanal analysé. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que cette flore est absente ou probablement inhibée par d'autres facteurs présents dans ce couscous tel que des substances à activité antimicrobienne qui sont produits par des ingrédients ajoutés lors de sa fabrication et conservation.

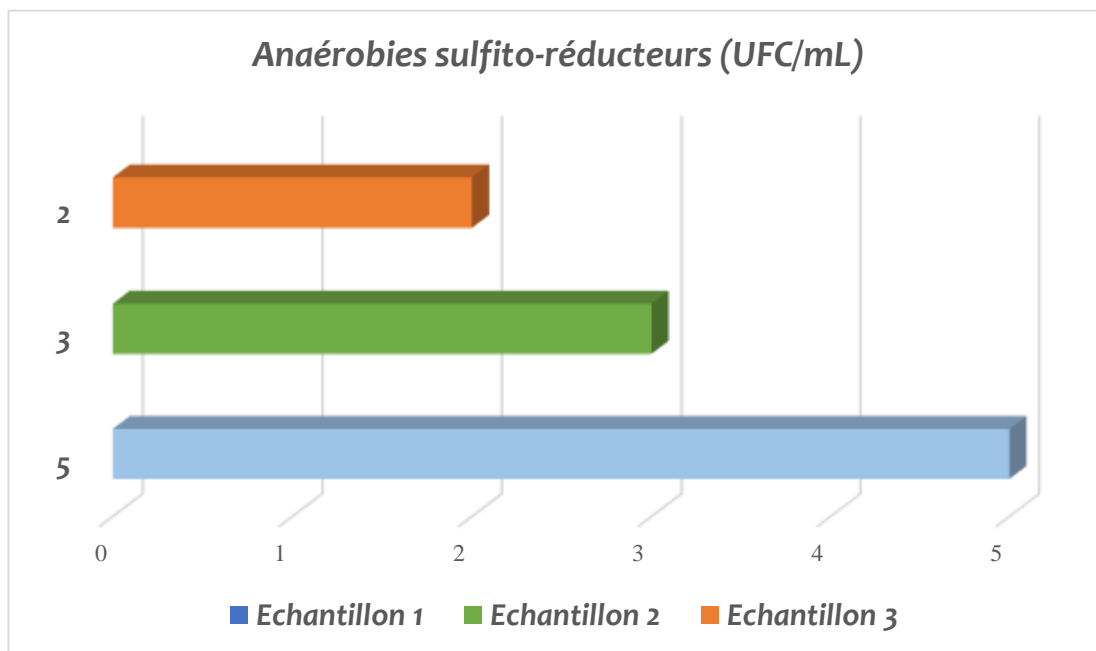
#### IV.1.1.3. Staphylocoques

Tous les staphylocoques présents dans les aliments ne sont pas des entérotoxiques. Certains auteurs recommandent de les considérer comme organismes indicateurs dans les aliments crus : ils peuvent signaler des contaminations humaines par manipulation ou par voie aérienne, ou une contamination «originelle» d'un produit animal. L'investigation des *Staphylococcus aureus* dans nos échantillons du couscous montre une absence totale de SA. La raison la plus fréquente de l'absence des SA dans les échantillons du couscous artisanal peut être expliqué par l'absence d'une contamination.

#### IV.1.1.4. Anaérobies sulfito-réducteurs

Les germes Anaérobies sulfito-réducteurs (généralement des *Clostridium*) sont des hôtes normaux de l'intestin, mais ils peuvent se rencontrer également dans le sol et dans les matières organiques en voie de putréfaction. Leur résistance est beaucoup plus importante que celle des autres germes indicateurs car ils sont sporulés. Ils sont parfois seuls survivants d'une ancienne contamination fécale. Les différentes valeurs moyennes des CSR obtenues pour les trois échantillons analysés et illustrées dans la figure 15 sont les suivantes : [5 UFC/mL, 3 UFC/mL, et 2 UFC/mL] respectivement.

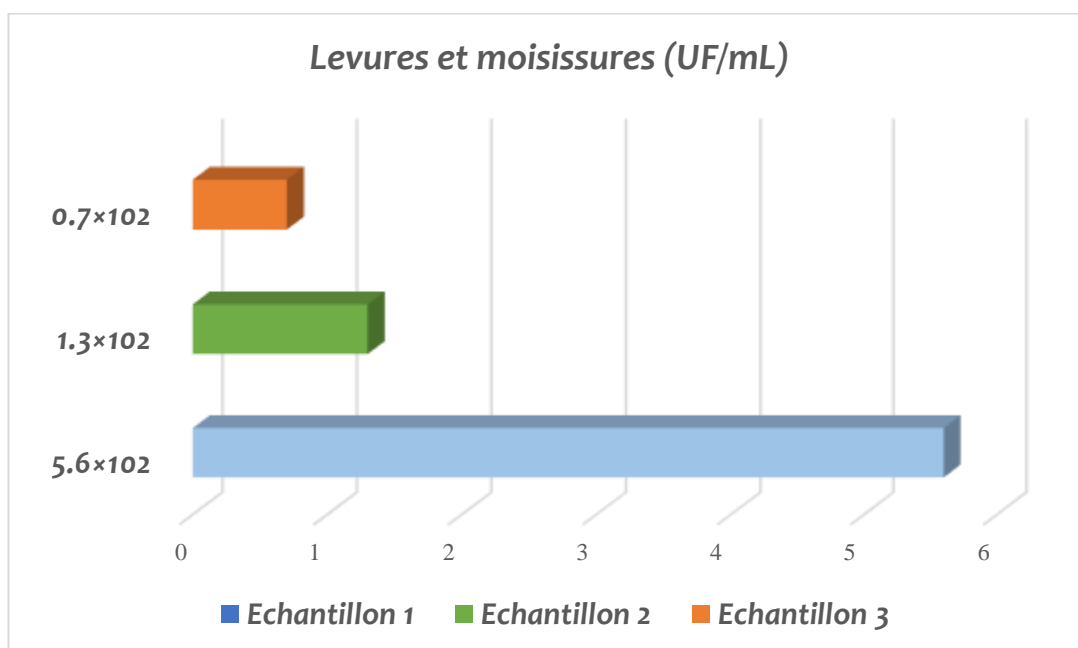
D'ailleurs, la moyenne de dénombrement des CSR est plus ou moins acceptable par rapport à la norme Algérienne appliquée sur le couscous fixé par l'arrêté du Journal Officiel (2017). Cela est expliqué par la bonne qualité hygiénique de ces produits.



**Figure 15 :** Valeurs moyennes de CSR des trois échantillons étudiées. Les valeurs des propagules bactériennes sont affichées en UFC/mL (Unité formant colonies).

#### IV.1.1.5. Levures et moisissures

Des levures et moisissures constituent une bonne flore indicatrice de la qualité générale, essentiellement pour des produits d'origine végétale. Les valeurs de dénombrement des L-M des trois échantillons prélevées et affichés sur la figure 16 sont comprises entre  $0.7 \times 10^2$  UF/mL et  $5.6 \times 10^2$  UF/mL.



**Figure 16 :** Valeurs moyennes de L-M des trois échantillons étudiées. Les valeurs des propagules fongiques sont affichées en UF/mL (Unités fongiques).

## **IV.1.2. Caractérisations mycologiques**

Le dénombrement de la flore fongique a été estimé sur trois types de milieux de culture à savoir : PDAa, CDA et MEA, afin de contrôler la diversité fongique de nos échantillons.

### **IV.1.2.1. Identification des moisissures**

L'identification des genres à l'aide du guide de **BARNETT (1972)**, se fait par l'étude des caractères macroscopiques (couleur, aspect du mycélium...) et microscopiques (méthode de scotch – micro culture) des moisissures isolées.

L'identification des espèces a été réalisée après culture sur différents milieux et à différentes températures. En se référant aux ouvrages de **PITT et HOKING (2009)**, la détermination des espèces se fait après lecture des diamètres, la couleur des mycéliums.

#### **a. Identification macroscopique**

L'étude macroscopique basée sur la caractérisation des colonies cultivées sur les milieux MEA à 25°C, G25N à 25°C, CYA (à 5°C, 25°C, et à 37°C), DCPA à 25°C et PDA à 25°C ; a révélée une grande variabilité entre les caractères morphologiques des isolats. Les isolats présentent une couleur de colonie qui varie du claire au foncé avec une teinte vert olive, blanche, jaune, rose, marron, beige, grise, à noir. La majorité des colonies ont une texture duveteuse, cotonneuse, poudreuse ou granuleuse avec des bordures régulières ou irrégulières.

Les résultats des techniques d'identification des isolats fongiques étudiés (microculture et single spore) ont été regroupés par genres spp. et résumés dans les tableaux 3, 4, 5, 6, et 7.

Les figures 16, 17, 18, 19, et 20 donnent quelques spécimens de photos de nos isolats sur les différents milieux d'identification.

Tableau 3 : Caractérisations macroscopiques des isolats d'*Aspergillus* spp.

<b>Lecture macroscopique</b>							
Isolats	Milieux	Couleur		Contour	Texture	Pigmentation du milieu	Diamètre (cm)
		Au recto	Au verso				
VO9	MEA 25°C	Jaune	Blanc	Circulaire blanc	Cotonneuse	Abs	7.5
	G25N 25°C	Jaune	Blanc	Circulaire	Duveteuse	Abs	4.62
	CYA 25°C	Blanc avec fissures	Beige	Circulaire	Duveteuse	Abs	6.5
	CYA 37°C	Blanc avec fissures	Beige	Circulaire	Duveteuse	Abs	5.5
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Noir	Beige	Irrégulier	Poudreuse	Abs	6
	PDA 25°C	Gris	Jaune	Circulaire	Poudreuse	Abs	7.5
GCB 22	MEA 25°C	Blanc avec fissures	Jaune	Circulaire	Duveteuse	Jaune	7.3
	G25N 5°C	Blanc	Blanc	Circulaire	Duveteuse	Abs	5.3
	CYA 25°C	Beige	Orange	Circulaire jaune	Duveteuse	Jaune	6.5
	CYA 37°C	Gris	Marron	Circulaire blanc	Duveteuse	Marron	6
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Rose	Orange	Irrégulier jaune	Granuleuse	Jaune	4
	PDA 25°C	Jaune doré + sclérote	Orange	Circulaire beige	Duveteuse	Abs	7.5
BCV 25	MEA 25°C	Blanc Jaunâtre	Blanc	Irrégulier blanc	Duveteuse	Abs	7.3
	G25N 5°C	Vert pistache	Beige	Irrégulier blanc	Duveteuse	Abs	5.5
	CYA 25°C	Vert pistache	Orange	Irrégulier blanc	Duveteuse	Abs	7
	CYA 37°C	Jaune pâle	Orange		Cotonneuse	Abs	3.5
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Vert pistache	Blanc	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	4

	PDA 25°C	Vert pistache	Blanc	Irrégulier blanc	Duveteuse	Abs	7.3
JD 4	MEA 25°C	Vert clair	Jaune	Circulaire beige	Duveteuse	Abs	4.5
	G25N 5°C	Blanc	Blanc	Circulaire	Duveteuse	Abs	2
	CYA 25°C	Blanc grisâtre	Orange	Irrégulier	Duveteuse	Jaune	7.5
	CYA 37°C	Gris	Orange	Circulaire	Duveteuse	Abs	6
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Rose	Orange	Circulaire	Duveteuse	Abs	3.5
	PDA 25°C	Jaune doré + sclérote	Orange	Circulaire beige	Duveteuse	Abs	7.5
NP 5	MEA 25°C	Jaune	Blanc	Irrégulier blanc	Cotonneuse	Abs	7.5
	G25N 5°C	Blanc Jaunâtre	Blanc	Circulaire	Cotonneuse	Abs	2.5
	CYA 25°C	Blanc avec fissures	Jaune	Circulaire	Duveteuse	Abs	3
	CYA 37°C	Blanc avec fissures	Jaune	Circulaire	Duveteuse	Abs	3.5
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Noir	Gris	Circulaire noir	Poudreuse	Abs	3
	PDA 25°C	Noir	Blanc	Circulaire noir	Poudreuse	Abs	6.5
JD 18	MEA 25°C	Beige	Jaune	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	3.5
	G25N 5°C	Blanc	Blanc	Circulaire	Duveteuse	Abs	2.5
	CYA 25°C	Beige	Orange	Circulaire jaune	Duveteuse	Abs	6.5
	CYA 37°C	Beige	Marron	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	2.5
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Beige	Jaune	Circulaire	Duveteuse	Abs	2.5
	PDA 25°C	Jaune doré + sclérote	Orange	Circulaire beige	Duveteuse	Abs	7.5

NP 15	MEA 25°C	Vert clair	Blanc	Circulaire blanc	Cotonneuse	Abs	6.5
	G25N 5°C	Jaune	Blanc	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	2.8
	CYA 25°C	Blanc avec fissures	Beige	Circulaire	Duveteuse	Abs	6
	CYA 37°C	Blanc avec fissures	Jaune	Circulaire	Duveteuse	Abs	2.5
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Noir	Vert foncé	Circulaire noir	Poudreuse	Abs	6
	PDA 25°C	Noir	Blanc	Circulaire blanc	Poudreuse	Abs	7.5

### Groupe 1 des *Aspergillus* spp.

Il regroupe les isolats ayant des colonies de couleur blanc, jaune, noir, gris, beige, rose, vert clair, ou vert pistache avec généralement une marge blanche. La texture des colonies est duveteuse, cotonneuse à poudreuse. Les isolats généralement appartenant à ce groupe ne produisent pas de pigment diffusible. Le diamètre des colonies est supérieur à 5,5 cm après 7 et 14 jours d'incubation. Ces caractéristiques sont les plus similaires à ceux d'*Aspergillus* sp. .



A



B



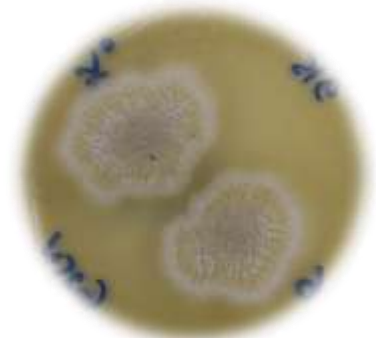
C



D



E



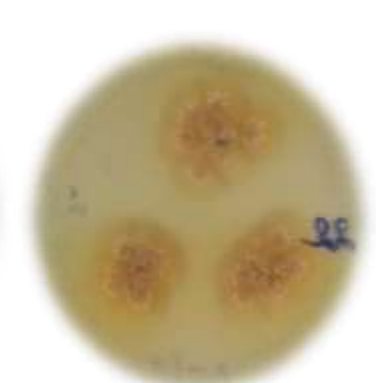
F



G



H



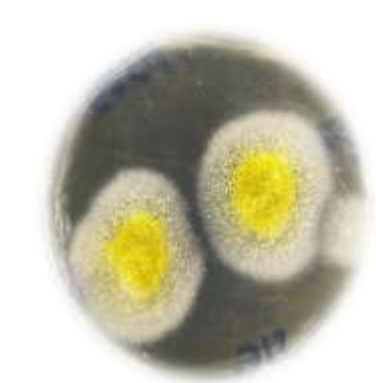
I



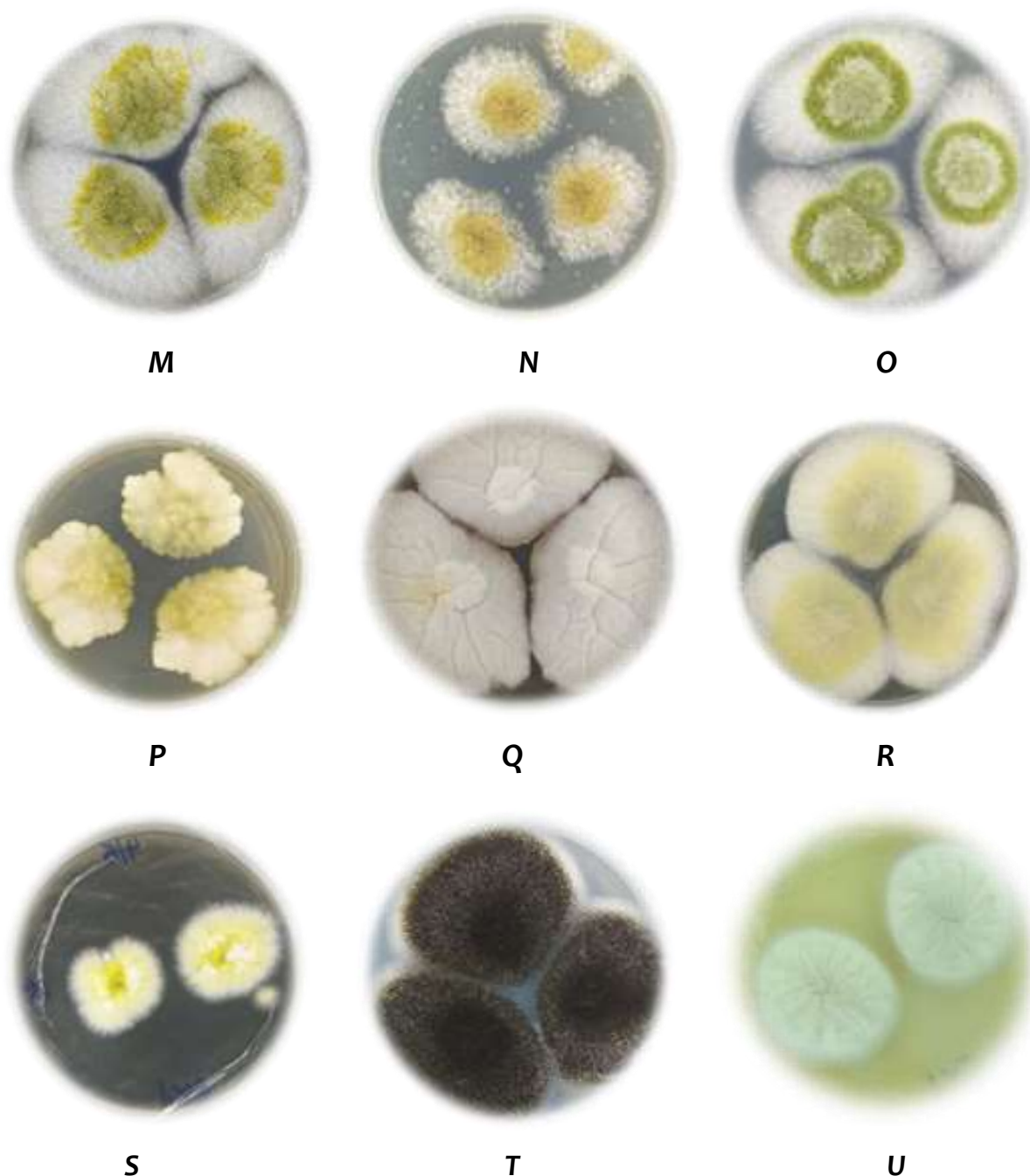
J



K



L



**Figure 16 :** Aspects macroscopiques des colonies d'*Aspergillus* spp.

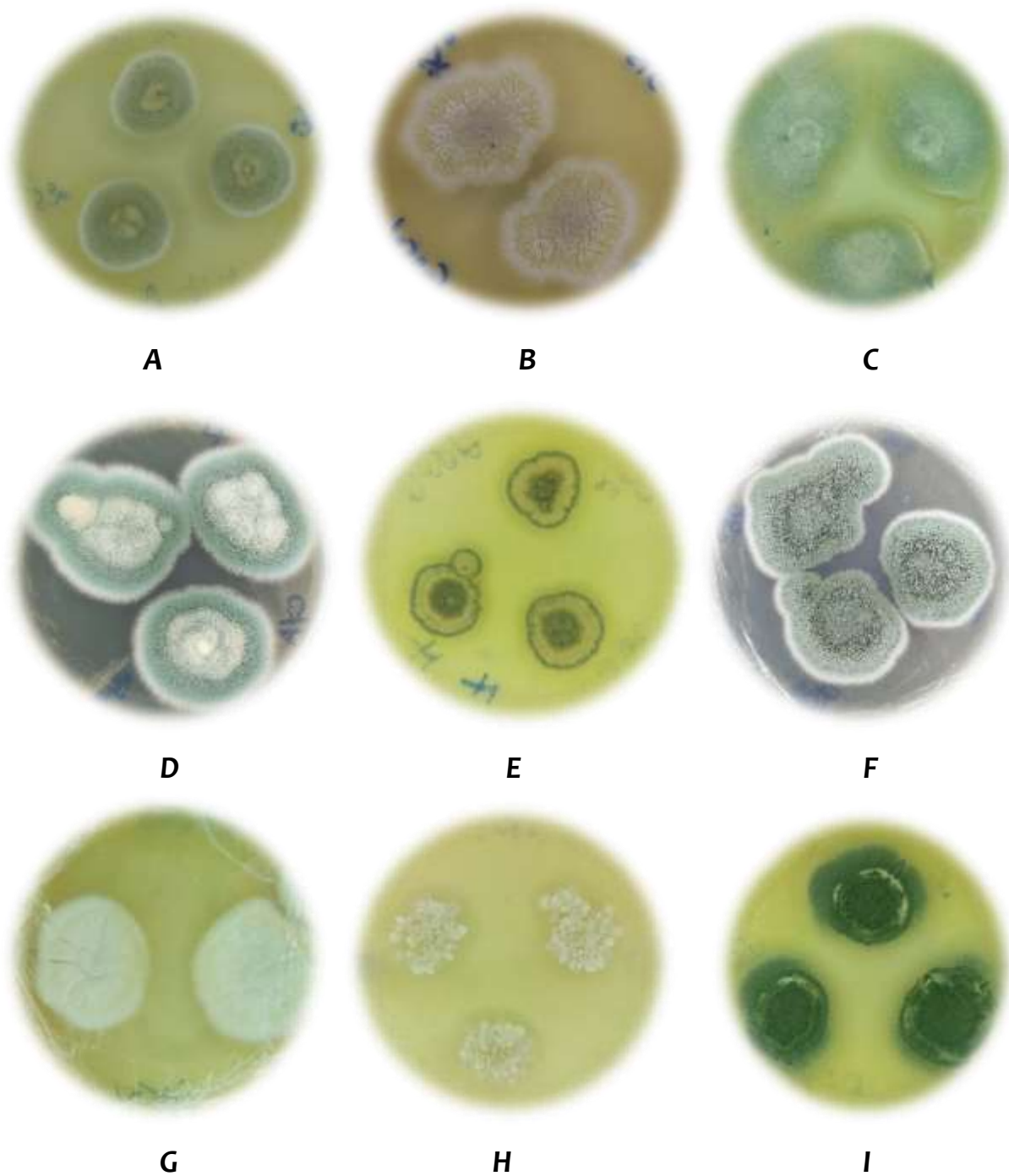
A/VO9 sur milieu MEA B/VO9 sur milieu G25N C/VO9 sur milieu CYA à 25°C  
 D/ VO9 sur milieu PDA à 25°C E/ GCB22 sur milieu MEA F/ GCB22 sur milieu G25N  
 G/ GCB22 sur milieu CYA à 25°C H/ GCB22 sur milieu CYA à 37°C I/ GCB22 sur milieu  
 DCPA J/ GCB22 sur milieu PDA K/ BCV25 sur milieu MEA L/ BCV25 sur milieu G25N  
 M/ BCV25 sur milieu CYA à 25°C N/ BCV25 sur milieu DCPA O/ BCV25 sur milieu PDA  
 P/ JD4 sur milieu MEA Q/ JD4 sur milieu CYA à 25°C R/ NP5 sur milieu MEA  
 S/ NP15 sur milieu G25N T/ NP15 sur milieu PDA U/ VO9 sur milieu CYA à 37°C.

Tableau 4 : Caractérisations macroscopiques des isolats des *Penicillium* spp.

<b>Lecture macroscopique</b>							
Isolats	Milieux	Couleur		Contour	Texture	Pigment- ation du milieu	Diamètre (cm)
		Au recto	Au verso				
BT 6	MEA 25°C	Vert clair	Blanc	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	5.5
	G25N 25°C	Jaune pâle	Blanc	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	3
	CYA 25°C	Bleu clair	Beige	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	5.5
	CYA 37°C			--			
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Vert	Beige	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	5.5
	PDA 25°C	Bleu+ sclérote	Blanc	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	6
	VS 7	MEA 25°C	Blanc verdâtre	Blanc	Circulaire	Duveteuse	Abs
G25N 25°C		Blanc jaunâtre	Blanc	Circulaire	Duveteuse	Abs	3
CYA 25°C		Blanc verdâtre	Orange	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	6
CYA 37°C				--			
CYA 5°C				--			
DCPA 25°C		Vert	Beige	Circulaire jaune	Duveteuse	Abs	3.5
PDA 25°C		Bleu+ sclérote	Blanc	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	6
BT 20		MEA 25°C	Blanc	Jaune	Circulaire	Duveteuse	Abs
	G25N 25°C	Blanc avec fissures	Blanc	Circulaire	Duveteuse	Abs	3
	CYA 25°C	Blanc	Beige	Circulaire	Duveteuse	Abs	5.5
	CYA 37°C			--			
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Blanc grisâtre	Beige	Circulaire	Duveteuse	Abs	3.5
	PDA 25°C	Vert	Jaune	Circulaire	Duveteuse	Abs	6.5

### **Groupe 2 des *Penicillium* spp.**

Il regroupe les isolats ayant des colonies de couleur vert clair, jaune pâle, bleu clair, ou blanc avec généralement une marge blanche. La texture des colonies est duveteuse. Les isolats généralement appartenant à ce groupe ne produisent pas de pigment diffusible. Le diamètre des colonies est rangé entre 3 et 6.5 cm après 7 et 14 jours d'incubation. Ces caractéristiques sont identiques à ceux de *Penicillium* sp. .



**Figure 17 :** Aspects macroscopiques des colonies des *Penicillium* spp.

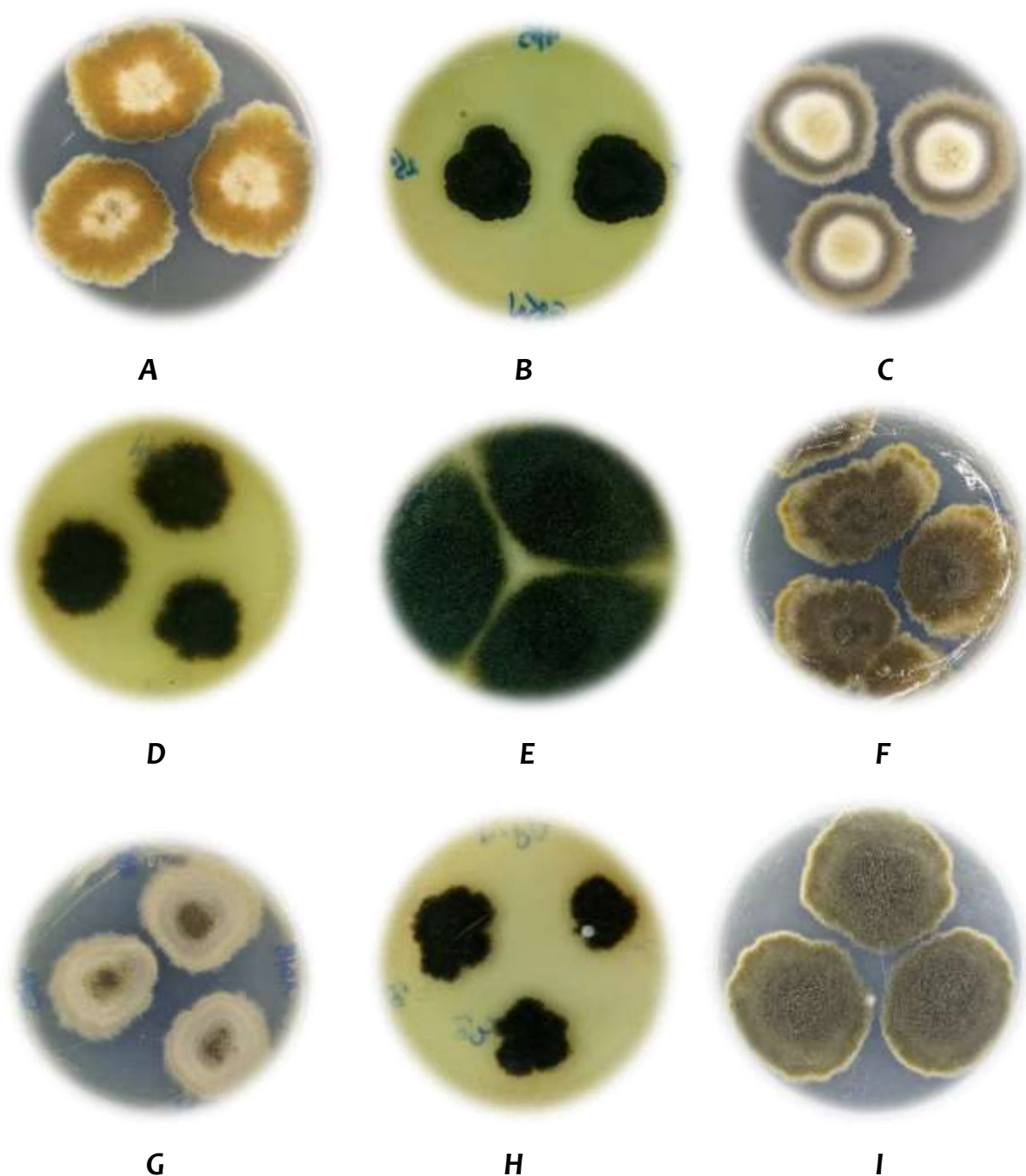
A/BT6 sur milieu MEA B/BT6 sur milieu G25N C/VS7 sur milieu MEA  
 D/ VS7 sur milieu CYA à 25°C E/ VS7 sur milieu DCPA F/ VS7 sur milieu PDA  
 G/BT20 sur milieu G25N H/ BT20 sur milieu DCPA I/ BT20 sur milieu PDA.

Tableau 5 : Caractérisations macroscopiques des isolats des *Ulocladium* spp.

<b>Lecture macroscopique</b>							
Isolats	Milieux	Couleur		Contour	Texture	Pigmentation du milieu	Diamètre (cm)
		Au recto	Au verso				
VFO 11	MEA 25°C	Orange	Marron	Circulaire jaune	Duveteuse	Abs	6.5
	G25N 25°C	Vert foncé	Noir	Circulaire	Duveteuse	Abs	2.5
	CYA 25°C	Beige	Beige	Circulaire Vert foncé	Duveteuse	Abs	6
	CYA 37°C			--			
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Marron foncé	Noir	Circulaire	Duveteuse	Abs	5.5
	PDA 25°C	Vert foncé	Blanc	Irrégulier	Duveteuse	Abs	7.5
G 23	MEA 25°C	Vert olive foncé	Noir	Irrégulier vert clair	Duveteuse	Abs	6.5
	G25N 25°C			--			
	CYA 25°C	Gris avec un centre vert	Gris	Circulaire	Duveteuse	Abs	6
	CYA 37°C			--			
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Vert foncé	Noir	Irrégulier	Duveteuse	Abs	3
	PDA 25°C	Vert olive foncé	Noir	Circulaire jaune	Duveteuse	Abs	6

### Groupe 3 des *Ulocladium* spp.

Ce groupe est représenté par deux isolats qui a produit des colonies de couleur orange, vert foncé, marron foncé, beige, gris avec un centre vert ou vert olive foncé , avec une marge jaune ou verte , et une texture duveteuse . Le diamètre des colonies était entre 2.5 et 6.5 cm après 7 et 14 jours d'incubation. Ces caractéristiques sont similaires à ceux d'*Ulocladium* sp. .



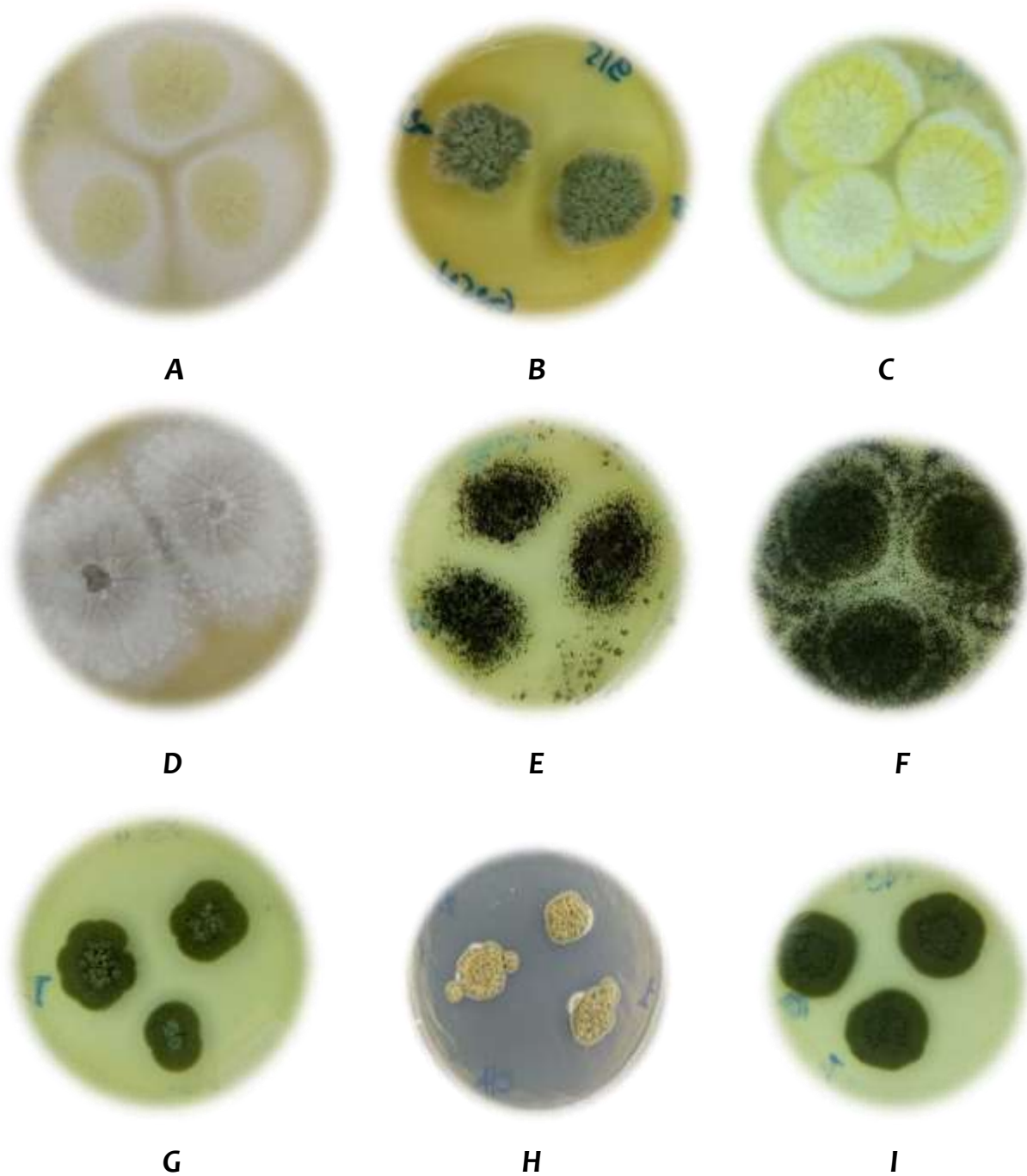
**Figure 18 :** Aspects macroscopiques des colonies des *Ulocladium* spp.  
 A/VFO11 sur milieu MEA B/VFO11 sur milieu G25N C/VFO11 sur milieu CYA à 25°C  
 D/VFO11 sur milieu DCPA E/VFO11 sur milieu PDA F/G23 sur milieu MEA  
 G/G23 sur milieu CYA à 25°C H/G23 sur milieu DCPA I/G23 sur milieu PDA.

Tableau 6 : Caractérisation macroscopiques des isolats des *Cladosporium* spp.

<b>Lecture macroscopique</b>							
Isolats	Milieux	Couleur		Contour	Texture	Pigment- ation du milieu	Diamètre (cm)
		Au recto	Au verso				
VFO 24	MEA 25°C	Jaune	Blanc	Circulaire blanc	Cotonneuse	Abs	6.5
	G25N 25°C	Vert grisâtre	Jaune	Circulaire	Granuleuse	Abs	3
	CYA 25°C	Jaune avec fissures	Beige	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	6
	CYA 37°C	Gris	Jaune	Circulaire blanc	Duveteuse		7
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Noir	Beige	Circulaire	Poudreuse	Abs	5.5
	PDA 25°C	Noir	Vert	Circulaire	Poudreuse	Abs	7.5
VFO 1	MEA 25°C	Vert olive foncé	Noir	Irrégulier	Duveteuse	Abs	3
	G25N 25°C	Vert olive foncé	Noir	Circulaire	Duveteuse	Abs	2
	CYA 25°C	Vert olive	Noir	Circulaire	Granuleuse	Abs	2.5
	CYA 37°C			--			
	CYA 5°C			--			
	DCPA 25°C	Noir	Noir	Irrégulier	Granuleuse	Abs	2
	PDA 25°C	Vert foncé	Noir	Circulaire	Duveteuse	Abs	6

#### Groupe 4 des *Cladosporium* spp.

Ce groupe est représenté par deux isolats. Les colonies des isolats appartenant à ce groupe ont présenté une texture cotonneuse, granuleuse, poudreuse ou duveteuse, avec une marge blanche chez certaines colonies. Les colonies n'ont produit pas un pigment diffusible. Le diamètre des colonies varie du 2 à 7 cm. Ces caractéristiques sont similaires à ceux de *Cladosporium* sp. .



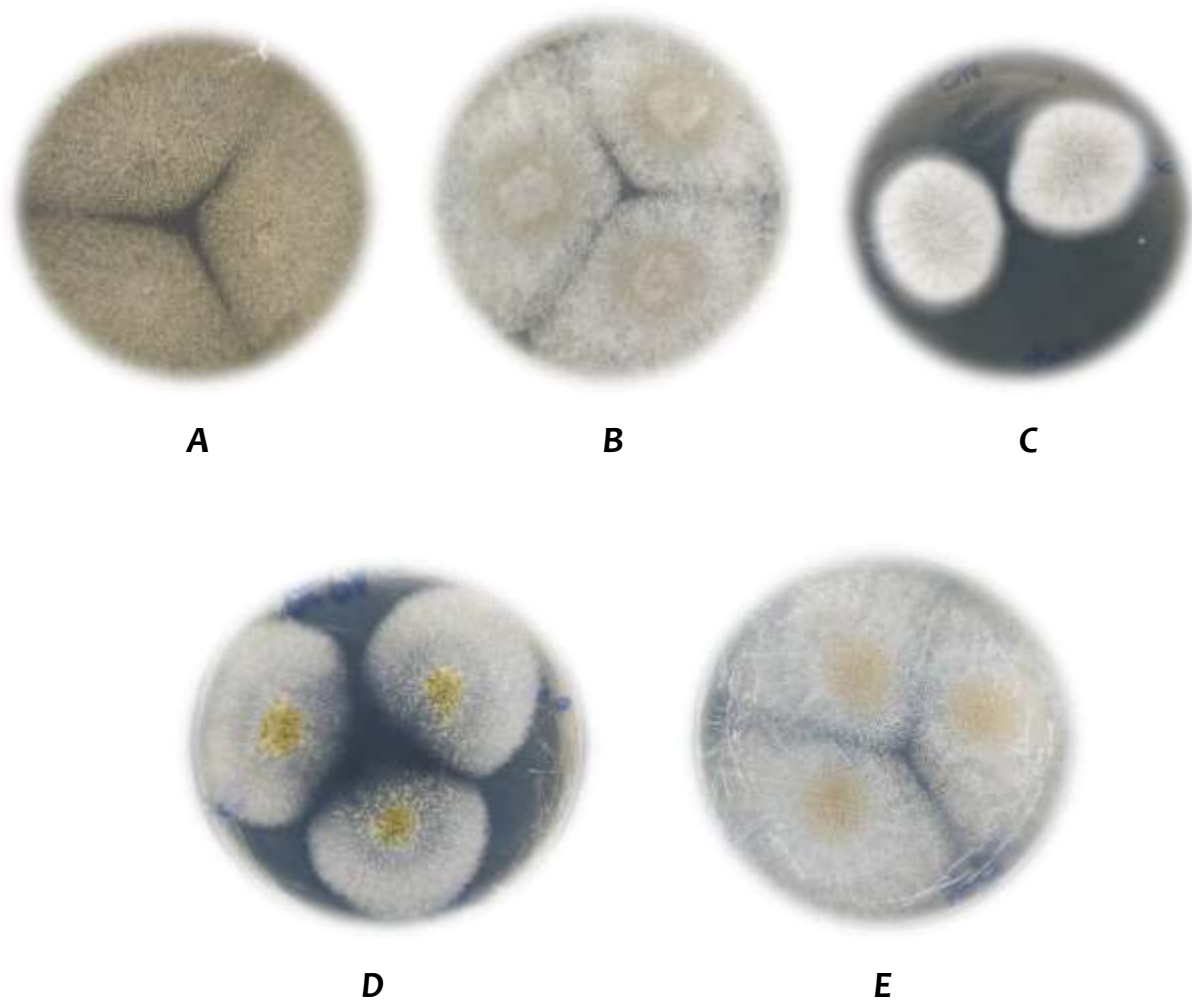
**Figure 19 :** Aspects macroscopiques des colonies des *Cladosporium* spp.  
 A/VOF24 sur milieu MEA B/ VOF24 sur milieu G25N C/ VOF24 sur milieu CYA à 25°C  
 D/ VOF24 sur milieu CYA à 37°C E/ VOF24 sur milieu DCPA F/ VOF24 sur milieu PDA  
 G/VOF1 sur milieu MEA H/ VOF1 sur milieu CYA à 25°C I/ VOF1 sur milieu PDA.

Tableau 7 : Caractérisation macroscopiques des isolats de *Mucor* sp.

<b>Lecture macroscopique</b>							
Isolats	Milieux	Couleur		Contour	Texture	Pigment- ation du milieu	Diamètre (cm)
		Au recto	Au verso				
<b>BT 8</b>	MEA 25°C	Beige	Beige	Irrégulier	Cotonneuse	Abs	6.5
	G25N 25°C			--			
	CYA 25°C	Beige	Blanc	Circulaire gris	Cotonneuse	Abs	6.5
	CYA 37°C	Gris avec fissures	Vert clair	Circulaire blanc	Duveteuse	Abs	7
	CYA 5°C			--			
	D CPA 25°C	Jaune	Blanc	Circulaire blanc	Cotonneuse	Abs	6
	PDA 25°C	Jaune clair	Vert clair	Irrégulier blanc	Cotonneuse	Abs	7.5

#### Groupe 5 de *Mucor* sp.

Ce groupe est représenté par un seul isolat qui a produit des colonies de couleur beige, gris ou jaune, avec une texture cotonneuse à duveteuse, la croissance des colonies étaient élevée (>6 cm), après sept 7 et 14 jours d'incubation. L'isolat n'a produit pas un pigment diffusible dans les différents milieux. Ces caractéristiques sont similaires à ceux de *Mucor* sp. .



**Figure 20 :** Aspect macroscopique des colonies de *Mucor* sp.  
A/BT8 sur milieu MEA B/BT8 sur milieu CYA à 25°C C/BT8 sur milieu CYA à 37°C  
D/BT8 sur milieu DCPA E/BT8 sur milieu PDA.

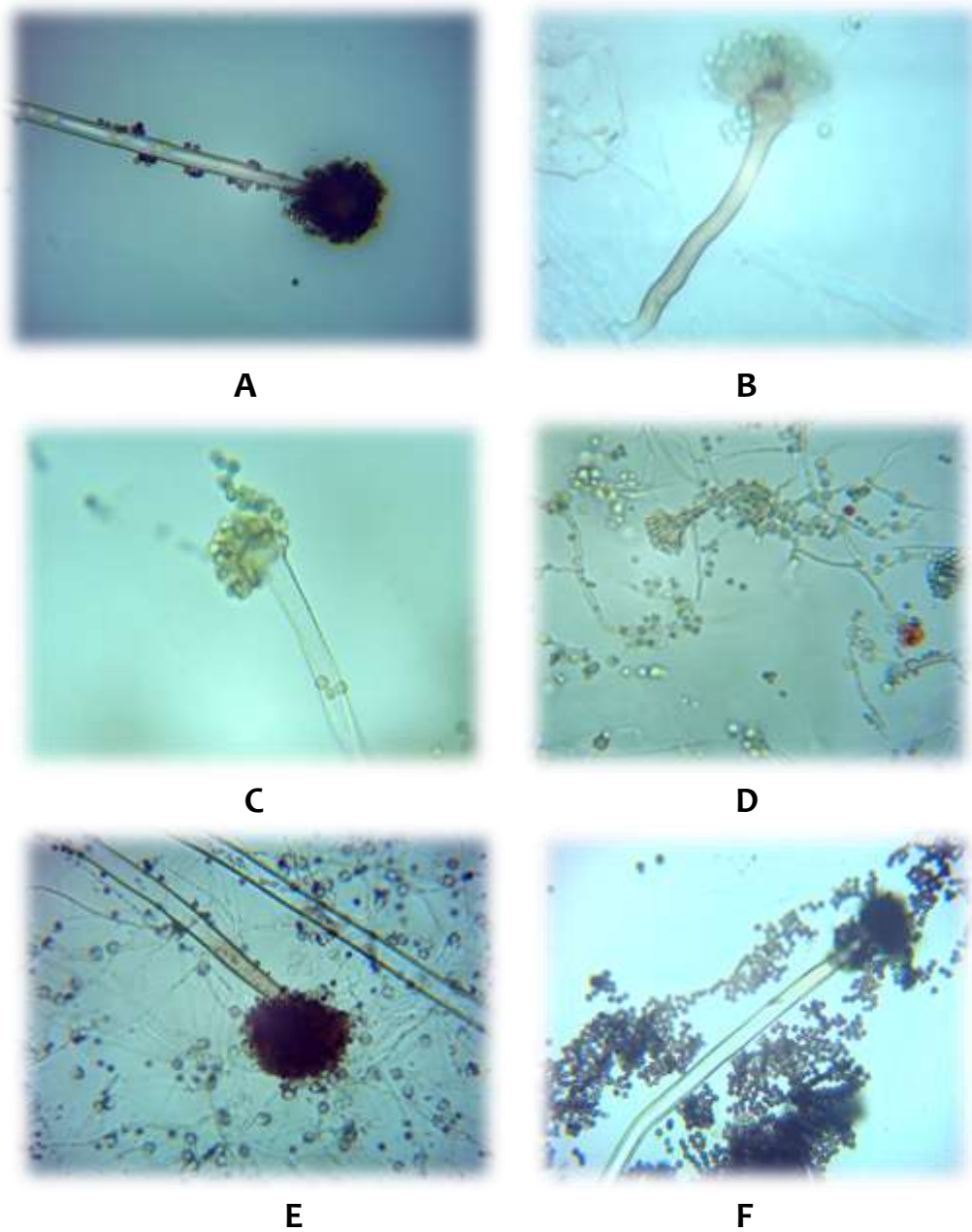
## b. Identification microscopique

Tous les isolats ont également soumis à une identification microscopique sur la base de leurs caractéristiques morphologiques. Cette identification étant fondée essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (absence ou présence de cloisons, couleur, différenciation) et des spores (forme, couleur, texture de parois).

D'après les caractéristiques obtenues, les isolats ont été classés en cinq (5) groupes morphologiques : *Aspergillus* sp. , *Penicillium* sp. , *Ulocladium* sp. , *Cladosporium* sp. , et *Mucor* sp. . Les résultats obtenus ont été rassemblés dans les figures 21, 22, 23, 24, et 25.

### Groupe 1 des *Aspergillus* spp.

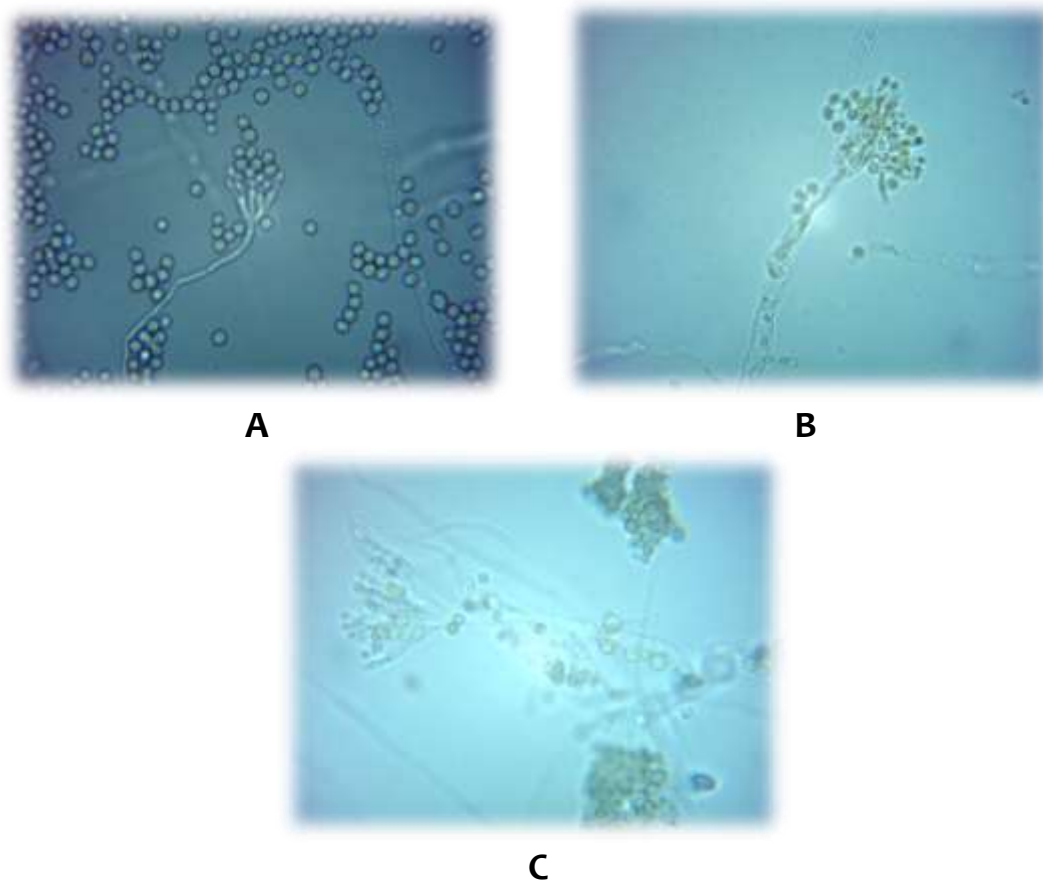
Les *Aspergillus* sont caractérisés par un thalle végétatif formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. L'identification des *Aspergillus* reposera sur la mise en évidence des têtes aspergillaires à l'examen microscopique des colonies. Les conidiospores se terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides. Les spores sont toujours unicellulaires, de forme variable, globuleuse, subglobuleuse ou elliptique. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule (têtes unisériées), ou portées par des petits articles insérées sur la vésicule (tête bisériées), ces observations similaires ont été décrites par (CHABABSSE et al., 2002).



**Figures 21 :** Aspects microscopiques des *Aspergillus* spp.  
A/VO9(x40) B/BCB22(x100) C/BCV25(x40) D/JD4(x40) E/NP5(x40)  
F/NP15(x40).

 **Groupe 2 des *Penicillium* spp.**

Les hyphes septés, hyalins, portent des conidiophores simples ou ramifiés, parfois regroupés en buisson ou corémie. Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Elles sont insérées directement (penicillium monoverticillés) ou par l'intermédiaire d'une rangée de métules (penicillium biverticillés) ou de deux rangées successifs de métules (triverticillées) sur les conidiophores. Les phialides sont serrées les unes contre les autres, l'ensemble donne une image de pinceau (ou pénicille). Les phialides sont serrées l'une contre les autres, l'ensemble donne une image de pinceau (ou pénicille). Les phialides donnent naissance à des spores unicellulaires disposées en chaînes (chaînes basipètes, non ramifiées). Les conidies sont rondes à ovoïdes, hyalines ou pigmentées, lisses ou échinulées (CHABASSE *et al.*, 2002).

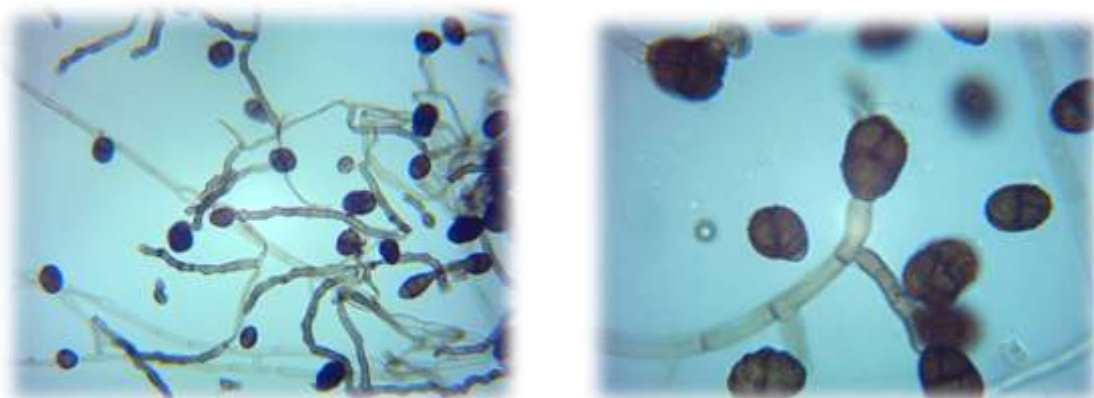


**Figures 22 :** Aspects microscopiques des *Penicillium* spp.

A/BT6(x100) B/VS7(x100) C/BT20(x100).

### ✚ Groupe 3 des *Ulocladium* spp.

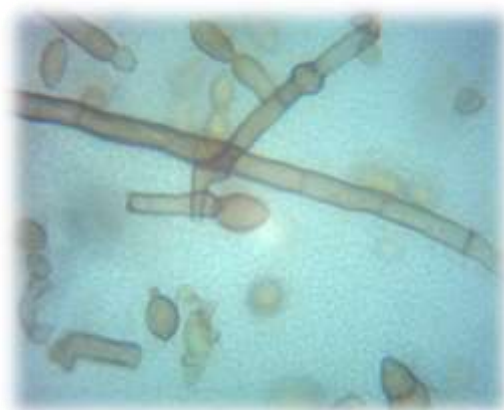
Le genre *Ulocladium* a des hyphes septés, bruns, naissent de courts conidiophores septés, non ramifiés, fortement géiculés. Les conidies (ou prospores) sont brunes, ovoïdes, à paroi lisse ou rugueuse, produites isolément (rarement en chaînes), elles mesurent 3 à 30  $\mu\text{m}$  de long sur 6 à 19  $\mu\text{m}$  de large et sont cloisonnées à la fois longitudinalement et transversalement (dictyospores). Elles sont plus larges à la partie distale qu'à la partie proximale où se trouve la cicatrice de libération (CHABASSE *et al.*, 2002).

**A****B**


**Figures 23 :** Aspects microscopiques des *Ulocladium* spp.  
A/VFO11(x40) B/G23(x100).

#### Groupe 4 *Cladosporium* spp.

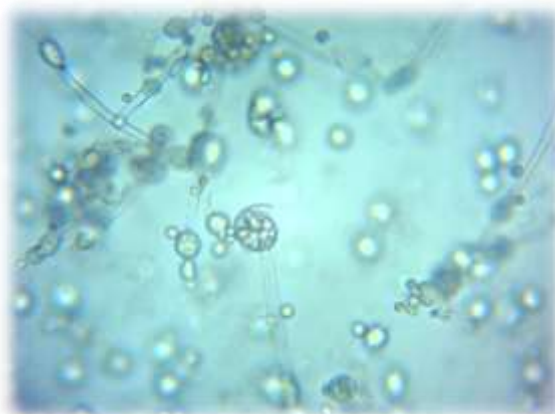
Les *Cladosporium* ont une multiplication végétative, avec des hyphes septés, pigmentés. Ils produisent des conidiophores (encore plus foncés) de longueur variable. Les premières conidies formées à l'extrémité des conidiophores sont de grande taille, uni ou pluricellulaires, les suivantes sont plus petites et unicellulaires. L'ensemble forme de longues chaînes acropètes, ramifiées, réalisant des arbuscules fragiles qui se dissocient lors du montage. La paroi des conidies, de formes généralement elliptique à cylindriques, est lisse ou finement verruqueuse et présente souvent aux extrémités des cicatrices de bourgeonnement ou de libération (CHABASSE *et al.*, 2002).

**A****B**

**Figures 24 :** Aspects microscopiques des *Cladosporium* spp.  
A/VFO11(x40) B/G23(x100).

 **Groupe 5 Mucor sp.**

Les *Mucor* ont des filaments larges peu ou pas septés, n'ont pas de stolons ni rhizoïdes, sporocystophores issus le plus souvent du thalle végétatif .Ils se terminent par une columelle ovoïde sans apophyse et présentent souvent un rétrécissement sous la columelle, ils sont sporocyste globuleux. Ils ont des spores rondes à ellipsoïdales, lisse ou ornementées de spicules (CHABASSE *et al.*,2002).



**A**

**Figures 25 : Aspect microscopique de Mucor sp.  
A/BT8(x40).**

---

## ***Partie 4: Discussion***

---

De par le monde, les consommateurs s'intéressent de plus en plus à la qualité spécifique des produits agricoles et alimentaires, et en particulier recherchent des produits typiques ou produits du terroir dont la qualité est liée à l'origine, au travers du savoir-faire et des ressources naturelles locales mobilisées. L'Algérie est un pays vaste avec une forte diversité culturelle et géographique. Ce qui se reflète bien par une mosaïque de territoires et de produits spécifiques de terroir, L'Algérie disposait de produits du terroir d'une excellente qualité tels que le couscous artisanal fait l'objet de notre étude expérimentale.

Le couscous n'est pas seulement le "plat national" mais il fait partie de la vie quotidienne de la famille algérienne ; il faut signaler aussi la richesse de cet aliment en amidon ce qui augmente son apport énergétique (354 Kcal/100g), et la présence de certaines protéines nécessaires pour l'organisme. L'objectif de cette étude est de caractériser le couscous artisanal de la wilaya de Naâma située au sud-ouest algérien, région pastorale steppique à climat plus en plus aride. La caractérisation de ce produit à visé de donner un petit aperçu sur ce couscous artisanal de point de vue microbiologique et mycologique pour une meilleure visibilité de ce produit. Pour mener à bon, cette étude il a été question de réaliser une étude caractéristique globale de trois échantillons élaborés à partir d'un seul type du couscous artisanal (couscous moyen qui le produit fini), prélevés de trois régions de la wilaya de Naâma (Mécheria, El biod et Ain sefra).

L'exploitation des résultats d'analyse microbiologique des échantillons du couscous artisanal a permis de donner une idée sur la charge microbienne présente pour le produit analysé.

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale sur PCA a montré une charge microbienne variable moyennement élevée pour le troisième échantillon avec une valeur de  $2.6 \times 10^4$  UFC/mL en le comparant avec les deux autres échantillons , qu'ils ont montré une charge de  $1.7 \times 10^4$  UFC/mL et  $1.3 \times 10^4$  UFC/mL respectivement ce qui a reflété un degré de contamination faible pour les deux derniers. Les résultats de dénombrement de la FAMT de nos échantillons ont été proche à celle signalé par **ENNADIR et al., (2012)** dans une étude sur la qualité microbiologique des farines de blé consommées au Maroc dont une moyenne de dénombrement en FAMT de  $4 \times 10^4$  UFC/g et de  $2.5 \times 10^4$  UFC/g .

Nos résultats restent loin à celle mentionné par **N'GORAN et al.,( 2018)** dans une étude sur la qualité microbiologique des farines de maïs commercialisées sur les marchés de la ville d'Abidjan dont une charge minimale de  $1,2 \times 10^7$  UFC/g. Mais l'ensemble des résultats reste Conforme à la norme **NF ISO 712. (2010)**, et à la réglementation Algérienne des céréales et produits dérivés **ARRETE N° 39 (2017)**.

Le taux de FAMT est un indice qui reflète l'application rigoureuse et le respect des conditions d'hygiène dès la récolte de blé (matière première) jusqu'à l'obtention du couscous artisanal (produit fini).

Les coliformes totaux et les coliformes thermotolérants ont été absents dans les trois échantillons du couscous artisanal analysé. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que cette flore est absente ou probablement inhibée par d'autres facteurs présents dans ce couscous tel que des substances à activité antimicrobienne qui sont produits par des ingrédients ajoutés lors de sa conservation, ou la pré-cuisson du couscous (traitement thermique) durant sa fabrication selon **CHEMACHE et al.,(2018)**. Nos résultats sont similaires à ce **DOUKANI (2013)**, qui n'a déclaré aucun résultat positif pour le couscous à base des glands . Les résultats des coliformes sont largement loin à celle obtenus par **N'GORAN et al.,( 2018)** ( $7.1 \times 10^2 - 3.2 \times 10^5$  UFC/mL).

Les résultats du dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants de nos échantillons ont été conformes aux seuils déterminés par la norme **NF ISO 11664-4. (2008)**, et à la réglementation Algérienne des céréales et produits dérivés **ARRETE N° 39 (2017)**.

Cette absence est due à la faible activité d'eau car les germes totaux ne peuvent se développer en cas d'activité d'eau basse **DOUKANI (2013)**.

L'absence totale des *Staphylococcus aureus* a été notée pour les trois échantillons analysés. Nos résultats sont presque similaires de **ENNADIR et al., (2012)** , et de **N'GORAN et al.,( 2018)** qui n'ont déclaré aucun résultat positif sur la recherche des espèces pathogènes. Cette absence de la flore pathogène peut être expliquée par le traitement thermique du couscous, voir même à l'activité antibactérienne des ingrédients ajoutés lors de sa conservation, **CHEMACHE et al., (2018)** .

Pour ce qui de l'évaluation de la présence des *Clostridium* sulfito-réducteurs, une moyenne de 2 UFC/mL à 5 UFC/mL a été signalé pour l'ensemble des trois échantillons du couscous artisanal. Ces valeurs sont supérieures en comparaison avec les résultats de **DOUKANI (2013)**, dont une absence totale des *Clostridium* sulfito-réducteurs pour le couscous à base des glands a été constatée, et au résultats de **N'GORAN et al.,( 2018)** dans une étude sur la qualité microbiologique des farines de maïs commercialisées sur les marchés de la ville d'Abidjan. Ces germes rencontrés dans le sol se retrouvent dans la matière première au cours du séchage (**N'GORAN et al., 2017**) et persistent grâce à leur aptitude à sporuler. Des résultats similaires ont été rapportés par **MALETE et al., (2013)**, et **YAO et al., (2015)** .

Les résultats du dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs de nos échantillons ont été inférieurs aux seuils déterminés par la norme **NF ISO 11664-4. (2008)**, et à la réglementation Algérienne de couscous et pâtes alimentaires **ARRETE N° 39 (2017)**. Ceci peut être alloué au respect des pratiques d'hygiène lors de la préparation du couscous.

En revanche, les résultats obtenus du dénombrement des levures et moisissures dans les trois échantillons du couscous artisanal présentent une moyenne de  $0.7 \times 10^2$  UF/ml,  $1.3 \times 10^2$  UF/mL et  $5.6 \times 10^2$  UF/mL respectivement. Les résultats de dénombrement des levures et moisissures de nos échantillons ont été inférieurs à ceux signalé par **DOUKANI (2013)**,  $3 \times 10^2$  UF/mL pour le couscous à base des glands, et par **N'GORAN et al.,( 2018)** , $10^3$  UF/g . Ce nombre considérable pourrait être la cause d'une altération à court terme de ces farines et conduire à des intoxications alimentaires suite à la formation de mycotoxines (**N'TULI et al., 2013**) . Les sources d'une telle contamination sont multiples mais dans le cas des meuneries traditionnelles, la prolifération des germes est due à la formation des résidus de farine de diverses origines dans les machines de fraisage et à la forte humidité des graines de maïs (**N'GORAN et al., 2017**) . Ces résultats ont été inférieurs aux seuils déterminés par la norme **NF ISO 7954. (1988)**, et à la réglementation Algérienne de couscous et pâtes alimentaires **ARRETE N° 39 (2017)**.

D'après les résultats obtenus, on peut conclure que le produit est propre à la consommation du point de vue de son statut microbiologique.

Les céréales sont des denrées alimentaires fréquemment contaminées par les moisissures, la contamination peut avoir lieu avant la récolte, au champ, au cours du séchage, ou au cours du stockage des grains et au cours de sa transformation.

La qualité du couscous dépend en premier lieu de la qualité du blé dur (semoule) dont il provient. Le couscous et les dérivés de blé peuvent être considéré susceptibles d'être contaminés par les moisissures, en effet les conditions de stockage : température et humidité sont des conditions propices au développement des souches fongiques (**TAHANI et al., 2008**).

Dans notre étude, nous avons essayé d'étudier la diversité fongique contaminée un produit dérivé des céréales en l'occurrence le couscous préparé de façon artisanale et de voir l'impact de la fabrication artisanale sur cette diversité fongique. Il a été aussi question d'identifier les principaux acteurs de cette diversité fongique et d'essayer de voir le profil toxicologique de ces propagules fongiques. Différents milieux de culture était cernés dans cette partie pratique : PDAA (qui est un milieu organique à base de jus de pomme de terre et d'agar, ce qui favorise la sporulation des moisissures), CDA (milieu minérale), et MEA (milieu organique).

L'analyse mycologique de couscous artisanal a révélé une contamination fongique de l'ensemble de nos échantillons par un cortège fongique représenté par cinq groupes taxonomiques très caractéristique par leurs aspects macroscopiques et microscopique à savoir : *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. *Ulocladium* sp. *Cladosporium* sp. et *Mucor* sp. .

Globalement, les résultats obtenus montrent une nette dominance de genres *Aspergillus* sp. et *Penicillium* sp. Nous avons comparés nos résultats avec le blé étant que le couscous est un produit composé de semoule de blé (matière première).

Donc, La flore fongique totale du blé tendre stocké est constituée essentiellement de moisissures filamenteuses, très sporulantes, dotées d'un grand pouvoir de dissémination dont les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les plus rencontrés. Ces genres de moisissures que nous avons pu identifier sont des contaminants des denrées alimentaires maltraitées mais surtout mal conservées, ils sont considérés comme contaminants de stockage des céréales et leurs dérivés (**BERTHIER & VALLA, 1998 ; MULTON, 1982**).

La dominance du genre *Aspergillus* dans la flore contaminante des céréales a été reportée dans plusieurs travaux (**RIBA et al., 2005 ; BARS & BARS, 1987**). Ainsi, les espèces du genre *Aspergillus* sont considérées comme des moisissures de stockage (**WITHLOW & HAGLER, 2001**). La fréquence de *Penicillium* sp est remarquée toujours importante grâce au grand pouvoir de dissémination des spores dans l'air ambiant (**BARS, 1984**).

L'abondance des deux genres *Cladosporium* sp. et *Ulocladium* sp. a été moins importante par rapport à la forte incidence des *Aspergillus* et des *Penicillium* considérés comme agents dominants au cours de stockage. Les *Cladosporium* et les *Ulocladium* appartiennent beaucoup plus à une flore intermédiaire des propagules fongiques dotés de développement limité. Ces propagules peuvent par contre largement prédominés au cours des conditions très particulières, notamment dans des grains secs, c'est le cas des *Cladosporium*, et *Thricoderma* selon (**GODON & LOISEL, 1997**).

Selon (**GACEM, 2011**) ces acteurs fongiques *Cladosporium* sp. , *Thricoderma* sp., et surtout *Ulocladium* sp. ont une faible présence sur les céréales, et donc dans ce fêta le couscous et sont beaucoup plus détectés dans les grains de blé non traités appartiennent à la flore du champ et la flore intermédiaire.

Un dernier groupe a marqué sa présence sur notre étude, celui des *Mucor* sp. En effet (**BRETON & LARPENT, 1990**) rapportent que des *Mucor* sp. , (*Absidia*, *Mucor*, et *Rhizopus*) considérés comme champignons peu cellulotiques et non osmophiles, peuvent se retrouvés sur des grains très altérés .

Dans l'ensemble, le taux de contamination élevé, ainsi que la biodiversité assez importante constatés dans les différentes variétés du blé tendre peuvent être expliqués probablement par la qualité, la durée et les conditions de stockage (**DAVIS & DIENER, 1987**).

L'altération des céréales durant le stockage a été largement étudiée dans la littérature (**TAHANI et al., 2008**). La contamination fongique compte parmi les principales causes de détérioration des grains de céréales. Lors de la contamination du blé, les paramètres régulant la croissance fongique et qui permettraient la production de toxines sont nombreux. On cite principalement la charge initiale en microflore, la présence de grains brisés, le taux d'humidité et la température de stockage des grains (**ZIA RAHMAN, 2006**).

Les altérations induites par cette flore peuvent mettre en danger la santé du consommateur, à travers la dépréciation du grain sur le plan nutritionnel et hygiénique. Parmi ces altérations, on peut citer les modifications organoleptiques, la perte de matière sèche et enfin la synthèse de métabolites secondaires toxiques tel que les mycotoxines. Les mycotoxines sont responsables d'intoxications aiguës parfois mortelles, notamment chez les animaux d'élevage. L'homme est particulièrement concerné par le risque d'intoxication chronique en raison de la présence dans son alimentation de traces de certains de ces contaminants qui sont génotoxiques et cancérogènes (**DRAGACCI, 1999**).

---

## ***Conclusion Générale***

---

Au cours de cette étude, menée sur la caractérisation de la diversité fongique pouvant contaminer un produit dérivé des céréales, nous avons choisis un produit algérien très prisé dans la wilaya de Naâma à savoir le couscous artisanal, l'objectif identifié fut l'évaluation de la qualité microbiologique et mycologique de ce produit.

Pour répondre à cet objectif, trois échantillons représentatifs de trois régions de la wilaya de Naâma ont été analysés.

L'investigation microbiologique des germes indicateurs de la qualité hygiénique ont été dénombrés dans tous les échantillons avec des charges largement inférieures à la norme, constitue principalement de la flore aérobie mésophile totale ( $2.6 \times 10^4$  à  $1.3 \times 10^4$  UFC/mL), avec une absence totale des coliformes totaux et des coliformes thermotolérants. Et une charge de  $0.7 \times 10^2$  UF/mL et  $5.6 \times 10^2$  UF/mL de levure et moisissures. Au niveau de la qualité sanitaire, les *Clostridium sulfite-réducteurs* ont été dénombrés en dessous du critère (moins de 100 UFC/g) dans les trois échantillons, avec une absence totale des *Staphylococcus aureus*. Ce qui nous a permis de garantir la sécurité et la salubrité de nos échantillons.

Selon l'analyse mycologique effectuée sur les trois échantillons du couscous artisanal, l'isolement, la purification et l'identification des isolats ont donné la possibilité d'identifier cinq genres de moisissures : *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Cladosporium sp*, *Ulocladium sp*, et *Mucor sp* avec une dominance du genre *Aspergillus* dans les trois échantillons.

Le genre *Aspergillus sp* a été retrouvé dans les trois échantillons analysés avec une fréquence et une abondance élevée suivi de *Penicillium sp*, *Cladosporium sp*, et *Ulocladium sp* qui sont peu fréquents. Et enfin, le genre *Mucor sp* qui est le moins fréquent.

Nous avons remarqué que l'influence d'ajout des ingrédients par les ménagères au cours de la conservation du couscous artisanal tels que le poivre noir ou rouge, la feuille de laurier, le giroflier, ou l'halite (sel gemme) pour but d'augmenter la durée de conservation et pour améliorer la qualité organoleptique du couscous, agit positivement sur l'aspect sanitaire de produit analysé et sur l'abondance et la diversité fongique pouvant le contaminé.

Il était intéressant de pouvoir étudier plus et continuer à :

- ✚ Identifier les espèces représentant les genres identifiés,
- ✚ Rechercher des espèces productrices de mycotoxines afin de réduire la contamination de ce produit par les moisissures et les mycotoxines,
- ✚ Tester l'activité antifongique des ingrédients ajoutés au cours de la conservation du couscous artisanal grâce au savoir-faire des femmes de la wilaya de Naâma.

A l'issue de cette étude et afin d'élucider certains points restés peu claires, il apparaît nécessaire d'effectuer d'autres études approfondies qui se résument dans les points suivants :

- ✚ Valorisation de ces produits du terroir pour une gestion durable de bio-ressources caractéristiques de la région.
- ✚ Amélioration et validation des procédures de fabrication de ces produits en incluant les systèmes d'assurance qualité pour une meilleure visibilité nationale et internationale.
- ✚ Intégration du couscous artisanal dans la réglementation algérienne afin de protéger les consommateurs sachant que ce produit est commercialisé.
- ✚ Identification moléculaire des souches fongiques isolées du couscous artisanal pour connaître leur origine et leur toxicité (et même la possibilité de mutation).
- ✚ Caractérisation de la flore fongique par des méthodes plus spécifiques.
- ✚ Réalisation d'une étude toxicologique de ces propagules fongique.

---

## ***Références Bibliographiques***

---

- ✓ Adl s.m, simpson a.g, farmer m.a, andersen r.a et al. (2005). The new higher-level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of eukaryotic microbiology* 52, 399-451.
- ✓ Afnor 6eme ed. 325-334. 296.nf iso 4833, 1991 nf iso 4833 (1991). *Microbiologie alimentaire – directives générales pour le dénombrement des micro-organismes - méthode par comptage des colonies obtenues a 30°C.* 297.
- ✓ Afnor, 1991. *Contrôle de la qualité des produits alimentaire. Recueil des normes françaises .3ème edition.*afnor, france.360 pages.
- ✓ Afssaps : agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (2008).
- ✓ Ahmed boual., a. Moussaoui, a. Touzi., janvier 2011, isolement et identification de souches de moisissures réputées toxigènes dans le blé local stocké traditionnellement dans la région d'adrar. *Recherche agronomique n° 24 – 2011, ( 49-60) pages.*
- ✓ Badillet g., de brieve c., gueho e., (1987), *champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, atlas clinique et biologique, vol ii, ed varia, paris.*
- ✓ Bahchachi n. (2002). *Incorporation du gluten de maïs dans la fabrication de deux produits céréaliers traditionnels : trida et couscous. Thèse de magister. Dnataa. Université de constantine. 134 p.*
- ✓ Barnett, h.l. & hunter, b.b., 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi. 3thed, burgess publishing company, minnesota, pp. 62- 197.*
- ✓ Bejaoui,h. 2005. *Champignons ochratoxinogènes et ochratoxine a (ota) dans des vignobles français et procédés biologiques de décontamination de l'ota dans les moûts de raisin. Thèse de doctorat. Inédite, institut national polytechnique, ecole nationale supérieure agronomique. Toulouse.*
- ✓ Beji-becheur a., 2008. *Couscous connexion : l'histoire d'un plat migrant. Session .*

- ✓ Benatallah I., zidoune m. N., oulamara h., agli a. (2006).formulation et fabrication de couscous a base de riz et de légumes secs pour malades coeliaques. Actes sar gp3a, tunis : 160-164.
- ✓ Benbelkacem a., sadli f., brinis l., 1995.la recherché pour la qualité des blés durs en algérie. In fonzo n. Di (ed.), kaan f. (ed.), nachit m. (ed.). Durum wheat quality in the mediterraneanregion = la qualité du blé dur dans la région méditerranéenne. Zaragoza : ciheam-iamz. (options méditerranéennes : série a. Séminaires méditerranéens ; n. 22). Seminar on durum wheat quality in the mediterranean region, 17-19 nov 1993, zaragoza (spain) .61-65p.
- ✓ Bennet j.w., klich m., 2003, mycotoxins, *clin.microbiol.rev.*, 16,497-516.
- ✓ Berthier, j. & g. Valla. 1998. Moisissures –mycotoxines et aliments : du risque a la prévention. P.16-28.
- ✓ Berthier, j. & valla, g., 1998. Moisissures - mycotoxines et aliments : du risque a la prévention. Université clude bernard, lyon, pp. 05-20.
- ✓ Botton b., breton a., fevre m., gauthier s., guy p., larpent j.p., reymond p., sanglier j.j., vayssier y., veau p., (1990), moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, ed. Masson, paris.
- ✓ Boucheham n. (2009).aptitude technologique de trois formules a base de riz pour la fabrication de couscous sans gluten. Thèse de magister en sciences alimentaires. Inataa université de constantine.
- ✓ Boudih s (2011). Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers. Evaluation de la toxicité sur des cellules epithéliales respiratoires in vitro. Thèse de doctorat de l'université de paris est, 185 p.
- ✓ Boudra, h. (2002). La contamination par les moisissures et les mycotoxines des fourrages conservés signification et prévention. Institut national de la recherche agronomique (inra), 63122, pp : 60-62.

- ✓ Boudreau a., matsuo r. Et laing w., 1992. L'industrie des pâtes alimentaires, pp : 193-223. In « le blé. Eléments fondamentaux et transformation ». Coordonnateurs : boudreau a. Et menard g., ed. Les presses de l'université laval, canada. 439 pages.
- ✓ Boussouar naceur., 2017, caractérisation technologique et sanitaire des entérocoques isolés a partir de lait de chamelle du sud-ouest algérien. Thèse de doctorat. Université abou bekrbelkaid tlemcen .pp238.
- ✓ Branger m, bresler g, vaamonde g, degrossi c, pinto v.f (2007). Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicozes). Revue française des laboratoires, p : 373
- ✓ C. Bar ., 2001. Contrôle de la qualité des céréales et des protéagineux. (guide pratique), ed. Itfc céréaliers de france, paris, 253 p.
- ✓ C. Bar, 2001, contrôle de la qualité des céréales et des protéagineux (guide pratique), ed. Itfc céréaliers de france, paris, 253 p.
- ✓ Cahagnier b., richard-molard d. (1998). Analyse mycologique in moisissures des aliments peu hydratés, ed. Tec & doc, p: 140-158.
- ✓ Campbell c.k., johnson e.m., philpot c.m., warnock d.w., (1996), identification of pathogenic fungi, public health laboratory service.
- ✓ Castegnaro m., pfohl-leszkowicz a., (2002), les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur, lavoisier, tec&doc.
- ✓ Chabasse d, guiguen c.i, contet audonneau n (1999).mycologie médicale. Eds elsevier/masson, 324 p.
- ✓ Chabasse d., bouchara j.p., gentile l., brun s., cimon b., et penn p. 2002. Cahier de formation biologie médicale, les moisissures d'intérêt médical, france : bioforma. 160p.

- ✓ Chabasse d., contet-audonneau n., bouchara j.p., et basile a.m. 2008. Moisissures, dermatophytes, levures, du prélèvement au diagnostic. Edition biomérieux. 186p.
- ✓ Chaker s., 1995. Linguistique berbère. Etudes de syntaxe et de diachronie, paris/louvain, peeters.
- ✓ Chardouh a.,1999 ,caractéristique biochimique et génétique des réserves de blés durs algériens(*triticum durum*).thèse de magister.73p
- ✓ Codex alimentarius. Norme codex 202-1995.norme codex pour le couscous. P : 1-3.
- ✓ Cristina tabuc., 2007.flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. De l'institut national polytechnique de toulouse et de l'université de bucarest, pp 190.
- ✓ Dagher s.m., 1991. Traditional food in the near east, fao, food and nutrition paper 50,rome, 161 pages.
- ✓ Dagher s.m., 1991. Traditional food in the near east, fao, food and nutrition paper 50, rome, 161 pages.
- ✓ Davis, n.d. & diener, u.l., 1987 mycotoxins, in: food and beverage mycology,2nd ed, van nostrand reinhold, new york, pp. 517-570
- ✓ Derouiche m., 2003. Couscous : enquête de consommation a constantine, fabrication artisanale et qualité. Mémoire de magister. Université mentouri constantine, algérie.125 pages.
- ✓ Djermoun, a. 2009. La production céréalière en algérie : les principales caractéristiques. Revue. Nature et technologie. N°1.p.45-53
- ✓ Dragacci s., 1999. Surveillance et prévention de la contamination des aliments par les mycotoxines. Afssa (agence française de sécurité sanitaire des aliments), laboratoire central d'hygiène alimentaire.
- ✓ E. Fredot ., 2005. Connaissance des aliments, ed., lavoisier,paris, 397 p.

- ✓ E.b.z. N'goran-aw, j. K. Coulibaly, e.n.assidjo, c. N'gatta ., 2018, qualité microbiologique des farines de maïs commercialisées sur les marchés de la ville d'abidjan n'goran-aw et al., 482 pages, 479\_481.
- ✓ El khoury a (2007). Champignons mycotoxinogènes et ochratoxine a (ota) et aflatoxine b1 (afb1) dans les vignobles libanais : occurrence et origine. Thèse de doctorat de l'université de saint joseph de beyrouth 201 p.
- ✓ Ennadir jihane , hassiko rachida , et al., 2012 . Qualité microbiologique des farines de blé consommées au maroc.
- ✓ Feillet p, (2000). Le grain de blé, composition et utilisation. Inra. Paris. 308p.
- ✓ Gacem m.a. (2011). Contribution a l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogène des extraits méthanolique et aqueux des graines de citrullus.
- ✓ Galtier, p., loiseau, n., oswald., i.p., & puel, o. 2006. Toxicologie des mycotoxines : dangers et risques en alimentation humaine et animale. Bull. Acad. Vét. France tome159.n°1. P. 5-13.
- ✓ Gelderblom w.c, jaskiewicz marasas w.f, thiel p.g, horak r.m, vleggaar r, kriek n.p (1988). Fumonisins-novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *fusarium moniliforme*. Appl environ microbiol, 54, 1806-1811.
- ✓ Gobert e. G. (1940). Usage et rites alimentaires des tunisiens : leur aspect domestique, physiologique et social. Archive de l'institut pasteur. Tunis. T 29, 475-589.
- ✓ Godon, b. Et loisel w., 1997.guide pratique d'analyses dans les industries des céréales. 2'édition. Tech & doc, paris. 819 pages.
- ✓ Guezlane l., 1993. Mise au point de méthodes de caractérisation et etude des modifications physico-chimiques sous l'effet des traitements hydrothermiques en vue d'optimiser la qualité du couscous de blé dur. Thèse de doctorat d'état. Ina, el harrach, algérie. 89 pages.
- ✓ Hadjeba m.k (2012). Risque de multi-contaminations en mycotoxines et moyens de désactivation par les parois de levures et levures enrichies en glutathion ou sélénométhionine. Thèse de doctorat. Université de toulouse, pp 31.

- ✓ Haris, c., 1989. Introduction to modern microbiology. Blackwell scientific publication, pp. 179.
- ✓ Hubert annie (1995), « destins transculturels », milles et une bouches. Cuisines et identités culturelles, autrement, paris.
- ✓ Iom. Institute of medicine. 2000. Clearing the air: asthma and indoor air exposure. Committee on the assessment of asthma and indoor air. Division of health and disease prevention. National academy press. Washington. 456 p.
- ✓ Iso 22000 (2005a), international standard. Iso22000. Food safety management systems – requirements for any organization in the food chain, 1st edn, september 2005.
- ✓ Iso 22000 (2005b), technical specification. Iso/ts 22004. Food safety management systems – guidance on the application of iso 22000:2005, 1st edn, november 2005.
- ✓ Jard, g. 2009. Etude de différents modes d'élimination biologique de la zéaralénone, mycotoxine présente dans les céréales : adsorption et biotransformation. Thèse de doctorat. Inédite, institut national polytechnique, université de toulouse
- ✓ K. Doukani ., 2015, etude comparative entre le couscous industriel et le couscous a base de glands, 10 pages, 5\_10.
- ✓ Keller, s.e., sullivan, t.m., chirtel, s. 1997. Factors affecting the growth for fusarium proliferatum and the production of fumonisin b1: oxygen and ph. Industrial microbiology, biotechnology. 19, p: 305-309.
- ✓ Kendrick b (1999). The fifth kingdom. 2nd edition. Mycologue publications. <http://www.mycolog.com/fifhtoc.html>.
- ✓ Kendrick b (2001). The fifth kingdom. Focus publishing/r. Pullins, third eds, 386 pages.
- ✓ Khaldi achraf., 2017. etude des effets antifongiques et antimycotoxiques des extraits des plantes 2017médicinales de la région de béchar. Thèse de doctorat. Université de mascara, pp 620.

- ✓ Lahouar a. (2016). Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en tunisie : incidence et profils ecophysiologiques. Thèse de doctorat. Université de lelida. Tunisie. P : 135, pp : 6.
- ✓ Larpent, j.p. 1990.moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2e edition. Masson, paris. 512 pages.
- ✓ Le bars j., 1984. Développement des moisissures des denrées alimentaires et mycotoxinogénèse. Extrait de apria, symposium international : « les mycotoxines connaissances actuelles et risques pour la santé publique dans la chaîne alimentaire». Pp. 19-49.
- ✓ Le bars, j. & le bars, p., 1987. Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. Conférences prononcées dans le cadre de la réunion de la "section midi- pyrénées" a toulouse, le 18 septembre 1987, (cf. Bulletin de l'association des anciens élèves de l'institut pasteur, 4e trimestre 1987).
- ✓ Lecellier a. (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse de doctorat. Université de reims champagne-ardenne. France. P : 185, pp : 17-18-19.
- ✓ Louafi s, khedim h., 2016, diagnostic et caractéristique physicochimique et microbiologique du couscous industriel. Mémoire de master. Université abdelhamid ibn badis.mostaganem.
- ✓ Loucif chemache, farida kehal , hacene namoune , makhoulf chaalal , mohammed gagaoua , 2018 . Couscous: ethnic making and consumption patterns in the northeast of algeria, 212\_218.
- ✓ Marie-alix, jean-marc leclerc, norman king, marcel belanger, michel legris & yves fernette. Novembre 2002.les risques a la santé associés a la présence de moisissures en milieu intérieur. Institut national de santé publique du québec. P 3-21.
- ✓ Markal, 2008, fiche technique, le 08.11.2008.page 1-2.

- ✓ Moghtet senouci, kadi hamid, nahal bouderba nora, moussaoui abdullah, amrouche abdelilah , lazouni aderrahmane hammadi , 2012 . Effet des paramètres physicochimiques sur la contamination fongique et mycotoxique dans le blé tendre français commercialisé en algérie, 3\_6.
- ✓ Moreau j., ardry r. (1942). Un aliment nord-africain : le couscous, composition, fabrication, préparation. Archive de l'institut pasteur. Tunis. T 31, 302-310.
- ✓ Morin o., (1994), aspergillus et aspergilloses : biologie, ed. Techniques encyl. Med. Chir.(elsevier, paris), maladies infectieuses 8-600-a-10.
- ✓ Multon, j.l., 1982. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés-céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique & documentation lavoisier, paris, pp. 576.
- ✓ Nf : iso 13681 v 04-507 avril (1996). Viande et produits a base de viande dénombrement des levures et moisissures- technique par comptage des colonies. Analyse microbiologique tome 2. Méthodes sectorielles.
- ✓ Nf :v 08-010 mars (1996). Microbiologie des aliments-règles générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique ; analyse microbiologique tome 1 ; méthodes horizontales. Afnor 6eme ed. 67-75.
- ✓ Nf v 08- 050 298.nf v -057-2 (1991). Microbiologie alimentaire – directives générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.
- ✓ Nyc., new york city department of health. 2000. Lignes directrices applicables a l'évaluation et l'élimination de la contamination fongique en milieu intérieur. Service d'hygiène de la ville de new york <http://www.nyc.gov/html/doh/pdf/eode/fungi-french.pdf>-225,7kb.
- ✓ Pfohl-leszkowicz a, (1999). Les mycotoxines dans l'alimentation, evaluation et gestion du risque. Lavoisier, paris, 478 p.

- ✓ Pfohl-leszkowicz a. (2001). Définition et origines des mycotoxines dans l'alimentation : evaluation et gestion du risque, ed. Tec & doc, p :3-14.
- ✓ Pitt & hocking (2009), fungi and food spoilage. Blackie academic and professional, london. 132(2-6): 100-108.
- ✓ Pitt et al., (1973), fungi and food spoilage. Academic press, (pub.), sydney , new york , london.
- ✓ Pitt, j.i., basilico, j.c., abaraca, m.l., & lopez, c. 2000. Mycotoxins and toxigenic fungi. Medical mycology. Volume .38. N°1. P. 41-46.
- ✓ Pitt, j.l. 1988. Laboratory guide to common penicillium species. Academic press, london.
- ✓ Pohland a.e., nesheim s., friedman l., (1992), ochratoxin a, a review, pure, appl. Chem., 64, 1029-1046
- ✓ R. Benlachehab ,(2008). Scores lipidiques de certains plats traditionnels consommés a constantine, thèse de magister, inataa. Université de constantine,175 p.
- ✓ R. Benlachehab 2008, scores lipidiques de certains plats traditionnels consommés a constantine, thèse de magister, inataa. Université de constantine, 175
- ✓ Rabany m., 2010. Le couscous : la tradition et la modernité d'une graine millénaire, clextrusion oct 2010-n°19.13 p.w.w.w.clextral.com
- ✓ Rapper, k.b., and d.i. Fennel. 1965. The genus aspergillus, williams & wilkins,baltimore, maryland.
- ✓ Riba, a., sabaou, n., mathieu, f. & lebrihi, a., 2005. Premières investigations sur les champignons producteurs d'ochratoxine a dans la filière céréale en algérie. Symposium euro-maghrébin sur les contaminants biologiques chimiques et la sécurité alimentaire, fès.

- ✓ Roquebert m.f, (1998), taxonomie des moisissures ; méthodes de culture et techniques d'observation ; identification”, in “moisissures des aliments peu hydratés”, ed. Tec & doc, 39-95.
- ✓ Selselet a., 1991. Technologies des céréales et produits dérivés. Document a l'usage des étudiants. Option technologie agroalimentaire. Edition tec/doc. Lavoisier. Paris. P 147.
- ✓ Simpson a.g.b, roger a.j (2002). Eukaryotic evolution: getting to the root of the problem. Current biology 12, r691-r693.
- ✓ Simpson a.g.b, roger a.j (2004). The real 'kingdoms' of eukaryotes. Current biology 14, r693-696.
- ✓ Slimani alaa., 2018, etude des effets antimycotoxinogénèse des substances naturelles de la région sud-ouest algérien. Thèse de doctorat. Université abou bekrbelkaid tlemcen, pp 275.
- ✓ Spicer j.w.2003. Pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie, edition flammarion. Paris. 211p.
- ✓ Sutton d.a., fothergill a.w., rinaldi m.g., (1998), guide to clinically significant fungi, baltimore, williams and willkins.
- ✓ Tabuc c. 2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines : pathologie, mycologie, génétique et nutrition, thèse de doctorat d'état, l'université de bucarest, p.190.
- ✓ Tahani et al., 2008. Isolement et identification de souches de moisissures réputées toxigènes. Rev. Microbiol. Ind.san et environn. Vol 2, n°1, p. 81-91.
- ✓ Turner n.w, subrahmanyam s, piletsky s.a (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. Analytica chimica acta, 632(2) : p. 168-80.
- ✓ Varga, j., kevei, e., rimyn, e., teren, j. & kazakiewicz, z. (1996).-ochratoxin production by aspergillus species.- appl. Environ. Microbiol., 62, 4461-4464.

- ✓ Withlow, I.w. & hagler, w.m., 2001. Mycotoxin contamination of feedstuffs- an additional stress factor for dairy cattle. North carolina state university, raleigh, nc.symposium sur les bovins laitiers. Craaq québec.
- ✓ Yettou n., 1998. Les méthodes instrumentales d'appréciation de la qualité culinaire du couscous de blé dur. Mémoire de magister. Ina, el-harrach, alger. 101 pages.
- ✓ Yiannikouris a, jouany j.p (2002). Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal. Inra prod. Anim, 15, 3-16.
- ✓ Yousfi I. (2002). Influence des conditions de fabrication sur la qualité du couscous industriel et artisanal. Thèse de magister.dnataa. Université de constantine. 141 p.
- ✓ Ziane mohamed., (2014). Caractérisation, identification et etude de la thermorésistance de souches de *bacillus cereus* isolées de semoule de couscous. Thèse de doctorat. Université aboubekr belkaid tlemcen, p : 99, pp : 19-18.
- ✓ Zia-ur-rahman., 2006. Storage effect on nutritional quality of commonly consumed cereals. Food chemistry 95, 53-57.
- ✓ Zinedine abdellah., & larbi idrissi. 2007. Présence et réglementation des mycotoxines dans les aliments au maroc: situation actuelle et perspectives n, pp99.

---

## ***Annexes***

---

**ANNEXE I****Milieux de culture et réactifs****Milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar)**

Pomme de terre (macération 500ml de filtrat)	200 g
Sucrose	10 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

**Milieu Czapek concentrate**

NaNO <sub>3</sub>	30 g
KCL	5 g
MgSO <sub>4</sub>	5 g
FeSO <sub>4</sub>	0.1 g
Eau distillée	100 mL

**Milieu CYA (Czapek Yeast Agar)**

Czapek Concentre	10 mL
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
Extrait de levure	5 g
Sucrose	30 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

**Milieu Dichloran chloramphenicol peptone agar (DCPA)**

Peptone	15 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g
Chloramphenicol	0.1 g
Dichloran (0.2% in ethanol, 1 ml)	2 mg
Agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

**Milieu G25N (25 % Glycérol Nitrate Agar)**

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.75 g
Czapek concentrate	7.5 mL
Extrait de levure	3.7 g
Glycérol	250 g
Agar	12 g
Eau distillée	750 mL

**Milieu MEA (Malt Extract Agar)**

Matière Sèche	50 g
Agar	5 g
Eau distillée	1000 mL

**Eau physiologique**

NaCl	9 g
Eau distillée	1000 mL

**Milieu Viande Foie**

Base viande foie	30,0 g
Glucose	2,0 g
Agar	6,0 g
Eau distillé	1000 mL

**Milieu PCA (Plate Count Agar)**

Tryptone	5g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	1g
Agar	15-18 g
Eau distillée	1000 mL

**Milieu OGA (Gélose à la base l'oxytétracyclin)**

Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Oxytétracycline	0,1g
Agar bactériologique	15 g
Eau distillé	1000 mL

**Milieu CDA (Czapek Dox Agar)**

Sucrose	30 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
KCL	0,5 g
MgSO <sub>4</sub>	0,5 g
FeSO <sub>4</sub>	0,01 g
NaNO <sub>3</sub>	3 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

**Gélose lactosée au désoxycholate**

Peptone pepsique de viande	10 g
Lactose	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Désoxycholate de sodium	0,5 g
Citrate de sodium	2 g
Rouge neutre	0,03 g
Agar agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

**Gélose Baird-Parker**

Peptone pancréatique de caséine	10 g
Extrait de viande de bœuf	5 g
Extrait de levure	1 g
Chlorure de lithium	5 g
Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	20 g
Eau distillée	950 mL
Solution de jaune d'œuf	50 mL
Tellurite de potassium à 10 g/l	10 MI

**Eau Tryptone-sel (TSE)**

Tryptone	1,0 g
Chlorure de sodium	8,5 g
Eau distillée	1000mL

**Lactophenol**

Phénol pur cristallisé	20 g
Acide lactique	20 mL
Glycérol pur	20 mL
Eau distillée	40 mL

ANNEXE II



VOF24



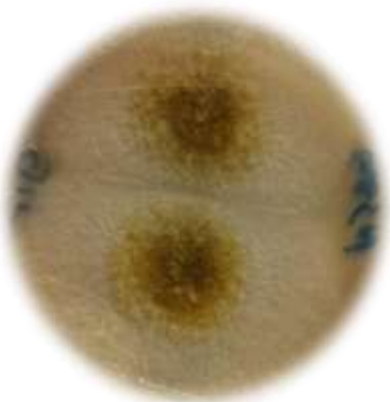
BTB8



VOF1



GCB22



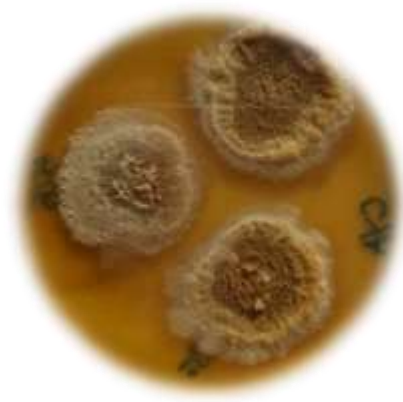
BCV25



JD18



NP15



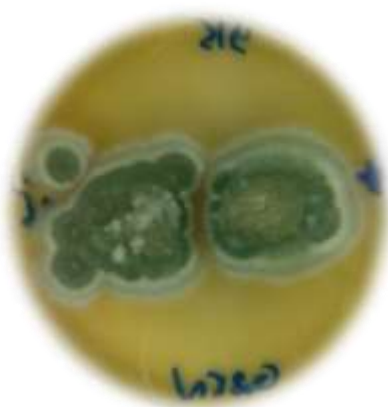
JTB2



GCB22



VOF24



BT20



VOF24



JD18



GCB22



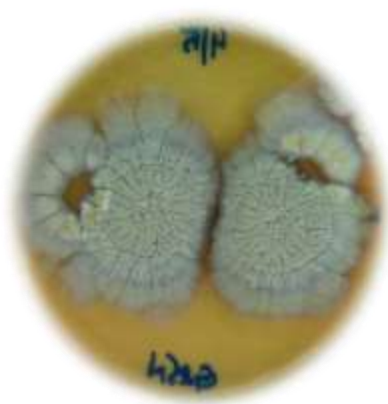
BCV25



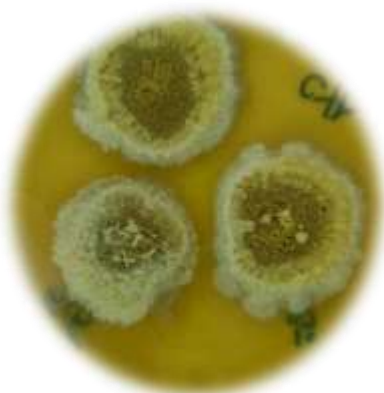
VO17



VFO11



JD4



JTB2



JD4



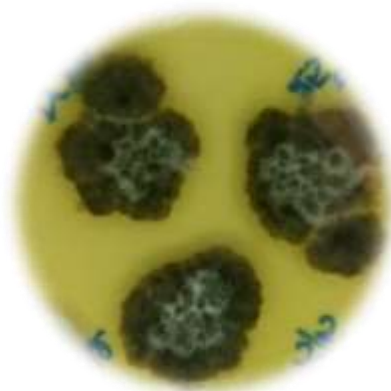
BCV25



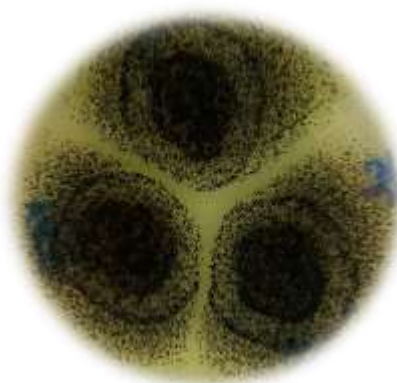
GCB22



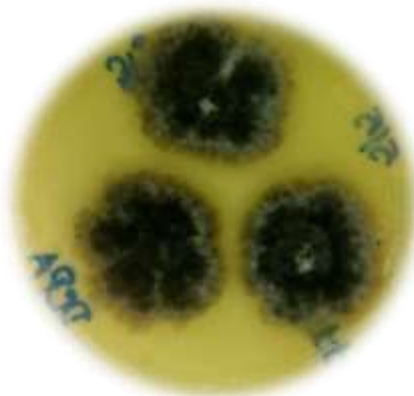
G23



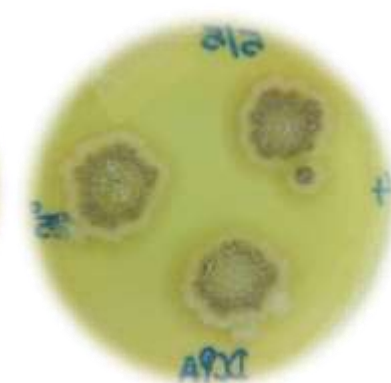
VFO12



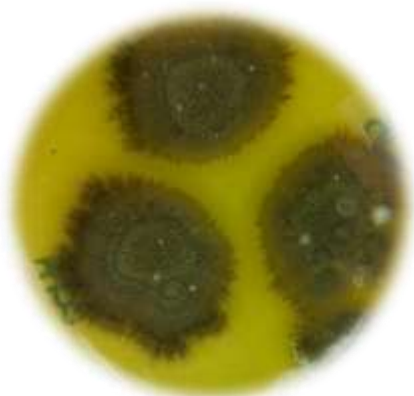
NP15



VFO11



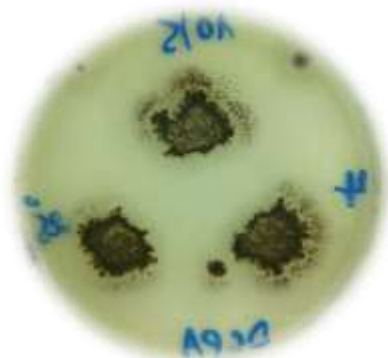
JD4



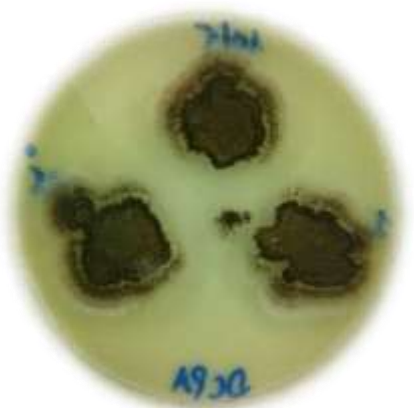
JD4



JD16



JD4



VOF1



G23



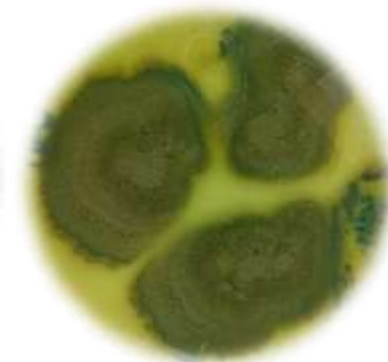
VFO12



JD4



NP15



VFO11



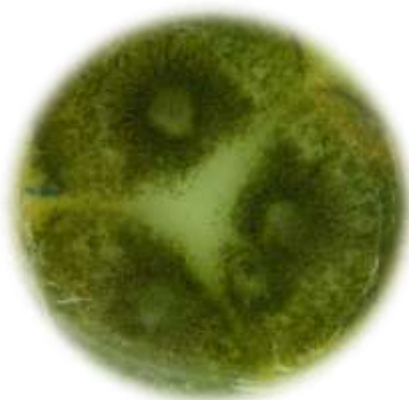
**VS7**



**NP5**



**BT6**



**BCV25**



**JD18**



**JD4**



**VFO12**



**VOF24**



**VO9**

***Spécimens d'identification des espèces «single spore» des isolats sur différents milieux de culture.***