

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université « Dr. Moulay Tahar » de Saida
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de fin d'étude

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de **Master**

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie appliquée

Étude de la biodiversité de la flore fongique dans les laboratoires d'analyses dans la région de Naama

Présenté par:

Mme. Mansour Rabab

Soutenu publiquement le: 13/ 11 / 2019

Devant le jury composé de :

Dr Ghellai lotfi	Maitre de conferences A	Université Moulay Tahar de Saida	Président
Dr Alioui latifa	Maitre assistance A	Université Moulay Tahar de Saida	Examinatrice
Dr Didaoui Hayat	Maitre de conferences B	Université Moulay Tahar de Saida	Encadreur

Année universitaire 2019-2020

Remerciement

Avant tous on remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir aidé à surmonter toute les difficultés lors de nos études et ce ne sont pas ces quelques mots qui exprime nos sentiments les plus sincères.

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer toute nos reconnaissance et nos profond respect à mon encadreur **Mme Didaoui Hayat**, Maitre de conférences à l'université Moulay Tahar Saida, pour sa patience, sa rigueur et ses précieux conseils qui nous a aidée dans la réalisation de ce travail.*

*Avec un très grand plaisir que je remercie infiniment **Mr.Ghallai Lotfi** Maitre de conférences à l'université Molay Taher de Saida d'avoir accepter de présider le jury.*

*Je remercie également **Mme.Allioui** Maitre assistance A à l'université Molay Taher de Saida qui a bien voulu consacrer une partie de leur temps à examiner ce travail.*

*Un grand Merci à **Mr.Brahimi**, le chef département à l'université Salhi Ahmed de Naama pour son aide et tout le personnel de laboratoire.*

*Un grand Merci à **Mr. Benreguieg Mokhtar** l'université Dr Moulay Tahar-Saida, pour son aide considérable et ses conseils.*

*Nous tenons à exprimer mon grand remerciement à **Mahmoudi Soriya & Hamada Imane**, pour ses précieux conseils, ses encouragements, son aide et sa gentillesse.*

Ainsi j'adresse mes sincères remerciements à tous les enseignants de département de Biologie de l'Université Moulay Tahar Saida.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de tous les responsables et le personnel des laboratoires d'analyses dans la région de Naama qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur que dieu le garde pour moi,

Mon père

A la femme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et la source de joie et de bonheur, la flamme de mon cœur, celle qui s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir, que dieu la garde pour moi,

Ma mère

À ceux qui partageaient mes moments de fatigue jusqu'à mon arrivée ici..À ceux qui étaient la raison de la poursuite et de l'achèvement de ma vie après avoir été à mes côtés dans les circonstances les plus graves et m'avaient motivée à persévérer et à continuer sans désespérer

Mon mari

Quand je me penche à droite, j'en trouve une et que je me penche à gauche, que je trouve l'autre. Ils sont mon plus grand partisan des difficultés.

Mes frères : Salah eddin & Saad

Cela fait partie de mon âme que je ne peux pas faire sans.

Ma seule sœur : Naila

Mon beau-frère est également un partisan de moi dans ce travail.

Khadija

A tout ma famille Mansour & Moussaoui & Berrghioua.

A tous mes chères amies : Souria, Imen, Ikram , Imen , Djemaa, Hadjer, Fatima, Radjaa, Hadjer,

A tous mes collègues qui m'ont encouragé et m'ont souhaité du bien de près ou de loin.

RABAB

Résumé

Les laboratoires d'analyses présentent de nombreux risques, le risque biologique est présent lorsque des personnes peuvent être exposées à des agents biologiques, susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication. Ces agents biologiques sont des micro-organismes notamment la flore fongique.

Notre étude a pour but d'évaluer la biodiversité de la flore fongique dans les laboratoires d'analyses afin de mettre des actions correctives et un système de lutte et de prévention.

Notre travail est une étude transversale sur 24 laboratoires dans la région de Naama avec 72 prélèvements durant la période de Février à Avril 2019.

Nous avons effectué la technique d'écouvillonnage en commençant par l'ouverture d'un écouvillon de son emballage stérile, humidifié l'extrémité en le plongeant dans un tube contenant le diluant puis nous avons éliminé l'excès de diluant en le pressant contre la paroi du tube, à l'aide de l'extrémité de l'écouvillon, nous avons tracé des stries sur une surface estimée de 100 cm² (le même principe pour matériel de laboratoire), en faisant tourner l'écouvillon entre le pouce et l'index puis nous avons replacé l'écouvillon dans le tube avec le diluant. Nous avons préparé 3 tubes à essai contenant 9 ml de l'eau physiologie. Ces tubes à essai serviront à faire les dilutions successives, nous avons prélevé des échantillons de la solution de départ et la transférer dans le tube suivant, puis prendre un échantillon de ce tube pour le mettre dans le suivant. L'ensemencement était réalisé selon la méthode d'inondation.

Les résultats obtenus montraient une charge fongique importante au niveau des paillasse, le matériel d'analyse et les équipements dans les deux zones urbaines et rurales.

Cette contamination fongique est due principalement au manque d'hygiène, la stérilisation et la désinfection non conformes aux normes. Des procédures de contrôle strictes et de préventions visant à corriger et à limiter le taux de contamination des laboratoires d'analyses dans cette région.

Mots clés : Laboratoires d'analyses, flore fongique, paillasse, équipements, contamination.

Abstract

Analytical laboratories present many risks, the biological risk is present when people can be exposed to biological agents, likely to cause an infection, allergy or intoxication. These biological agents are microorganisms including fungal flora.

Our study aims to evaluate the biodiversity of fungal flora in the laboratories of analysis in order to put corrective actions and a system of fight and prevention.

Our work is a cross-sectional study of 24 laboratories in the Naama area with 72 samples during the period from February to April 2019.

We performed the swabbing technique, beginning with the opening of a swab from its sterile package, wetting the tip into a tube containing the diluent, and then removing the excess diluent by pressing it against tube wall, using the end of the swab, we drew streaks on an estimated surface of 100 cm² (the same principle for laboratory equipment), by rotating the swab between the thumb and the index then we replaced the swab in the tube with the diluent. We prepared 3 test tubes containing 9 ml of water physiology. These test tubes will be used to make successive dilutions, we took samples of the starting solution and transfer it to the next tube, then take a sample of this tube to put it in the next. Seeding was carried out according to the flood method.

The results show a significant fungal load at the bench level, analytical equipment and equipment in both urban and rural areas.

This fungal contamination is mainly due to lack of hygiene, sterilization and disinfection not conform to standards. Strict control procedures and preventions aimed at correcting and limiting the contamination rate of analytical laboratories in this region.

Key words: Analysis laboratories, fungal flora, bench, equipment, contamination.

ملخص

تمثل المختبرات التحليلية العديد من المخاطر ، والمخاطر البيولوجية موجودة عندما يمكن أن يتعرض الأشخاص لعوامل بيولوجية ، من المحتمل أن تسبب عدوى أو حساسية أو تسمم ، وهذه العوامل البيولوجية عبارة عن كائنات دقيقة بما في ذلك النباتات الفطري.

تهدف دراستنا إلى تقييم التنوع الحيوي للنباتات الفطرية في مختبرات التحليل من أجل وضع إجراءات تصحيحية ونظام للقتال والوقاية.

عملنا هو دراسة مستعرضة على 24 مختبرا في منطقة نعمة مع 72 عينة خلال الفترة من فبراير إلى أبريل

2019

لقد أجرينا تقنية المسح، بدءًا من فتح المسحة من عبوتها المعقمة ، حيث قمنا بترطيبها عن طريق غمسها في أنبوب يحتوي على مادة مخففة ثم إزالة المخفف الزائد عن طريق الضغط عليه على الحائط. من الأنبوب ، باستخدام نهاية المسحة قمنا برسم خطوط على مساحة تقدر بـ 100 سم 2 (نفس المبدأ بالنسبة للمعدات المختبرية) ، عن طريق قمنا بإعداد 3 أنابيب اختبار تحتوي على .ililuent تدوير المسحة بين الإبهام و مؤشر ثم استبدالنا مسحة في أنبوب مع 9 مل من فسيولوجيا المياه. سيتم استخدام أنابيب الاختبار هذه لإجراء التخفيفات المتتالية ، أخذنا عينات من محلول البدء ونقله إلى الأنبوب التالي ثم أخذ عينة من هذا الأنبوب لوضعه في التالي. تم تنفيذ البذر وفقًا لطريقة الفيضان.

تظهر النتائج حمولة فطرية كبيرة على مستوى مقاعد البدلاء ، والمعدات التحليلية والمعدات في كل من المناطق الحضرية والريفية.

هذا التلوث الفطري يرجع بشكل أساسي إلى عدم وجود نظافة وتعقيم وتطهير لا يتوافق مع المعايير. إجراءات وقائية صارمة للرقابة تهدف إلى تصحيح والحد من معدل التلوث في المختبرات التحليلية في هذه المنطقة.

الكلمات المفتاحية: معامل التحليل ، النباتات الفطرية ، مقاعد البدلاء ، المعدات ، التلوث.

Table des Matières

Remerciment	II
Dédicace	III
Résumé	IV
Abstract	V
ملخص	VI
Table des matières	VII
Liste des figures	X
Liste des tableaux	XII
Liste des abréviations	XIII
Introduction	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Flore fongique	3
1.1 Champignon	3
1.1.1 Historique	3
1.1.2 Définition de champignon	3
1.1.3 Caractères généraux	4
1.1.4. Généralités sur la pathogénicité des champignons	4
1.1.5. Mode de vie	4
1.1.6 Mode de nutrition	5
1.2. Moisissures	6
1.2.1 Généralités	6
1.2.2. Mode et conditions de développement	7
1.2.3. Physiologies et exigences nutritionnelles	7
1.2.5 Classement des moisissures	8
1.2.6 Caracatère physiologie	8
	8

I.2.6.1. Température	
I.2.7 Principaux effets des moisissures sur la santé humaine	9
I.3 Levures	11
I.3.1 Historique	11
I.3.2. Définition	11
I.3.3 Habitats	11
I.3.4 Morphologie et Structure	12
I.3.5. Physiologie et Croissance des levures	12
I.3.5.1. Besoins nutritifs	12
I.3.5.2 Sources de carbone	12
I.3.6 Reproduction de levure	13
A-sexuée	13
B –asexuée	13
I.3.7 Caractères générale des levures	14
Chapitre II : Laboratoire d’analyse et contamination fongique	17
II.1 Laboratoire d’analyse	17
II.1.1 Définition de laboratoire	17
II.1.2 Structuration du laboratoire	18
II.1.2.1 Local de réception	18
II.1.2.1.1 Fonctionnalité	18
II.1.2.2 Salle d’attente	18
II.1.2.3 Salle de prélèvement permettant l’isolement des patients	19
II.1.2.4 Salle compartimentées destinée aux activités techniques du laboratoire	20
II.1.2.5 Laverie	21
II.1.2.6 Sanitaires	21
II.1.2.7 Bureaux	
II.1.3 Sécurité au laboratoire	22
II.1.3.1 Généralités	22
II.1.3.2 Hygiène et sécurité du personnel de laboratoire	22

II.1.3.2.2 Protection individuelle	23
A. Tenue de travail	23
B.Port des gants	24
C. Masque et lunette	24
II.1.4 Catégories des dangers	24
II.1.5 Législation	25
II.2 Contamination fongique	25
II.2.1 Contrôle et surveillance de contamination fongique	25

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes	28
III. 1 Type et objectif de l'étude	28
III.2 Lieu de l'étude	28
III.3 Sites et nombre de prélèvements effectués	29
III.4 Méthodes	29
III.4.1 Méthode de prélèvement	29
III.4.2 Technique d'isolement	30
III.4.2.1 Milieu de culture	30
III.4.2.2 Prélèvement et dilution	31
III.4.2.3 Ensemencement	31
III.4.2.4 Méthode d'inondation	31
III .5 Méthode de dénombrement	32
Chapitre IV : Résultat et discussion	35
IV.1 Répartition de la flore fongique dans les laboratoires de la wilayade Naama	35
IV.2 Répartition de la flore fongique dans les laboratoires de Mecheria	40
IV.3 Répartition de la flore fongique dans les laboratoires d'Ain Sefra	44
IV.4 Répartition des laboratoires d'analyses selon l'ancienneté	47
IV. 5 Répartition des laboratoires d'analyses selon la localisation géographique	47
V. Conclusion	50
Références bibliographiques	53

Liste des figures :

Figure n°01: Exemple de champignon Saprophyte: fromage	05
Figure n°02 : Exemple des espèces sont psychrophile <i>Chrysosporium pannorum</i> et <i>Cladosporium herbarum</i> sur	09
Figure n°03 : Exemples des espèces sont thermophiles	09
Figure n°04 : Reproductions asexuée et sexuée d'une levure	13
Figure n°05 : <i>Conidia albican</i>	14
Figure n°06 : la cellule de levure	14
Figure n°07 : Structure de la membrane et de la paroi des levures	15
Figure n°08: Aménagement de la salle pour les prélèvements sanguins	19
Figure n°09 : Zone de PSM de la salle de microbiologie	20
Figure n°10 : Zone d'observation Microscopique avec au food la zone	20
Figure n°11: Salle de laverie	21
Figure n°12: Écouvillons	30
Figure n°13: Schéma de la préparation de la solution mère et des dilutions décimales	31
Figure n°14: manipulation de méthode inondation.	32
Figure n°15 : Le dénombrement sur appareil compteur colonies.	33
Figure n°16: Répartition de la flore fongique par UFC dans les 3 premiers laboratoires	36
Figure n°17: Répartition de la flore fongique par UFC dans les 4 ^{ème} et 5 ^{ème} et 6 ^{ème} laboratoires	37
Figure n°18: Répartition de la flore fongique par UFC dans le 7 ^{ème} laboratoire	38
Figure n°19: Répartition de la flore fongique par UFC dans le 8 ^{ème} laboratoire	39
Figure n°20: Répartition de la flore fongique par UFC dans le 9 ^{ème} laboratoire	40
Figure n°21: Répartition de la flore fongique par UFC dans les 10 ^{ème} à 13 ^{ème} laboratoires	41
Figure n°22: Répartition de la flore fongique par UFC dans le 14 ^{ème} laboratoire	42
Figure n°23: Répartition de la flore fongique par UFC dans les 15 ^{ème} à 17 ^{ème} laboratoires	43

Figure n°24: Répartition de la flore fongique par UFC dans le 18 ^{ème} laboratoire	44
Figure n°25: Répartition de la flore fongique par UFC dans le 19 ^{ème} laboratoire	45
Figure n°26: Répartition de la flore fongique par UFC dans les 20 ^{ème} à 24 ^{ème} laboratoires	46
Figure n°27 : Caractères macroscopiques de la flore fongique.	46

Liste des tableaux

Tableau n°01: Illustration de quelques Propriétés principales des Champignons	06
Tableau n°02: Résultats de dénombrement de 3 premier laboratoires	35
Tableau n°03: Résultats de dénombrement de 4 ^{ème} et 5 ^{ème} et 6 ^{ème} laboratoires	36
Tableau n°04: Résultats de dénombrement de 7 ^{ème} laboratoire	37
Tableau n°05: Résultats de dénombrement de 8 ^{ème} laboratoire	38
Tableau n°06: Résultats de dénombrement de 9 ^{ème} laboratoire	39
Tableau n°07: Résultats de dénombrement de 10 ^{ème} à 13 ^{ème} laboratoires	40
Tableau n°08: Résultats de dénombrement de 14 ^{ème} laboratoire	41
Tableau n°09 : Résultats de dénombrement de 15 ^{ème} à 17 ^{ème} laboratoires	42
Tableau n°10 : Résultats de dénombrement de 18 ^{ème} laboratoire	43
Tableau n°11 : Résultats de dénombrement par de 19 ^{ème} laboratoire	44
Tableau n°12 : Résultats de dénombrement de 20 ^{ème} à 24 ^{ème} laboratoires	45
Tableau n°13: Prévalence de la flore fongique selon l'ancienneté des laboratoires	47
Tableau n°14 : Prévalence de la flore fongique selon la localisation géographique du laboratoire	47

Liste d'abréviation

%	Pourcentage
ADE	Algérienne D'eau
A _w	water activity
BK	bacille de Koch
C°	Degré calcule
CACQUE	Centre Algérienne de Contrôle Qualité et d'Emballage
CLIN	Comité de lutte contre les infections nosocomiales
E p	Eau physiologie
EPH	Etablissement Public Hospitaliere
EPSP	Etablissement Public Sante public
h	heure
g	gramme
LAM	Laboratoire Analyse Médicale
LBM	Laboratoire Biologie Médicale Minute
Min	
ONA	Office National de l'Assainissement
SM	Solution mère
UFC	Unités Formant Colonies

Introduction

Introduction

Les microorganismes sont omniprésents dans notre environnement (le sol, l'air et les eaux) et ne cessent d'occuper une place de plus en plus importante dans la vie humaine et sont actuellement à l'origine de l'essor du domaine de la biotechnologie (SMAOUI, 2010).

Parmi ces microorganismes, la flore fongique a acquis une importance particulière, dont seul un petit nombre de représentants sont pathogènes pour l'homme tel que les *Candida albicans*, qui est le principal agent pathogène causé le Candidose mais *C. glabrata*, *C. parapsilosis* et *C. tropicalis* peuvent aussi être à l'origine d'infections. Les échantillons qui sont manipulés dans les laboratoires de recherche biologique, de biotechnologie, d'analyse médicale ainsi que dans des laboratoires d'anatomie et cytologie pathologiques peuvent contaminer les surfaces (paillasse, équipement et sols) et les opérateurs. Il est nécessaire de mettre en place des procédures de nettoyage et de désinfection des surfaces, mais la désinfection n'empêche pas la recontamination ultérieure de la surface. (CHRISTINE & ISABELLE, 2014).

À ce titre, l'objectif de ce travail est l'estimation du niveau de la charge fongique dans les différents laboratoires d'analyses.

Ainsi, le travail que nous avons entrepris s'articule autour de trois parties :

La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique, là où on décrit des généralités sur la flore fongique, leur taxonomie et classification et leur intérêt.

La seconde partie dite expérimentale s'occupe des prélèvements dans plusieurs endroits des laboratoires ainsi que la mise en évidence de la présence ou l'absence des souches fongiques et leurs dénombrements.

Les résultats obtenus sont discutés dans la troisième partie.

Des conclusions de ce travail et des recommandations pratiques seront présentées dans la partie conclusion générale (cf. Chapitre 5).

Chapitre I

Flore fongique

Chapitre I : Flore fongique

I.1 Champignon

I.1.1 Historique

Dans les civilisations telles que grecque, romaines et hindoues, les champignons ont été considérés comme des aliments sacrés. D'après les données contenues dans les travaux de Fray Bernardino de Sahagún et des fragments de PopolVuh et de ChilamBalam, nous savons que dans la culture préhispanique mésoaméricaine, les champignons ont acquis un rang élevé et ont été considérés comme un aliment des dieux et des rois. Peut-être qu'en Méso-Amérique, cette relation a plus à voir avec les champignons hallucinogènes qu'avec les produits alimentaires. Cette habitude d'ingérer des champignons avec une fin mystique ou enthéogène,.

Jusqu'au 18e siècle, les seuls champignons connus étaient les macromycètes, qui développent des corps de fruits visibles, mais grâce à l'utilisation du microscope, il était connu qu'il existait des champignons microscopiques. L'étude de plusieurs espèces a permis de comprendre le comportement de diverses maladies associées aux champignons, l'effet de certaines substances sécrétées par celles-ci, leur utilisation dans l'alimentation, la fermentation de boissons alcoolisées et le développement d'antifongiques(ANONYME1).

I.1.2 Définition de champignon

Un champignon est un organisme eucaryote uni ou pluricellulaire, dépourvu de chlorophylle, il est constitué d'un thalle unicellulaire (comme pour certaines levures) ou pluricellulaire (mycélium) comme la plupart des micromycètes ou des macromycètes.

Les champignons sont des organismes hétérotrophes, vivant principalement en saprophyte aux dépens de matières organiques en décomposition.

Certains champignons vivent aussi en symbiose avec bien des espèces appartenant au règne végétal, mais aussi parfois en parasite avec tous les composants du monde vivant. Les champignons sont des êtres immobiles qui vont à l'instar du règne végétal compenser cet handicap par la production d'un nombre considérable de spores. Les champignons sont capables de produire d'énormes quantités de spores leur assurant ainsi un pouvoir de dispersion très important (ANAISSEt al.,2009).

I.1.3 Caractères généraux

- Organismes unicellulaires ou pluricellulaires dont les cellules possèdent un noyau (eucaryote) ;
- Se nourrissent par absorption et utilisent le carbone organique comme source de carbone (ce sont des hétérotrophes) ;
- Leur paroi cellulaire contient typiquement de la chitine et du glucan ;
- Ils peuvent se reproduire de façon sexuée et/ou asexuée(ANAISSE *et al.*,2009).

I.1.4 Généralités sur la pathogénicité des champignons

- Plus de 100 000 espèces connues ;
- Elles sont pour la plupart saprophytiques; moins de 0,5 % sont reconnus pathogènes ;
- Principaux obstacles à l'invasion des tissus :
 - ✓ Température élevée (37 °C)
 - ✓ Défenses cellulaires
- Distribution géographique: parfois restreinte, parfois mondiale
- Prévalence: très élevée pour certaines mycoses (dermatophytoses, candidose); faible pour d'autres.
- Contagiosité: exception faite des dermatophytoses et de cas rares de candidose et de pneumocystose, les mycoses sont très peu contagieuses (PHILIPPE DUFRESNE, 2018)

I.1.5 Mode de vie :

La quasi-totalité des mycètes vivent aux dépens de la matière organique endécomposition ce sont des agents de *recyclage* de la matière minérale dans la nature, connus sous la nomination de « *Saprophytes* ». Dans des conditions particulières, beaucoup de micromycète *parasitent* des organismes végétaux ou animaux ou même

d'autres mycètes(c'est le cas de l'espèce *Penicillium rugulosum* qui infecte la tête

d'*Aspergillus niger*, enformant dessus, des phialides regroupés en pénicilles et le conduit finalement à la mort).D'autres, cohabitent avec différentes formes de vie dans le contexte du bénéfique réciproqueou ce qu'on appelle « *la symbiose* »(ANONYME2).

I.1.6 Mode de nutrition

Les champignons sont des organismes hétérotrophes qui puisent leur énergie dans l'environnement immédiat. La capacité à absorber de la nourriture de diverses sources leur a permis de coloniser une multitude de substrats, en développant plusieurs modes de vie selon les interactions qu'ils ont avec leur milieu.

Les mycologues répartissent les champignons en trois grandes catégories en fonction de leur mode de vie : les saprobiontes s'alimentent de matière organique morte ou en décomposition ; les parasites vont puiser leur énergie dans la matière organique vivante, sur les plantes, Il en est ainsi des lichens, une association entre algues et champignons, et des champignons mycorhiziens, une association entre champignons et racines de végétaux(MARIE-FRANCE GEVRY, 2010).



Figure n°1 : Exemple champignon Saprophyte: fromage (MARIE-FRANCE GEVRY, 2010).

Les propriétés principales des Champignons sont représentés dans le tableau 1

Tableau n°1: Illustration de quelques Propriétés principales des Champignons (DELARRAS, 2007)

Forme	Structure filamenteuse, hyphes ou filaments à paroi souvent composées de chitine, septés ou siphonnés - Espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par bourgeonnement ou scissiparité.
Croissance des hyphes	Croissance strictement apicale, puis ramification de l'hyphes conduisant à la formation d'un mycélium ou thalle.
Métabolisme général	Chimiohétérotrophes - Source de carbone et d'énergie : molécules carbonées organiques - Suivant les espèces, peuvent lyser les polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines et des lipides.
Mode de reproduction	Sexuée ou asexuée par l'intermédiaire des spores.
Habitats naturels	<ul style="list-style-type: none"> - Air, eaux, solsvivent en saprophytes ou parasites. - Champignons pathogène pour l'homme. - Matières premières alimentaires, aliment... pouvant être contaminés par des moisissures toxigènes.

I.2 Moisissures

I.2.1 Généralité des moisissures

Le terme de « moisissure » n'a pas réellement de signification systématique, il est utilisé de façon empirique pour désigner tous les champignons microscopiques qui intéressent l'économie et l'environnement humains de façon bénéfique ou néfaste

(ROQUEBERT MF, 1998).

C'est des champignons microscopiques, eucaryotes, hétérotrophes dont les aliments constituent généralement des substrats très favorables à leur développement (CAHAGNIER, 1998).

Les moisissures peuvent être :

- *Nuisibles* : provoquent des altérations au niveau des aliments.
- *Utiles* : interviennent dans la production d'aliments, d'antibiotiques, d'enzymes et dans diverses fermentations (LEYRAL et VIERLING, 2007).

I.2.2 Mode et conditions de développement

Chez les moisissures, l'appareil végétatif, qui permet la croissance et le développement, est composé de filaments appelés « hyphes » dont l'ensemble constitue un réseau : le mycélium. Celui-ci est parfois visible sous forme de petites tâches colorées à la surface de substrats moisissés. Il va à la recherche de ses aliments, dégrade le support par émission d'enzymes et d'acides, transforme les composants à l'intérieur de la cellule et rejette les déchets à l'extérieur ou les stocke. La dégradation du substrat peut être infime ou considérable, selon l'adaptation spécifique du champignon, la durée et les conditions de son développement. Cette activité de dégradation est causée de la détérioration des supports (C.BÄRTSCHI, 2009).

I.2.3 Physiologies et exigences nutritionnelles

- Ayant exigences nutritionnelles variées ne sont pas toutes aptes à se développer dans un seul et même milieu de culture ;
- mode de nutrition c'est absorbotrophes hétérotrophes (glucose, fructose, mannose...mais aussi amidon, peptones, papiers, peintures, silicones, caoutchou) Un potentiel enzymatique important et varié (C.BÄRTSCHI, 2009).

I.2.4 Structure et organisation

Eucaryotes, non photosynthétique, immobiles, multicellulaire, élément structural de base est l'Hyphes, ramifiés entre eux forment un mycélium ou thalle pluricellulaire, les thalles sont :

- Cloisonnés (septés: cellules bien séparées).
- Coenocytiques (pas de cloisons transversales).

la paroi est riche en cellulose, hémicellulose, chitine, sub mucilagineuses, sub pectiques, polysaccharides, pigment et protéines, cytosol avec organites, mb cytoplasmique adjacente à la paroi (CAIRNS-FULLER *et al.*, 2005).

I.2.5 Classement des moisissures

Il s'agit d'un véritable règne comprenant des divisions, elles-mêmes subdivisées en classes, les classes englobent des ordres qui rassemblent des familles, une famille peut comprendre un ou plusieurs genres et le genre, à son tour, rassemble une ou plusieurs espèces. Chaque champignon porte un nom qui suit les règles de la nomenclature binominale (genre et espèce) énoncées au XVIII^{ème} siècle par Carl von Linné.

La classification de Kwon Chung et Bennett (1992) modifiée par de Hoog et Guarro (1995) est la plus utilisée actuellement. Estimant à plus de 100 000 le nombre d'espèces 24 fongiques, plus de 1000 d'entre elles pouvant contaminer les aliments (CASTEGNARO & PFOHL-LESKOWICZ, 2002).

I.2.6 Caractère physiologie :

I.2.6.1 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 certain -6 tel que le *Chrysosporium pannorum* et *Cladosporium herbarum* (PFOHL LESZCOWICZ, 2001).

Les espèces thermophiles sont plus rares. C'est le cas de l'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus*

fumigatus. 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. Ces caractéristiques physiologiques (besoin d'une faible teneur en eau et développement possible dans un large intervalle de température) font que cette espèce est 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. Toutefois, les mycotoxines sont, elles, pour la plupart thermorésistantes (PFOHL-LESZKOWICZ, 2001).

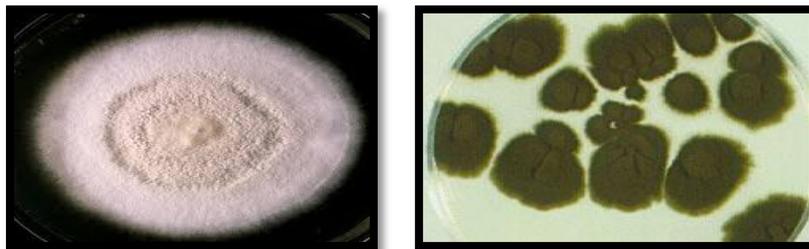


Figure n°2: Exemple des espèces sont psychrophile *Chrysosporium pannorum* et *Cladosporium herbarum* sur (PFOHL LESZKOWICZ, 2001).



Figure n°3: Exemples des espèces sont thermophiles: *Aspergillus flavus* et *A. fumigatus* (CASTEGNARO & PFOHL-LESZKOWICZ, 2002).

I.2.7 Principaux effets des moisissures sur la santé humaine

Toutes les moisissures sont saprophytes se développant sur et au détriment de matériaux très variés. Parfois, certaines d'entre elles peuvent devenir "opportunistes" en parasitant l'organisme hôte. Un tel comportement peut occasionner chez certaines personnes dont les défenses sont affaiblies, des effets néfastes sur la santé. Ces effets sont de type irritatif, immunologique (réactions allergiques et réponses immunitaires nocives) ou toxique (réactions aiguës à de fortes concentrations et réactions systémiques suite à l'exposition répétée aux mycotoxines). Plus rarement ces effets sont cancérigènes ou prennent la forme d'infections opportunistes chez des individus sèvent rament immunodéprimés comme par exemples des fusarioses ou des aspergilloses disséminées, ou profitant de l'absence normale d'une défense immunitaire dans l'appareil unguéal pour provoquer une onychomycose. Ce dernier effet, peut être provoqué par de nombreuses espèces de moisissures dont la classification est abordée dans le paragraphe ci-après, l'accent étant mis sur la classe reconnue à l'origine des dites onychomycoses à moisissures.

La colonisation du substrat est donc réalisée par extension et ramification des hyphes. L'accroissement de celles-ci s'effectue par le sommet où se réalise l'essentiel des réactions de synthèse et de dégradation. Il s'agit là du métabolisme primaire, indispensable à la construction de la cellule du champignon. Les régions apicales des hyphes sont caractérisées par la présence de nombreuses vésicules cytoplasmiques contenant les enzymes et les précurseurs de synthèse de nouveaux polymères. Les produits du métabolisme "secondaire" non indispensable au fonctionnement de la cellule, sont plutôt stockés en région subapicale. Les métabolites secondaires les plus connus sont les pigments, les antibiotiques, les mycotoxines

Les hyphes sont appliqués sur le substrat ou parfois immergées dans celui-ci. Elles absorbent, à travers leur paroi l'eau, les substances nutritives et les ions qui y sont contenus. Cette fonction implique une perméabilité pariétale qui diminue de l'apex vers les zones plus âgées. Dans les zones actives, il y a en permanence des échanges entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule.

Au point de vue structural, ces hyphes sont des sortes de tuyaux contenant le cytoplasme, les noyaux et autres organites cellulaires. Elles sont généralement cloisonnées. Dans les parties jeunes du mycélium les cloisons sont percées de pores qui permettent le passage du contenu cellulaire d'un compartiment à l'autre. Dans les parties les plus âgées, les cloisons sont fermées, isolant les parties en voie de dégénérescence des parties actives.

Bien qu'elles soient peu exigeantes, la réunion de certains facteurs, nutritifs et environnementaux est néanmoins nécessaire au développement des moisissures. Ainsi, le Carbone et l'Azote sont les éléments nutritifs les plus importants pour les moisissures en sus de quelques ions minéraux (Potassium, Phosphore, Magnésium...) et ce, en très faibles quantités. Les moisissures peuvent(ANNONYME3).

I.3 Levures

I.3.1 Historique

Les levures sont les premiers micro-organismes utilisées par l'homme depuis desmillénaires, en particulier dans la fabrication des boissons alcoolisées et de pain par fermentation(BOUIX & LEVEAU, 1991). Elles sont également les premiers micro-organismes à êtreobservés au microscope par A.Van Leeuwenhoek en 1680 qui les a dessinées. Ce n'estqu avecles travaux de Pasteur (1866-1876) que le rôle des levures dans la fermentation alcoolique a étémis en évidence. A la même époque, la levure fut à l'origine du développement de la biochimieavec notamment les travaux de Büchner. A l'heure actuelle, les levures constituent un matériexperimental de choix en raison de leur double état de micro-organismes et d eucaryotes (POL.D, 1996).

I.3.2Définition

Le mot levure, provient du mot latin « levare » qui se traduitpar lever. Ce mot a été appliqué aux levures en raison de l'aptitude de ces micro-organismes àproduire de CO₂ pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation (OTENG-GYANG, 1984).

Les levures peuvent être définies comme des eucaryotes microscopiques. Elles sont des hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leur caractère unicellulaire et l'absence de vrai mycélium (au moins dans la plus grande partie de leur cycle biologique) (GUIRAUD, 1998).

I.3.3 Habitats

Les levures sont des espèces ubiquitaires, largement distribuées dans la nature. Elles se rencontrent sur les végétaux riches en sucre directement assimilables (BOUIX & LEVEAU, 1991)

En effet, les milieux fortement concentrés en sucre représentent un de leur environnement préférés, comme les sirops, le miel, les fleurs et de nombreux fruits (les pommes, les raisins) (Leclerc, 1975 et Oteng-Gyang, 1984). On trouve également des levures à la surface ou à l'intérieur d'autres êtres vivants, dans les eaux, dans l'atmosphère et dans le sol (Leveau et Bouix, 1993 et Pol., 1996). Par ailleurs, le sol constitue un large réservoir assurant leur survie dans des conditions défavorables (LECLERC, 1995).

I.3.4 Morphologie et Structure

Les levures sont des cellules eucaryotes. Elles présentent une structure plus complexe que celle des bactéries notamment par la présence d'un noyau, de mitochondrie, d'un appareil de Golgi et de plus d'un chromosome (saccharomyces cerevisiae a 16 chromosomes) (LABRECQUE, 2003). Les cellules végétatives sont généralement ovoïdes ou sphériques, mais il existe d'autres formes spécifiques : triangulaires, ovales, en forme de citron ou même en forme de bouteille.

Leur taille cellulaire varie de quelques microns jusqu'à 25 à 30 microns. Certaines peuvent former des associations cellulaires ou se présenter sous forme filamenteuse à un certain stade de leur vie (BOUIX & LEVEAU, 1991). Les colonies sont, en général, blanches (très rarement roses ou rouges) et régulières (GUIRAUD, 1998).

I.3.5 Physiologie et Croissance des levures

I.3.5.1 Besoins nutritifs

Pour se maintenir, croître et se reproduire, la levure doit trouver dans son milieu externe les éléments nécessaires à la synthèse cellulaire et des conditions physicochimiques favorables (NOUI, 2001).

I.3.5.2 Sources de carbone

Les sources carbonées sont d'une grande importance pour les levures puisqu'elles fournissent le carbone exigé pour la biosynthèse de constituants cellulaires variés tels que les glucides, les lipides, les protéines, les acides nucléiques etc. Les levures utilisent des sucres comme source principale de carbone et par conséquent d'énergie (BOTTON, 1991).

I.3.6 Reproduction de levure

A-sexuée

Dans des conditions de culture défavorables, les levures sporogènes ne se multiplient pas par bourgeonnement mais elles sporulent.

Les levures, cellules diploïdes, forment des spores, cellules haploïdes, par méiose, à partir d'une cellule diploïde, on obtient 4 spores ou ascospores contenu dans un sac ou Asque après éclatement de l'asque, les ascospores peuvent se multiplier pour donner des cellules haploïdes. Après la fusion de deux cellules haploïdes, on obtient un zygote, cellule diploïde (C.BÄRTSCHI, 2009).

B-asexuée

Le Reproduction par bourgeonnement cloisonnement (BÄRTSCHI, 2009).

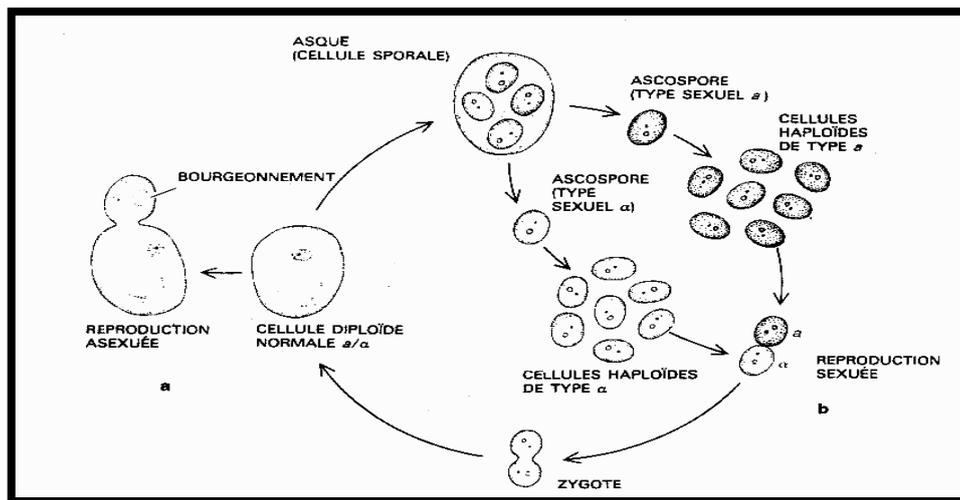


Figure n°4: Reproductions asexuée et sexuée d'une levure

(a: multiplication végétative asexuée ; b: cycle sexué) (BÄRTSCHI, 2009).

I.3.7 Caractères générale des levures

- Cellule généralement ovoïde de quelque micron jusqu'à 25-3µm.
- Certaines font un pseudomycélium comme *Brettanomyces* ou un véritable mycélium comme *Candida albicans*.

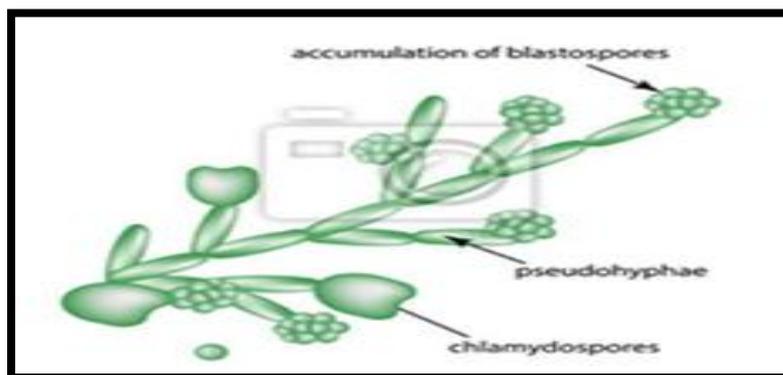


Figure n°5: *Candida albicans* (BOURGEOIS *et al.*, 1996).

Laparoï est caractérisée par 3 polysaccharides : mannanes et glucane et la chitine, cytoplasme (organites habituels des organismes supérieurs) tels que : mitochondries, appareil de Golgi, ribosomes et vacuoles.

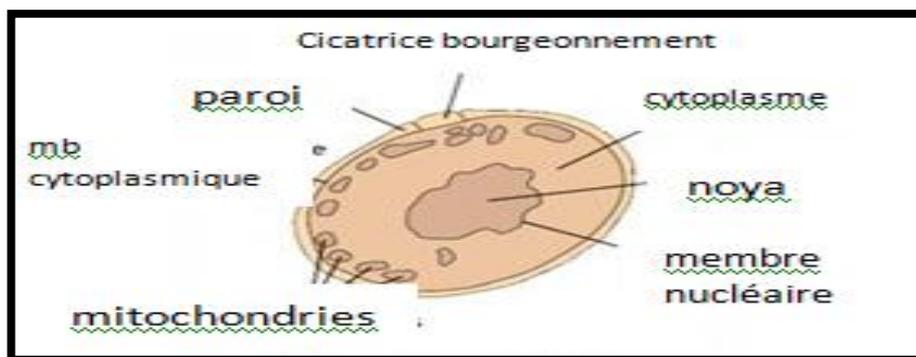


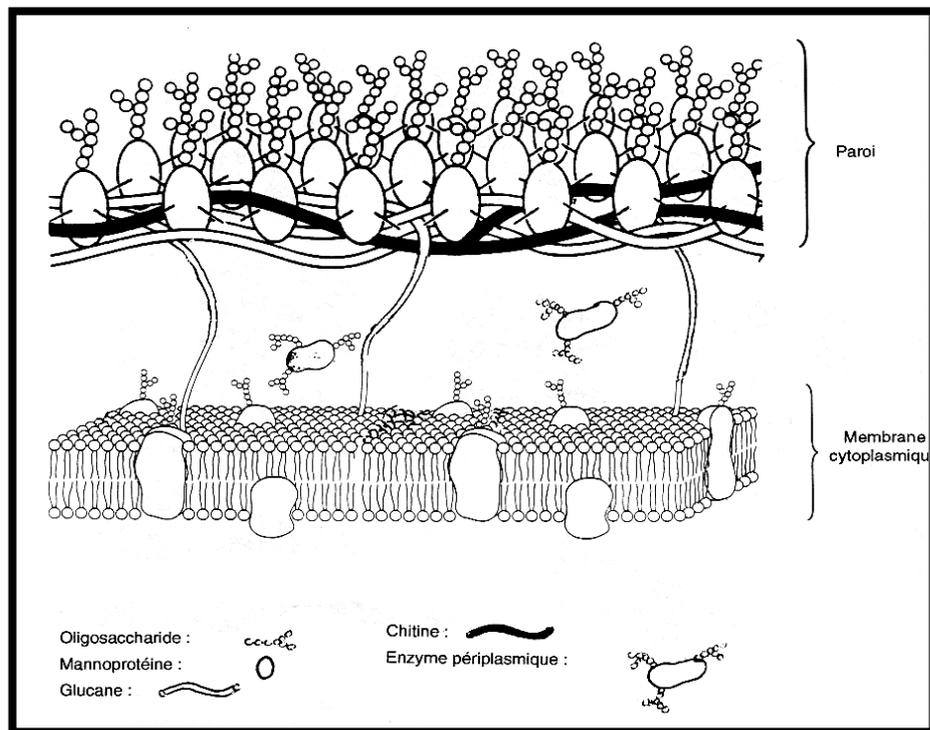
Figure n°6: la cellule de levure (BOURGEOIS *et al.*, 1996).

Les levures appartiennent à l'ensemble des thallophytes qui regroupe les champignons et les végétaux qui ne possèdent ni racines, ni tiges, ni feuilles (algues,

lichens). Ont un appareil végétatif réduit à une seule cellule. Dans certaines conditions de culture, ces cellules s'arrangent en files, mimant le mycélium des champignons.

Les levures sont des organismes non chlorophylliens. Elles n'utilisent donc pas la lumière comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone. Elles tirent leur énergie de la décomposition des matières organiques mortes. La plupart des levures sont saprophytes. Quelques-unes sont parasites. Se trouvent sur tous les milieux riches en sucres qu'elles transforment en éthanol ou en glycérol. Cette transformation s'accompagne d'une forte production de gaz carbonique. Cette fermentation se fait à l'abri de l'oxygène de l'air.

Les levures aiment plutôt les milieux acides. Beaucoup d'entre elles utilisent les acides organiques comme source de carbone et d'énergie (BOURGEOIS *et al*, 1996).



Figur n°7: Structure de la membrane et de la paroi des levures (LARCHER, 2006).

Chapitre II

laboratoire d'analyse

et contamination fongique

Chapitre II: Laboratoire d'analyse et contamination fongique

II.1 Laboratoire d'analyse

II.1.1 Définition de laboratoire

Local pourvu des installations et des appareils nécessaires à des manipulations et des expériences effectuées dans le cadre des recherches scientifiques, d'analyses médicales ou de matériaux, de tests techniques ou de l'enseignement scientifique et technique.

Comme exemple, laboratoire médicale (LBM), ou anciennement, laboratoire d'analyses médicales (LAM), est un lieu où sont prélevés et analysés divers fluides biologiques d'origine humaine sous la responsabilité des biologistes médicaux, qui en interprètent les résultats dans le but de participer au diagnostic et au suivi de certaines maladies.

Le laboratoire signifier lieu de travail comporte :

- Les installations : la paillasse
- Le mobilier : comme les armoires ; tabourets de manipulation ; chaises.....
- L'équipement :
 - ✓ Consommable : pipettes ; les ambots; les tubes sec...
 - ✓ Non consommable : les appareils centrifugeuses ; spectrophotomètre.

(SITE WEB1)

Le laboratoire doit désigner une personne responsable de la santé et de la sécurité au laboratoire (**QMENTUM, 2009**). Des procédures sont nécessaires afin d'assurer un environnement sûr et conforme aux bonnes pratiques et aux réglementations en vigueur. Les politiques et procédures devraient inclure les instructions détaillées concernant les dangers potentiels rencontrés lors de la procédure et les moyens à utiliser afin de minimiser les risques encourus celles-ci doivent être consignés dans un manuel de sécurité et doivent être révisées annuellement. Le technologiste médical doit connaître et mettre en pratique les mesures de santé et de sécurité dans son milieu de travail (**QUÉBEC, 2015**).

II.1.2 Structuration du laboratoire

Les laboratoires d'analyses de biologie médicale sont lieu de nombreuses interactions entre des personnes en bonne santé et des échantillons ou patients potentiellement contaminés. Il est important de limiter tout croisements des circuits propres et des circuits sales. Tout laboratoire d'analyse médicale doit comprendre au moins (HERVI *et al.*, 2018).

II.1.2.1 Local de réception

II.1.2.1.1 Fonctionnalité

Pour un laboratoire, le local de réception est un point stratégique, puisqu'il constitue le premier contact avec les patients. De plus, ce poste regroupe de nombreuses fonctions dont la qualité d'exécution influe sur la fiabilité des analyses. Les personnes occupant ce poste ont comme mission :

- Accueillir.
- Surveiller les différentes arrivées pour ne laisser entrer dans les locaux techniques que les personnes autorisées (coursiers, personnel infirmier...).
- Orienter (vers la salle d'attente, la zone d'accueil confidentielle...).
- Assister des personnes âgées ou ayant des problèmes de déambulation.
- Réceptionner les échantillons et les enregistrer informatiquement.
- Transmettre et expédier les résultats.
- Assurer les transactions financières.
- Répondre aux appels téléphoniques internes et externes (HERVI *et al.*, 2018).

II.1.2.2 Salle d'attente

Cette salle doit permettre une attente confortable pour les personnes selon la clientèle, il peut même envisager une zone d'attente spécifique pour les enfants.

La salle d'attente permet au personnel de l'accueil :

- Gérer le flux de personnes en attente.
- Veiller à la sécurité de personne en attente.

De nombreuses personnes sont amenées à patienter dans cette salle :

- Des patients (des enfants, des personnes âgées, des femmes enceintes, des personnes handicapées).
- Des personnes accompagnant un patient.
- Des commerciaux(OTTAWA & ASPC, 2016).

II.1.2.3 Salle de prélèvement permettant l'isolement des patients

Cette espace est destinée à la réalisation des actes des prélèvements. Le personnel réalisant les prélèvements accomplit plusieurs activités le mettant en relation avec les autres fonctions du laboratoire :

- Prendre connaissance des informations enregistrées à l'accueil concernant le patient et les prélèvements à effectuer ;
- Aller chercher et accueillir le patient en salle d'attente ;
- Accompagner et installer le patient dans la salle de prélèvement ;
- Effectuer les prélèvements et les identifier ;
- Déposer les échantillons et les bons d'examen dans la zone de tri ;
- Nettoyer et ranger la salle avant le prochain patient ;
- Le nombre de l'aménagement des salles peuvent dépendre de :
 - Type de prélèvement effectué.
 - Type patient prélevés(INRS, 2004).



Figure n°8: Aménagement de la salle pour les prélèvements sanguins(INRS, 2004).

II.1.2.4 Salle compartimentées destinée aux activités techniques du laboratoire

Les salles techniques sont dédiées à des activités spécifiques et sont séparées des autres locaux par au moins une porte verrouillée. Leur accès est réservé au seul personnel autorisé. Différentes salles techniques peuvent être conçues en fonction des activités :

- Les analyses de biochimie, immunologie, hématologie peuvent être effectuées dans la même salle ;
- Les analyses de microbiologie (bactériologie, mycologie, parasitologie, virologie) sont réalisées dans des pièces confinées isolées des autres salles (HERVI *et al.*, 2018).



Figure n°9: Zone de PSM de la salle de microbiologie (HERVI *et al.*, 2018).

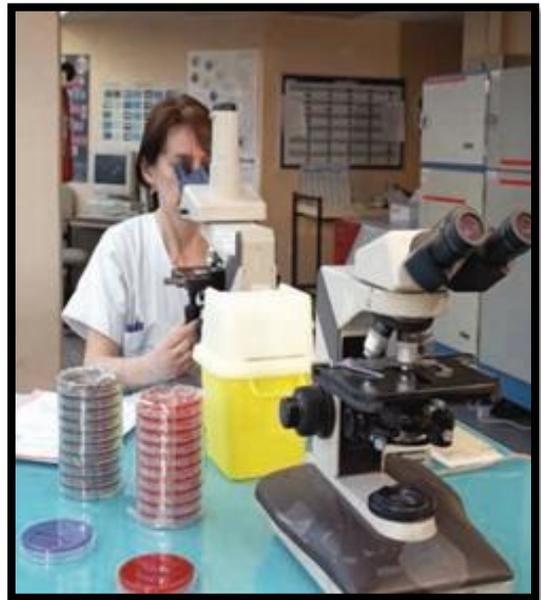


Figure n°10: Zone d'observation Microscopique avec au fond la zone propre (HERVI *et al.*, 2018).

II.1.2.5 Laverie

Permet le nettoyage et la désinfection du matériel réutilisable ne pouvant pas encore être substitué par des matériel à usage unique, elle est localisée en fonction des paramètres suivants :

- En relation de proximité avec les techniques et les salles techniques et les salles de prélèvements ;
- À l'écart des zones d'activité ;
- Doit être suffisamment spacieux pour contenir :
 - ✓ Des palliasses permettant de déposer et séparer le matériel sale du matériel propre ;
 - ✓ Un bac de récupération de produits contaminés ;
 - ✓ Des meubles de rangement (**HERVI et al.,2018**).



Figure n°11: Salle de laverie (**HERVI et al.,2018**).

II.1.2.6 Sanitaires

Les installations sanitaires du personnel sont distinctes des sanitaires des patients situés dans l'espace public. Dans les établissements occupant un personnel mixte, les

toilettes sont séparées pour les personnels masculin et féminin (**JEAN MARC GOUNEL,2005**).

II.1.2.7 Bureaux

Les bureaux sont par oppositions aux salles techniques, des pièces qui ne contiennent aucun échantillon biologique. Il s'agit des bureaux de secrétariat ou des responsables de laboratoire. Le personnel occupant ces pièces :

- Travail sur terminal informatique ;
- Vérifie la validité des résultats d'analyses ;
- Échanger des informations avec le personnel de l'accueil et les patients(**GOUNEL,2005**).

II.1.3 Sécurité au laboratoire

II.1.3.1 Généralité

Le laboratoire doit désigner une personne responsable de la santé et de la sécurité au laboratoire(**QMENTUM,2009**). Des procédures sont nécessaires afin d'assurer un environnement sûr et conforme aux bonnes pratiques et aux réglementations en vigueur. Les politiques et procédures devraient inclure les instructions détaillées concernant les dangers potentiels rencontrés lors de la procédure et les moyens à utiliser afin de minimiser les risques encourus celles-ci doivent être consignés dans un manuel de sécurité et doivent être révisées annuellement.

Le technologiste médical doit connaître et mettre en pratique les mesures de santé et de sécurité dans son milieu de travail(**QUÉBEC, 2015**).

II.1.3.2 Hygiène et sécurité du personnel de laboratoire

L'hygiène est l'ensemble des comportements destinés à conserver un bon état de santé, et des pratiques et mesures collectives visant à diminuer l'incidence de la contamination.

La maîtrise du risque de transmission d'agents infectieux impose le respect par le personnel de précautions « standards » ou générales lors de tout risque dans le laboratoire (**QUÉBEC, 2015**).

II.1.3.2.1 Hygiène des mains

L'hygiène des mains reste la base de la prévention de la contamination fongique, permettant de protéger le professionnel de santé et son environnement de travail. Elle ne peut être efficace que si certains impératifs sont respectés :

- Respect de règles préliminaires d'hygiène des mains : ongles courts et sans vernis, absence de bijoux ;
- Lavages réguliers, correctement réalisés.

Le lavage hygiénique des mains tend à être remplacé pour des raisons d'efficacité et de tolérance par Les produits hydro-alcooliques (gel ou solution) qui permettent de réaliser une désinfection hygiénique des mains par friction. Cette technique est à privilégier en n'incluant un lavage préalable que si les mains sont souillées(**QUÉBEC, 2015**).

II.1.3.2.2 Protection individuelle

A. Tenue de travail

La tenue de travail est l'ensemble des pièces vestimentaires nécessaires à l'exercice professionnel. Elle est associée à l'aspect physique général : cheveux propres, attachés si besoin (cheveux long), absence de bijoux aux mains et aux poignets. La tenue revêtue au début du travail. Elle comporte une tenue de protection et des chaussures de travail (spécifique à l'activité), confortables, faciles à entretenir, à bouts fermés, antidérapantes, de sécurité si besoin. La tenue de protection comprend :

- À défaut une blouse couvrant des vêtements de ville. En fonction des tâches, la tenue sera :
 - ✓ À manches courtes pour faciliter l'hygiène des mains et des avant-bras pour la réalisation des prélèvements
 - ✓ À manches longues pour les activités techniques pour protéger la peau du risque de contact direct par projections, aérosols.

Remplacée par la tenue de ville lors des pauses, de la prise des repas ou de réunions afin de réduire le risque de transmission des micro-organismes(**LAMRANI,2005 ; PULITO, 1985**).

B.Port des gants

Le port des gants ne doit pas dépasser au maximum 45 minutes. Il sera limité à la manipulation des prélèvements et matériel souillés (échantillons, automates, plan de travail).

En revanche, les gants doivent être ôtés pour tout acte « propre » (téléphone, écriture,) et pour contact cutané (visage, lèvres...), et le Changement des gants doit être entre chaque séquence d'examen différent (**LAMRANI,2005 ; PULITO, 1985**).

C.Masque et lunette

Les lunettes de protection protègent contre les risques de projection sur la conjonctive. Il n'y a pas de normes spécifiques pour ces lunettes. Il est souhaitable de les choisir légères, largement « couvrantes » et faciles à nettoyer et décontaminer.

Les lunettes de vue n'assurent pas une protection au même degré que des lunettes de protection proprement dites.

Le port du masque est une mesure efficace dans la protection contre la contamination par voie respiratoire.Cependant, une protection efficace ne peut être obtenue que si un équipement adapté est porté au bon moment, par la bonne personne, suivant des modalités précises (**SQUINAZI, 2003**).

II.1.4 Catégories des dangers

L'existence de plusieurs catégories de dangers nous oblige à élaborer des politiques et procédures selon les risques liés à la santé et à la sécurité dans le laboratoire.Ces politiques et procédures doivent décrire les mesures à prendre pour gérer :

- **Dangers chimiques** :liquides inflammables, gaz toxiques.
- **Dangers biologiques** : bactéries, virus, parasites ou champignons susceptibles de causer des maladies chez l'humain.
- **Dangers physiques** : environnement, rayonnement, bruit, agression thermique, dangers mécaniques ;
- **Dangers ergonomiques** : éléments liés à la conception d'un milieu de travail

qui agressent l'organisme humain physiquement ou mentalement;

- **Dangers psychosociaux** : conditions de travail qui causent un stress psychologique (SHEMATEK *et al.*, 2017).

II.1.5 Législation

Plusieurs lois régissent la santé et la sécurité dans nos laboratoires voici, sans s'y limiter, certaines de ces lois ou réglementations :

- Les lois et règlements en matière d'hygiène et de sécurité au travail;
- La Loi sur les accidents du travail et les maladies professionnelles;
- La législation sur l'environnement;
- Le Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT);
- La réglementation sur l'élimination des déchets biomédicaux;
- La réglementation sur le transport des marchandises dangereuses (RTMD);
- Le Code de prévention des incendies des municipalités;
- Le Code des bâtiments (BERTHOLEY *et al.*, 2002).

II.2 Contamination fongique

II.2.1 Contrôle et surveillance de contamination fongique

L'objectif de fond du contrôle de contamination est d'établir un niveau de référence et un système de surveillance proprement dit de routine par un échantillonnage régulier pour quantifier voire qualifier le taux de microorganismes présents. Le CLIN recommande l'association de deux types de contrôles : contrôles d'air et contrôles des surfaces. Ces approches air et surface sont complémentaires pour l'étude globale de l'aérobiocontamination. Pour cela, il paraît souhaitable d'associer deux types de prélèvements pour la surveillance de l'aérobiocontamination :

-Des **prélèvements de l'air** qui donnent une information sur la présence de bioparticules aéroportées (spores) dans l'environnement.

-Des **prélèvements de surfaces** témoins de la sédimentation des particules qui permettent de mesurer le niveau global de la bio contamination.

Ces contrôles s'inscrivent dans le cadre de la démarche qualité et doivent faire l'objet d'un plan d'échantillonnage sur la base des points critiques à surveiller prioritairement.

Enfin on gardera à l'esprit que le risque pour l'homme n'est pas le même que pour les collections et que les allergènes et mycotoxines peuvent persister sur les structures fongiques inactivées (**BROCARD-LEMORT, 2000**).

Chapitre III

Matériel

et méthodes

Chapitre III : Matériel et méthodes

III. 1 Type et objectif de l'étude

Elle s'agit d'une étude transversale réalisée dans 24 laboratoires d'analyse dans la région de Naama durant la période de Février à Avril 2019, Afin d'apprécier l'hygiène dans les laboratoires d'analyse, notre étude a porté sur la flore de contamination superficielle d'origine fongique.

Nous avons réalisé une étude microbiologique quantitative à partir d'échantillons provenant des outils et de différents endroits de la structure de laboratoire.

III.2 Lieu de l'étude

L'étude a été effectuée sur 24 laboratoires :

-Wilaya de Naama

- Laboratoire d'assainissement (hygiène) ;
- Laboratoire d'assainissement (leishmaniose) ;
- Laboratoire d'assainissement (BK) ;
- Laboratoire d'analyse de sang à EPSP (13 Février) ;
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Frère Hamzaoui) ;
- Laboratoire d'anatomie et de cytopathologie EPSP (Frère Hamzaoui) ;
- Laboratoire d'analyse de sang à EPH (Kadri Mohamed) ;
- Laboratoire de CACQUE ;
- Laboratoire de l'ADE.

- Mecheria

- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Nouali Ben Mhamed) ;
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Ziané Kebir) ;
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Amrani Bomadiane) ;
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Dahmani Hadj Miloud) ;
- Laboratoire d'analyse de sang EPH ;
- Laboratoire de l'état privé (Razi) ;

- Laboratoire de l'état privé (Chefaa) ;
- Laboratoire de l'état privé (Gazen) ;
- Laboratoire d'ONA.

-Ain sefra

- Laboratoire d'analyse de sang EPH (Mohamed Boudiaf)
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Merin Mohamed)
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Amzi)
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Lashel Chikh)
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (18 Février)
- Laboratoire d'analyse de sang EPSP (Msegem Ahmed -sfisifa_)

Les analyses microbiologiques ont été effectuées au laboratoire de département de Biologie à l'université de Naama.

III.3 Sites et nombre de prélèvements effectués

Les prélèvements des échantillons ont été effectués au niveau de différents laboratoires: biochimie, hématologie, sérologie et bactériologie.

Nous avons effectué nos analyses au moment de la réalisation de différentes analyses journalières, Nous avons choisi neuf sites à tester pour nos prélèvements: portoir, centrifugeuse, micropipette, pince, étuve, poignée de porte, thermomètre, bécher et paillasse (voir annexe3).

Ce sont des sites qui représentaient le plus grand risque de contamination dans un laboratoire d'analyse, les plus susceptibles au dépôt de spores fongique, et les plus fréquemment touchés par le personnel.

Ainsi, 72 échantillons ont été effectués durant la période de Février à Avril 2019.

III.4 Méthodes

III.4.1 Méthode de prélèvement

Pour des raisons de commodité de travail, de simplicité et de rapidité, nous avons choisi la technique d'écouvillonnage.

À l'aide de l'écouvillon stérile, nous avons frotté la surface choisie en effectuant des zigzags serrés tout en roulant la tige de l'écouvillon sur son axe de telle sorte que toute la surface de l'écouvillon ait été en contact avec la surface à explorer (paillasse et matériels).

Les échantillons ont été prélevés et préparés selon les dispositions de la réglementation française (Note de service n°2007-8275 du 14 novembre 2007) utilisant la technique de l'écouvillonnage d'une surface de 100 cm² (Guyader *et al.*, 1996). Chaque écouvillon a été collecté dans un tube contenant 9ml de l'eau physiologique.



Figure n12: Écouvillons

Une fois les prélèvements réalisés, tous les écouvillons et les boîtes de Pétri étaient scellés pour prévenir une contamination ultérieure ; ils étaient ensuite acheminés rapidement au laboratoire (département de Biologie) pour empêcher une perte de viabilité de l'échantillon.

III.4.2 Technique d'isolement

III.4.2.1 Milieu de culture

Les milieux de culture lyophilisés sont mélangés avec 1000ml l'eau distillée dans une fiole jaugée et homogènes par agitateur chauffant jusqu'à ébullition

Ces milieux sont stérilisés à 121°C pendant 15min par autoclave et coulés en boîtes pétries par 15ml pour chacune étiquetés en respectant la zone d'asepsie (Annexe 2).

III.4.2.2 Prélèvement et dilution

Nous avons préparé 3 tubes à essai contenant 9 ml de l'eau physiologie. Ces tubes à essai serviront à faire les dilutions successives, nous avons prélevé des échantillons de la solution de départ et la transférer dans le tube suivant, puis prendre un échantillon de ce tube pour le mettre dans le suivant, etc.

Avant de démarrer les dilutions, il est souhaitable d'étiqueter à l'avance les tubes à essai pour éviter par la suite toute confusion.

Dans chaque tube, nous avons une concentration dix fois plus faible que dans le précédent, le premier tube contiendra une solution diluée au dixième, le deuxième, au centième, le troisième, au millième (Voir figure n13).

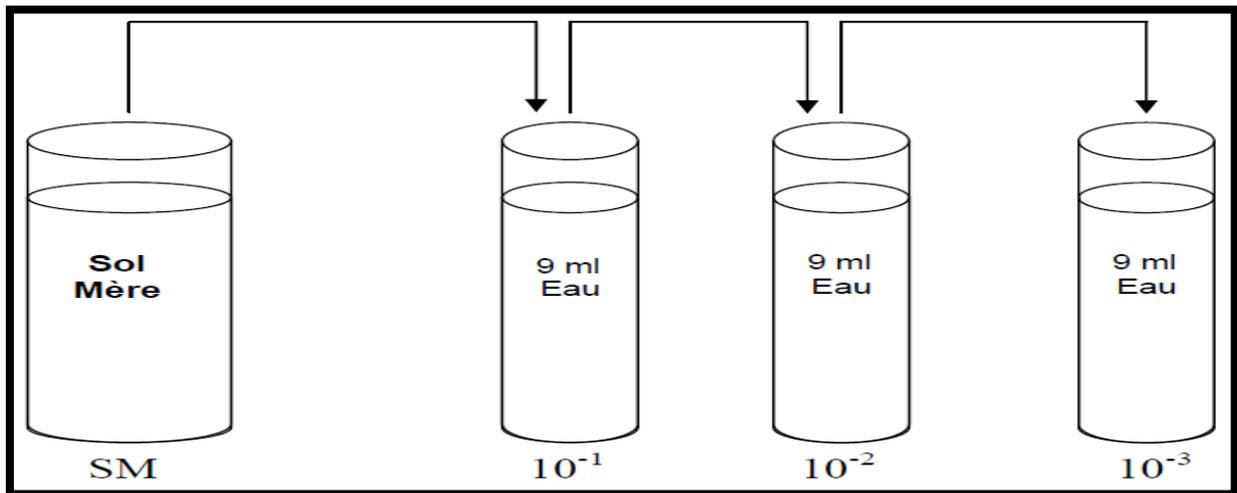


Figure n°13 : Schéma de la préparation de la solution mère et des dilutions décimales

III.4.2.3 Ensemencement

Les boîtes coulées sontensemencées par lessuspensions(SM, 10^{-2} , 10^{-3}) qui sont déjà mélangée à l'aide d'un vortex. L'ensemencement était réalisé selon la méthode d'inondation.

III.4.2.4 Méthode d'inondation

Dans une zone d'asepsie, recouvrir la boîte Pétrie avec 09 ml de la suspension utilisée pendant 20 min, les boîtes de Pétriensemencés ont été incubés à l'étuve à 26°C (qui est une température optimale de croissance pour un grand nombre de champignons) pendant aumoins 7 jours.



Figure n °14: manipulation de méthode inondation.

III .5 Méthode de dénombrement

Le dénombrement consiste à compter les colonies présentes sur les boites en Unité Formant Colonie (UFC). Le comptage se fait macroscopiquement. En tenant compte des caractéristiques des colonies sur son milieu approprié, seules les boites ayant 10 à 300 UFC sont retenues. Le nombre d'Unité Formant Colonie (UFC) est déterminé selon la formule :

$$[N] = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1 n_2) dV X d}$$

- Soit Σc la somme de toutes les colonies comptées sur toutes les boîtes retenues (et tel que au moins une des boîtes comptées contenait au moins 15 colonies).
- Soit V le volume inoculum appliqué à chaque boîte (en général exprimé en mL).
- Soit n_1 le nombre de boîtes retenues à la première dilution.
- Soit n_2 le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.
- Soit d le taux de dilution de la première dilution retenue pour les comptages sur boîte.
- $D =$ taux de dilution la plus faible retenu exp pour $S_m = 1$, pour $d = 0.01$ pour la dilution 1/100.

Nous avons dénombré les germes contenus dans les boîtes à l'aide d'un appareil (compteur colonies). Lorsque plusieurs points critiques existent dans une salle, on fait la moyenne des boîtes pour calculer le nombre de germes.



Figure n°15 : Le dénombrement sur appareil compteur colonies.

Chapitre IV

Résultat

et discussion

Chapitre IV : Résultat et discussion

Les résultats obtenus des différents laboratoires d'analyses sont présentés dans les tableaux suivants :

IV.1 Répartition de la flore fongique dans les laboratoires de la wilayadeNaama

Tableau2 :Résultats de dénombrement de 3 premier laboratoires

Prélèvement	Dilution	Lb1	Lb2	Lb3
Paillasse	SM	14	17	23
	S-2	Inf	9	16
	S-3	Inf	ABS	9
Portoir	SM	27	26	16
	S-2	10	14	10
	S-3	Inf	10	Inf
Poignée de Porte	SM	30	25	26
	S-2	Inf	16	16
	S-3	ABS	Inf	9

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 cm



Figure16:Répartition de la flore fongique par UFC dans les 3 premier laboratoires.

Tableau N 3 : Résultats de dénombrement de 4^{eme} et 5^{eme} et 6^{eme} laboratoires.

Prélèvement	Dilution	Lb4	Lb5	Lb6
Paillasse	SM	19	31	18
	S-2	12	18	9
	S-3	inf	9	inf
Portoir	SM	33	20	10
	S-2	17	9	inf
	S-3	9	abs	abs
Étuve	SM	10	18	16
	S-2	inf	9	inf
	S-3	Abs	Abs	inf

Unité = x 10³ UFC/ ml / pour la paillasse = x10³ UFC/ml pour une surface 10²CM

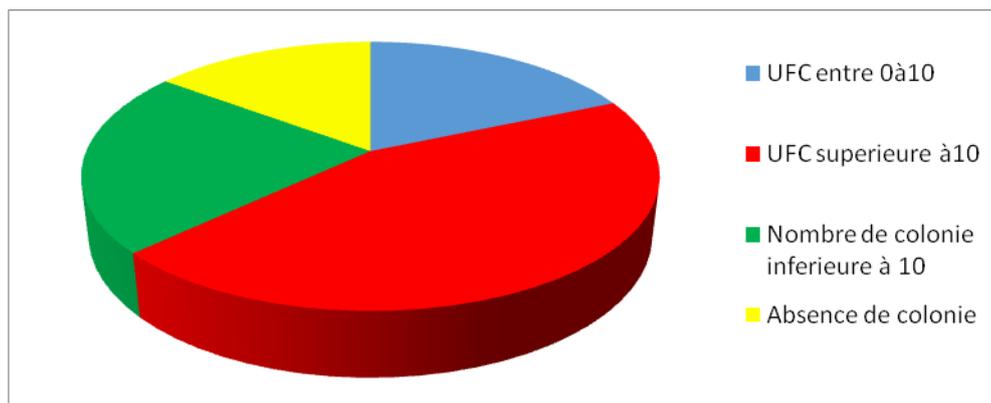


Figure 17:Répartition de la flore fongique par UFC dans les 4^{ème} et 5^{ème} et 6^{ème} laboratoires.

Tableau N 4 : Résultats de dénombrement de 7^{ème} laboratoire.

Prélèvement	Dilution	Lb7
Paillasse	SM	18
	S-2	13
	S-3	inf
Portoir	SM	20
	S-2	17
	S-3	11
Étuve	SM	9
	S-2	inf
	S-3	abs

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

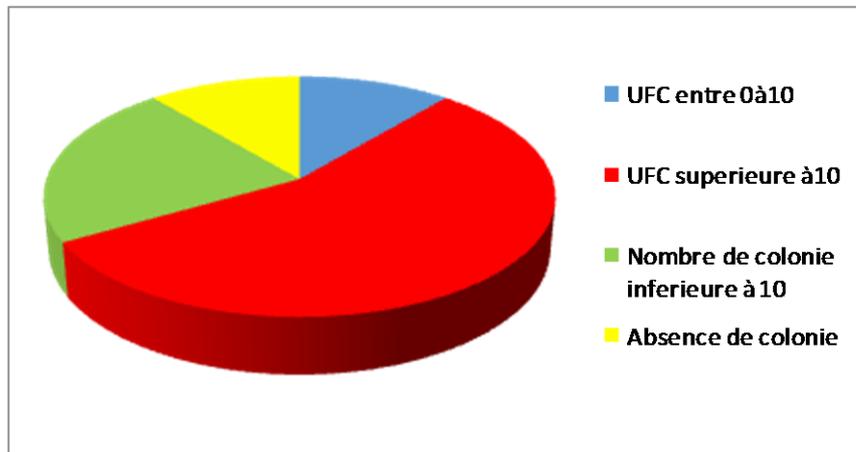


Figure 18: Répartition de la flore fongique par UFC dans le 7^{ème} laboratoire.

Tableau N5: Résultats de dénombrement de 8^{ème} laboratoire.

Prélèvement	Dilution	Lb8
Paillasse	SM	20
	S-2	13
	S-3	9
Micropipette	SM	38
	S-2	30
	S-3	17
Étuve	SM	15
	S-2	13
	S-3	9

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

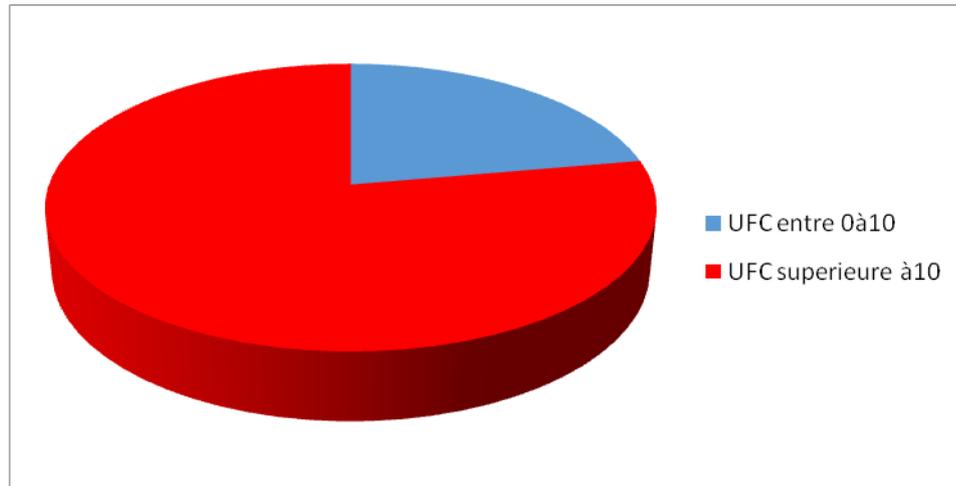


Figure 19: Répartition de la flore fongique par UFC dans le 8^{ème} laboratoire.

Tableau N 6 : Résultats de dénombrement de 9^{ème} laboratoire.

Prélèvement	Dilution	Lb9
Paillasse	SM	15
	S-2	9
	S-3	Inf
Micropipette	SM	28
	S-2	20
	S-3	9
Centrifugeuse	SM	23
	S-2	11
	S-3	9

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

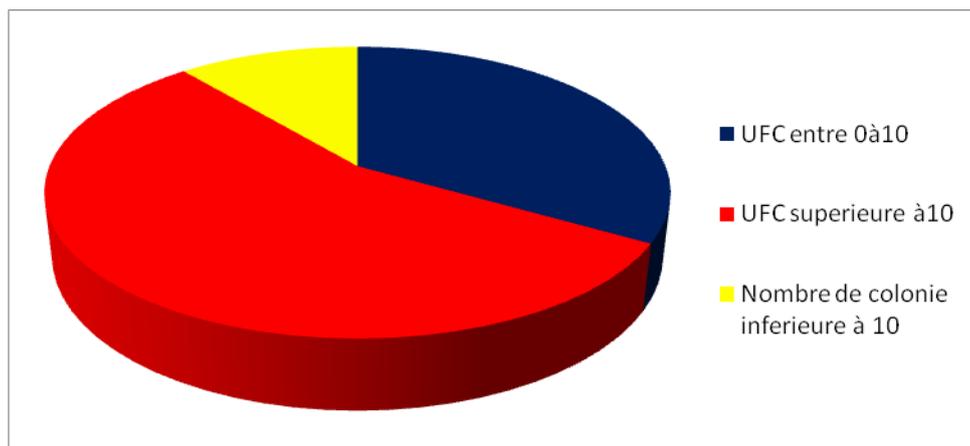


Figure 20:Répartition de la flore fongique par UFC dans le 9^{ème} laboratoire.

IV.2 Répartition de la flore fongique dans les laboratoires de Mecheria :

Tableau 7:Résultats de dénombrement de 10^{ème} à 13^{ème} laboratoires :

Prélèvement	Dilution	Lb10	Lb11	Lb12	Lb13
Paille	SM	18	28	20	15
	S-2	11	20	13	9
	S-3	9	9	Inf	Inf
Portoir	SM	16	18	10	12
	S-2	9	inf	Inf	9
	S-3	abs	Inf	Abs	Inf
Pince	SM	11	10	11	12
	S-2	inf	inf	Inf	9
	S-3	inf	inf	Abs	ABS

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paille = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

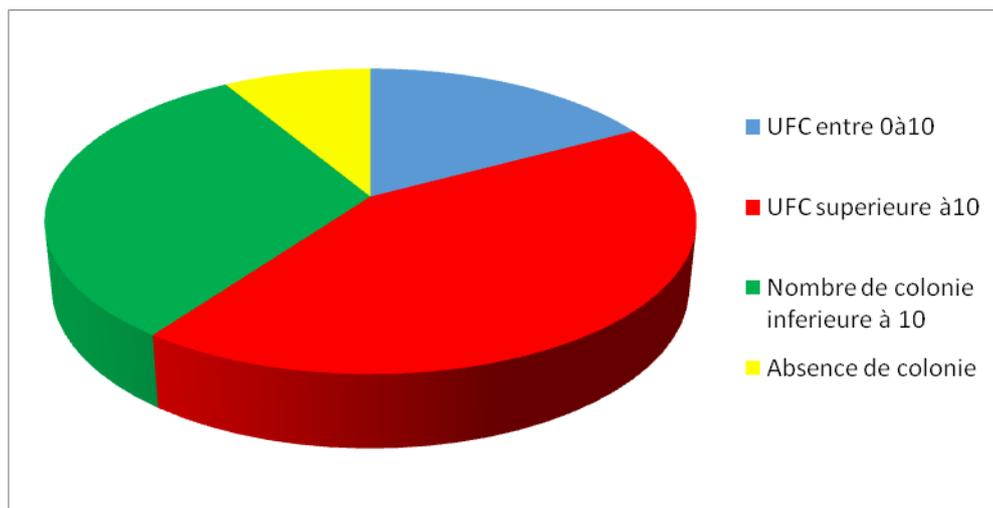


Figure 21: Répartition de la flore fongique par UFC dans les 10^{ème} à 13^{ème} laboratoires.

Tableau N8 : Résultats de dénombrement de 14^{ème} laboratoire.

Prélèvement	Dilution	Lb14
Paillasse	SM	40
	S-2	27
	S-3	18
Micropipette	SM	30
	S-2	20
	S-3	9
Poignée de porte	SM	28
	S-2	19
	S-3	12

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

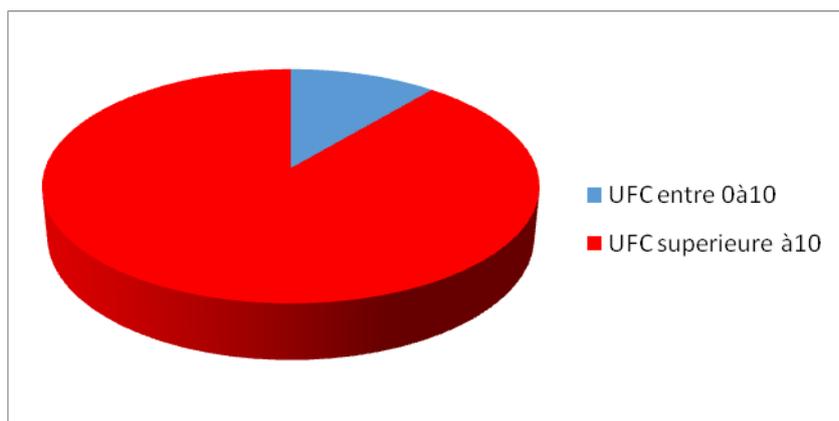


Figure 22:Répartition de la flore fongique par UFC dans le 14^{ème} laboratoire.

Tableau N9 : Résultats de dénombrement de 15^{ème} à 17^{ème} laboratoires.

Prélèvement	Dilution	Lb15	Lb16	Lb17
Paillasse	SM	16	12	15
	S-2	9	9	11
	S-3	inf	Abs	Inf
Portoir	SM	11	9	15
	S-2	inf	inf	9
	S-3	abs	abs	Abs
Etuve	SM	18	13	20
	S-2	9	9	11
	S-3	inf	abs	Inf

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

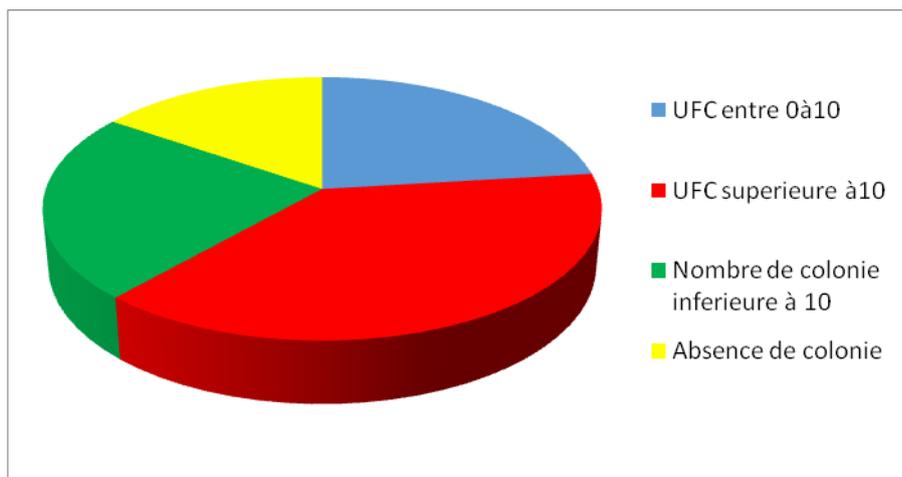


Figure 23: Répartition de la flore fongique par UFC dans les 15^{ème} à 17^{ème} laboratoires.

Tableau N10: Résultats de dénombrement de 18^{ème} laboratoire.

Prélèvement	Dilution	Lb18
Paillasse	SM	33
	S-2	18
	S-3	10
Bécher	SM	29
	S-2	20
	S-3	9
Thermomètre	SM	35
	S-2	22
	S-3	13

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

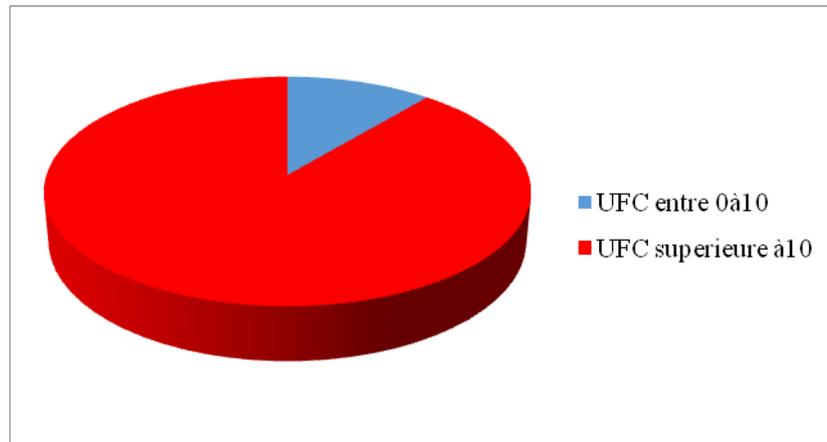


Figure 24:Répartition de la flore fongique par UFC dans le 18^{ème} laboratoire.

IV.3 Répartition de la flore fongique dans les laboratoires d'AinSefra:

Tableau N11:Résultats de dénombrement par de 19^{ème} laboratoire :

Prélèvement	Dilution	Lb19
Paillasse	SM	28
	S-2	21
	S-3	10
Micropipette	SM	20
	S-2	14
	S-3	9
Pince	SM	10
	S-2	Inf
	S-3	Abs

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

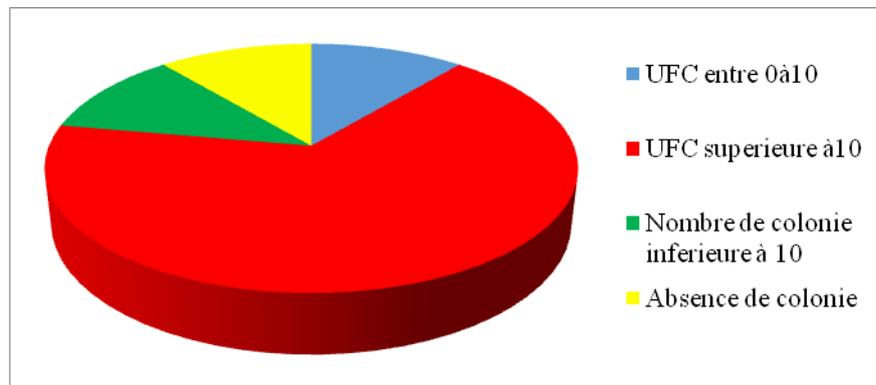


Figure 25:Répartition de la flore fongique par UFC dans le 19^{ème} laboratoire.

Page44

Tableau N12 : Résultats de dénombrement de 20^{ème} à 24^{ème} laboratoires.

Prélèvement	Dilution	Lb20	Lb21	Lb22	Lb23	Lb24
Paillasse	SM	38	12	34	30	18
	S-2	26	9	12	9	11
	S-3	11	inf	9	Inf	inf
Portoir	SM	16	18	20	17	11
	S-2	10	9	13	inf	inf
	S-3	Abs	Inf	inf	inf	Abs
Pince	SM	13	9	22	18	29
	S-2	9	inf	9	10	14
	S-3	Abs	Abs	abs	inf	9

Unité = $\times 10^3$ UFC/ ml / pour la paillasse = $\times 10^3$ UFC/ml pour une surface 10^2 CM

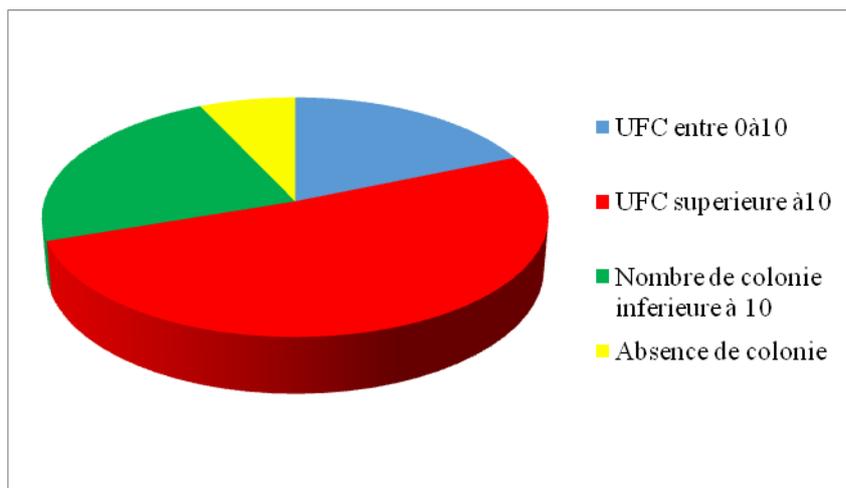


Figure 26: Répartition de la flore fongique par UFC dans les 20^{ème} à 24^{ème} laboratoires.

Page46



Figure n° 27 : Caractères macroscopiques de la flore fongique

Selon les tableaux précédents, nous avons constaté que la prévalence fongique globale dans les laboratoires étudiés était significativement élevée sur 72 prélèvement, qui due essentiellement à la contamination fongique au niveau des laboratoires d'analyses biologiques, ce qui représentait une prévalence plus proche de celle retrouvée à l'hôpital central de l'armée d'Alger au niveau du service de réanimation cardiaque (75%) (Semmoudi, 2017). Et dans le service à risque (service d'hématologie) du CHU de Constantine avec une prévalence 96,36% (Zerdani et al., 2017).

Page46

Dans le cadre de notre étude, nous avons effectué des prélèvements des surfaces, dans une étude à l'hôpital de Constantine, des prélèvements de surfaces ont été effectués en juillet 2016 et janvier 2017 intéressant le sol, les climatiseurs, et tables par écouvillonnages humides (Zerdani et al., 2017),

Nous avons trouvé une biodiversité fongique importante qui a été révélée après les analyses microbiologiques des échantillons sur les différents milieux de culture, la figure 27 page 46 révélait des différentes souches fongiques apparues dans les différents milieux avec des charges plus élevée pour les milieux de cultures : PDA, OGA et Sabouraud, ceux-ci ont été déjà utilisé par d'autres auteurs (Paraskevi et al., 2007 ; Sepahvand et al., 2012 ; Ghadjari, Asgari ,Burnie et al., 1997), ils sont considérés comme les plus adaptés pour la croissance de la flore fongique.

IV.4 Répartition des laboratoires d'analyses selon l'ancienneté

Tableau N 13 : Répartition des laboratoires d'analyses selon l'ancienneté

	Ancien	Moderne
Laboratoires	9	15

Nous avons remarqué que la majorité des laboratoires étudiés étaient modernes, ce qui diffère de résultats de Delphine, (2012) qui a été constaté que plus l'habitation était ancienne, plus la probabilité que l'indice de moisissure relative dans l'environnement serait plus élevé que les logements plus récents.

IV. 5 Répartition des laboratoires d'analyses selon la localisation géographique

Tableau N14 : Répartition des laboratoires d'analyses selon la localisation géographique

Zone	Laboratoires
Urbain	22
Rural	2

Selon le tableau 14, nous avons conclu que la majorité des laboratoires étaient dans la zone urbaine et aucune relation entre la biodiversité de la flore fongique et la localisation des laboratoires.

Conclusion

Bibliographie

Références bibliographiques

Anaissie, E. J., M. R. McGinnis, M. A. Pfaller. 2009. Clinical mycology, 2nd Edition. Churchill Livingstone, Philadelphia, PA., 688 pp.
ANONYME (1997). *Ouest France*, 23/08/97.

BERTHOLEY F., GASCHARD P., GULIANC., GUILLEMIN C., ET SÉDILLO P. Indicateurs en transfusion, *La Gazette de la Transfusion* n°177; 13-15, 2002.

Biologiste en écologie forestière, Marie-France Gévry s'intéresse à l'étude de l'écologie des champignons mycorrhiziens en forêt boréale QC (2010) .

Botton B.(1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2^{ème} édition. Masson. Collection Biotechnologies. p :34-428.

Bouix .M. et Leveau J-Y, 1991. Les levures .Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, édition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Paris.

Bourgeois .C-M et Larpent .J-P, 1996. Microbiologie alimentaire Tome 2 : Aliments fermentés et fermentations alimentaires - 2^{ème} édition Ed. Tec & Doc. PP: 523.

Cahagnier, B., Dragacc, S., Frayssinet, C., J.M. Frémy, Hennebert, Cairns-Fuller V., Aldred D., Magan N., (2005) Water, temperature and gas composition
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

Delarras C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. *Edition Lavoisier*,

Delphine Méheust. Exposition aux moisissures en environnement intérieur : méthodes de mesure et impacts sur la santé. Santé publique et épidémiologie. Université Rennes 1, 2012.

G.L., Lesage-meessen, L., Multon, J.L., Richard-Molard, D. & Guiraud. J-P, 1998. Microbiologie alimentaire Ed. Dunod. PP: 320-652.

Hervi C.,Christine D.,Philippe D.,Alphonse M.,Nayla N.,Michèle R.,Alain S.,Sylvie T.(2018). Conception des laboratoires d'analyses biologiques. Institut National Des Recherche et De Sécurité. ED 999.p :22-57.

interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain, *J. Appl. Microbiol.*, 99, 1215-1221

Labrecque M-H, 2003. Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène, Mémoire pour l'obtention du grade de maître des

sciences. Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Ed, Université Laval. p : 19-24.

Leclerc H., Meyer A. et Deiana J. 1995. Cours de microbiologie générale. Nouveau programme. Biosciences et techniques. Doin éditeurs, Paris. 73-92.

LEYRAL, G et VIERLING, E. (1997) Microbiologie et toxicologie des aliments. Editions Doin, p 54, 55, 81, 82, 82.

Marie-France Gévry

microbia.free.fr › Mycologie › moisissures **2008**

Mycologie: définition et explications – AquaPortail

NOUI Y., 2001. Optimisation de la production de la biomasse *Saccharomyces cerevisiae* cultivée sur extrait de datte. Mémoire d'ingénieur institut d'agronomie, Batna .p 3...5-6
12-14-17-20-40-58

Oteng-Gyang K. 1984. Introduction à la microbiologie dans les pays chauds. Ed. Lavoisier. Paris. PP: 43-51.

Pfohl-Leszkowicz A., (2001), Définition et origines des mycotoxines in *Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque*, Ed. Tec & Doc, 3-14

Philippe Dufresne Guy St-Germain mars 2018 Mortalité élevée lorsque l'infection est invasive.

Pol .D, 1996. Travaux pratiques de biologie des levures. Pellisepse, édition marketing.

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

Roquebert, M.F. (1998) Moisissures des aliments peu hydratés. *Lavoisier Tec&Doc*, France

Semmoudi F, Boubeker R, Mechri M, Yacef B, Bekhouche S, Abdelouahed A, Derderi F, Sahraoui M & Adjmi-Hamoudi H. Enquête aéromycologique en milieu hospitalier : Bilan de l'hôpital central de l'armée entre mars et août 2017. 2ème Journée Franco-Maghrébine. 2017

Sit web 1 mycologie

Zerdani A, Aissaoui I, Benzekri I, Diabi A, Mansour S, Moulahem T. Etude environnementale fongique au niveau du service d'hématologie du CHU Constantine. 2ème Journée Franco-Maghrébine. 2017

Annexes

Annexe 1

Matériel :

Béchers (1000ml), flacons, papier aluminium, seringues, fioles jaugées (500ml), entonnoirs, burettes, spatules, gants, pavettes, verre de montre, Baran, micropipettes, embout, tubes à essai, portoirs, pince, les écouvillons boîtes de pétri (90 mm), marqueur, bec bensen.

Liquides : les milieu (PDA-Sabouraud- OGA), eau physiologie stérile, eau distilléstérile.

Appareillage :

L'etuve, autoclave, agitateur, vortex, balance de précision, bain marie, compteur colonies.

Annexe 2

Milieu de potato dextrose agar (PDA)

Ce milieu est recommandé pour l'isolement et le dénombrement des moisissures et des levures des produits alimentaires. Il est à noter que la stérilisation,

destinée à détruire tous les germes présents au départ dans le milieu, est réalisée dans un autoclave par de la vapeur d'eau sous pression, à haute température. La stérilisation a été pratiquée à 121°C pendant 20min (**BOTTON & al. ,1990**)

GÉLOSE POMME DE TERRE GLUCOSE (PDA)

Pommes de terre.....200 g

Glucose.....20 g

Agar..... 15 g

Eau1000 ml

pH final 5,6.

Gélose Sabouraud :

La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes.

Elle est recommandée essentiellement pour l'isolement des moisissures dans les prélèvements peu chargés en bactéries, les contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, la culture des moisissures en vue de réaliser leur identification.

Dans le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud + chloramphénicol. (**BOTTON & al. ,1990**)

GÉLOSE SABOURAUD GLUCOSE MODIFIÉE (EMMONS)

Neopeptone10 g

Glucose.....20 g

Agar20 g

Eau1000 ml

pH final 7,0

Milieu OGA :

La gélose Glucosée à l'Extrait de Levure et à l'Oxytétracycline (Oxytétracycline-Glucose-Agar) est recommandée pour le dénombrement des levures et moisissures dans le lait, les produits laitiers et les aliments.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Milieu de base

Extrait de levure.....5,00 g

Glucose.....20,00 g

Agar.....12,00 g

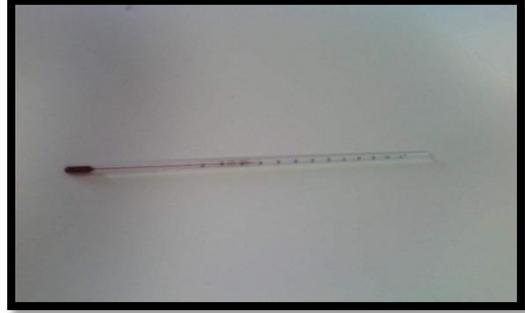
Le milieu prêt à l'emploi en boîtes de Pétri contient en plus du milieu de base Oxytétracycline 0,10

Annexe 3

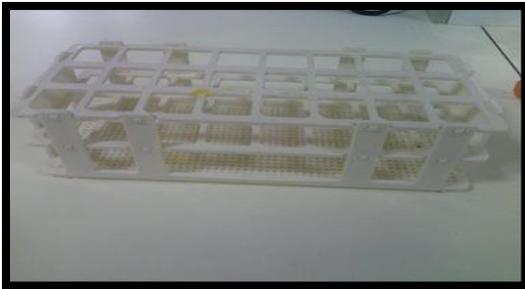
Matériel à analysé



Etuve



Thermomètre



Portoire



Bécher



Pince



Centrifugeuse



Paillasse



Micropipette



Poining de porte

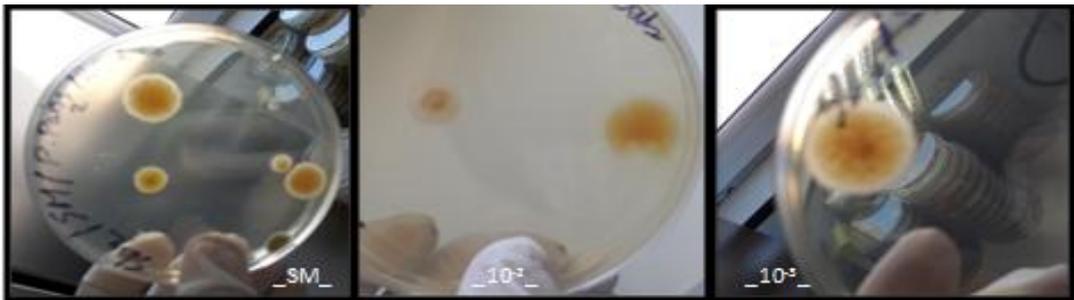
Annexe 4



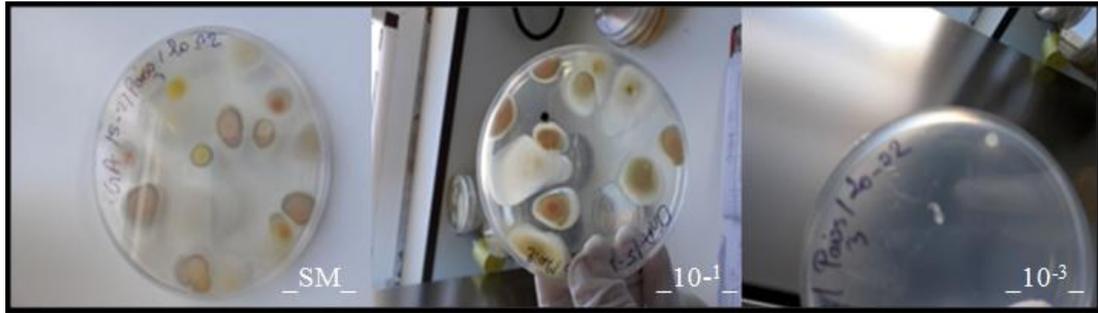
Caractères macroscopiques de la flore fongique1.



Caractères macroscopiques de la flore fongique2.



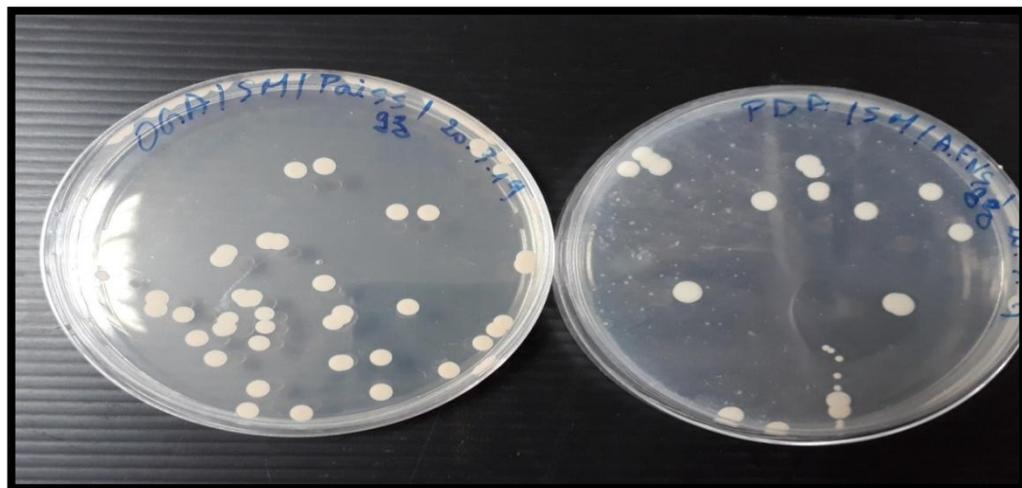
Caractères macroscopiques de la flore fongique3.



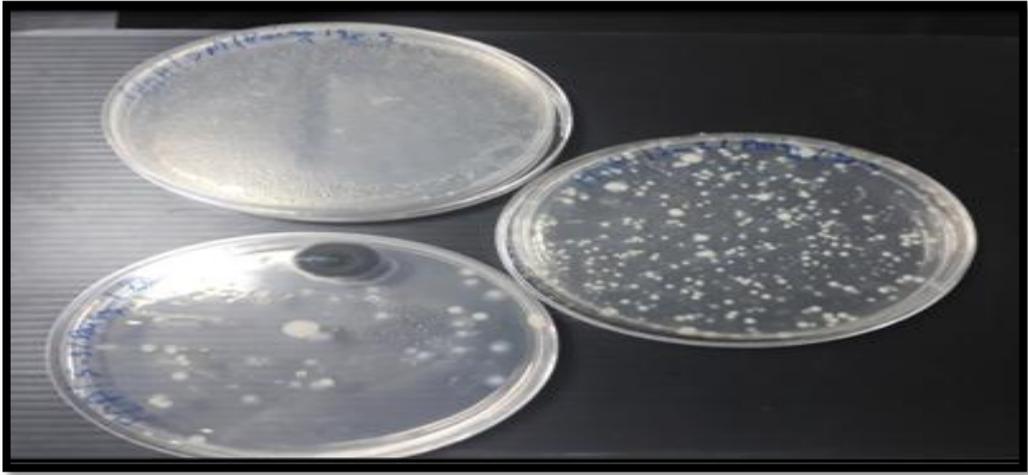
Caractères macroscopiques de la flore fongique4.



Caractères macroscopiques de la flore fongique5.



Caractères macroscopiques de la flore fongique6.



Caractères macroscopiques de la flore fongique7.