

## IDENTIFICATION DES MICROFLORES MYCOLOGIQUES PRÉSENTES DANS LES CASSE-CROÛTES À BASE DE CÉRÉALES PRODUITS ET VENDUS DANS SEPT DÉPARTEMENTS DU BÉNIN

Micheline AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO<sup>1\*</sup>,  
Gyraud Donwahoué HOUANSOU<sup>1\*</sup>, Eléonore LADEKAN<sup>2</sup>,  
Antoinette ADJAGODO<sup>1</sup>, Paul Fidèle TCHOBO<sup>3</sup>  
et Clément AGBANGLA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire des Normes et de Contrôle de Qualité Microbiologique, Nutritionnelle et Pharmacologique (LNCQ<sup>(MNP)</sup>), Département de Génétique et des Biotechnologies (DGB), Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01 01 BP 1636, Cotonou, Bénin*

<sup>2</sup> *Laboratoire de Chimie et de Pharmacognosie, Département de Chimie, Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01 BP 526, Cotonou, Bénin*

<sup>3</sup> *Laboratoires de Génies des Procédés, Génie de Technologie Alimentaire (GTA), Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi (UAC), Bénin 01 BP 526, Abomey-Calavi, Bénin*

(reçu le 25 Août 2020 ; accepté le 28 Décembre 2020)

---

\* Correspondance, e-mail : [gyraudhouansou@yahoo.fr](mailto:gyraudhouansou@yahoo.fr)

### RÉSUMÉ

Au Bénin, la production des casse-croûtes à base de céréales consiste à transformer les céréales en plusieurs produits alimentaires. Cette étude a pour objectif d'évaluer la qualité mycologique des casse-croûtes produits à base de céréales et vendus dans sept (07) Départements du Bénin. Cent quatorze (114) échantillons de casse-croûtes prélevés et codés ont été analysés. Une étude de criblage mycologique par des méthodes standardisées a été faite avec isolement et purification des moisissures microscopiques sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar). L'identification a été effectuée par des observations macroscopiques et microscopiques sur les souches purifiées. Les résultats montrent que sur les cents quatorze (114) échantillons, soixante (60) échantillons contiennent des moisissures de genres diversifiés avec des charges moyennes qui varient entre  $2.10^1 \pm 2$  UFC/g (BsLok et HkMis) et  $7,4.10^3 \pm 2$  UFC/g (BdCov). Les échantillons tels que *hanmi klaklou* (HkAgl) et *bokoun dida* (BdCov) avec des charges moyennes respectives de

$6,5.10^3 \pm 2$  UFC/g et de  $7,4.10^3 \pm 2$  UFC/g ne sont pas de qualité acceptable. L'identification des moisissures isolées révèle la présence de quatre (04) espèces (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer* et *Penicillium sp.*). Les résultats de cette étude constituent une base de données scientifiques qui contribuera à instruire les producteurs (trices) et vendeurs (euses) sur les bonnes pratiques d'hygiène afin de réduire les risques sanitaires liés aux mycotoxines issus des souches de moisissures toxigènes.

**Mots-clés :** *céréales, casse-croûtes, flores mycologiques, toxigènes, Bénin.*

## ABSTRACT

### **Identification of mycological microflora present in cereal-based snacks produced and sold in seven departments of Benin**

In Benin, the production of cereal-based snacks consists of transforming cereals into several food products. The objective of this study is to evaluate the mycological quality of snacks produced from cereals and sold in seven (07) Departments of Benin. One hundred and fourteen (114) samples of snacks were analyzed. A mycological screening study using standardized methods was carried out with isolation and purification on PDA (Potato Dextrose Agar) medium. Strain identification was performed by macroscopic and microscopic observations of the purified strains. The results show that out of one hundred and fourteen (114) samples, sixty (60) samples contain moulds of various genera with average loads ranging from  $2.10^1 \pm 2$  CFU/g (BsLok and HkMis) to  $7.4.10^3 \pm 2$  CFU/g (BdCov). Samples such as hanmi klaklou (HkAgl) and bokoun dida (BdCov) with average loads of  $6.5.10^3 \pm 2$  CFU/g and  $7.4.10^3 \pm 2$  CFU/g respectively are not of satisfactory quality. The identification of isolated mould strains reveals the presence of four (04) species (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer* and *Penicillium sp.*). The results of this study constitute a scientific database that will help educate producers and sellers on good hygiene practices to reduce health risks related to mycotoxins from toxinogenic strains of molds.

**Keywords :** *cereals, snacks, mycological flowers, toxinogenic moulds, Benin.*

## I - INTRODUCTION

L'homme pour satisfaire ses besoins fondamentaux a toujours eu recours à son environnement. Ainsi, pour se nourrir l'homme s'intéresse aux aliments d'origine animale ou végétale, crus, cuits, séchés, naturels ou transformés [1]. Parmi les aliments d'origine végétales, les céréales tels que le maïs, le mil,

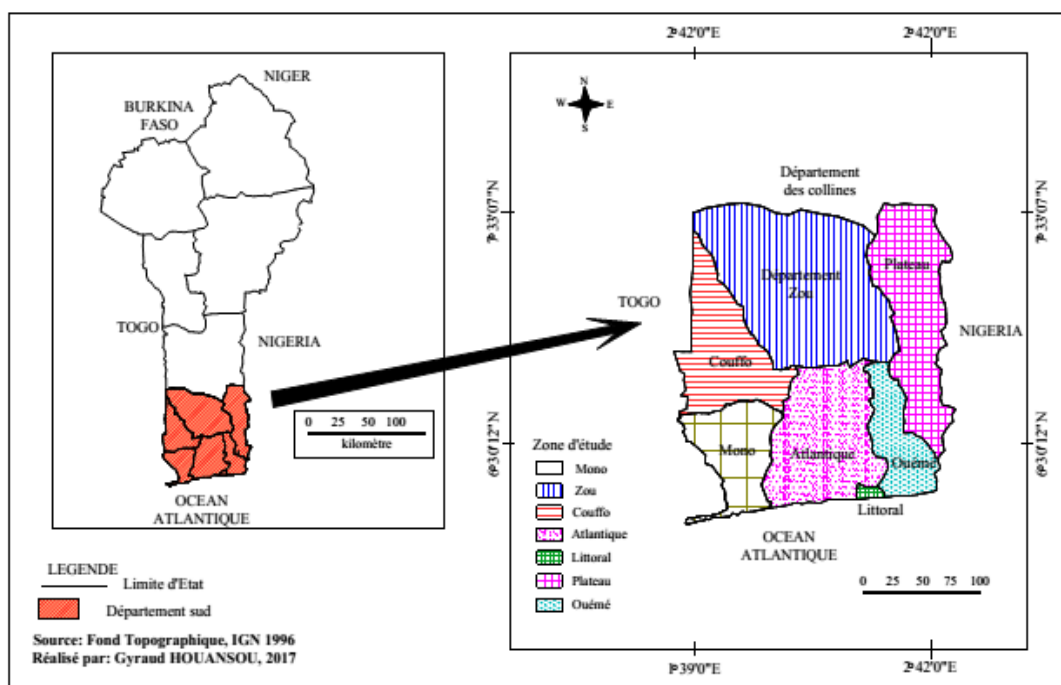
sorgho, etc. occupent une place de choix en raison de la large gamme d'aliments qu'elles permettent d'obtenir [2]. Les céréales sont transformées et consommées sous forme diverses connues sous plusieurs appellations locales ; il s'agit de bouillies (koko, aklui, akuiyonou), de pâtes (tö, owo, akumè, kafa, akassa), de boulettes (yèkè- yèkè, ciéré, wassa-wassa, attiékè, arraw) et de boissons (Tchakpalo, tchoukoutou ou burkutu, dolo) ou d'amuse-bouches [3]. Les amuses bouches ou casse-croûtes sont des collations considérées comme des portions de nourriture souvent plus petites qu'un met ordinaire consommés entre les repas [4]. La transformation des céréales en aliments et en l'occurrence les casse-croûtes font partie intégrante de l'artisanat alimentaire et de la vie socio-économique des peuples [5, 6]. En effet, les technologies de production résultent des pratiques endogènes, transmises et pérennisées à travers l'éducation familiale ou le système traditionnel d'apprentissage [7]. Au Bénin, les casse-croûtes sont vendus le long des axes routiers et occupent une place importante dans l'alimentation pour calmer la faim surtout lors des voyages [8]. La consommation de ces aliments est source véritable de vecteurs de maladies lorsqu'ils renferment des flores pathogènes et des substances chimiques toxiques notamment les moisissures et leurs mycotoxines. Lesquelles peuvent altérer la qualité sanitaire et marchande de ces produits alimentaires impliquant d'énormes pertes économiques [1, 9, 10].

En effet, les moisissures toxigènes constituent un réel danger pour la santé de l'homme lorsqu'ils contaminent ces casse-croûtes. Plusieurs espèces de moisissures sont dotées génétiquement d'un pouvoir toxigène [11] capables d'excréter des mycotoxines qui sont des produits issus de leur métabolisme secondaire [12] pouvant provoquer un certain nombre de maladies chez l'homme et les animaux. L'exposition des consommateurs aux mycotoxines contenues dans les casse-croûtes peut induire des problèmes récurrents de santé pour l'homme tels que la diminution de l'immunité générale, l'apparition de cancers hépatiques, les calculs rénaux, les problèmes digestifs ou ceux de neurotoxicité [13, 14]. Sur le plan morphologique, les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote classique [1, 15]. Les champignons microscopiques sont généralement hétérotrophes, saprophytes, et ubiquitaires grâce à leurs aptitudes métaboliques étendues [16]. Il n'existe peu de données sur la caractérisation des moisissures dans les casse-croûtes céréaliers produits au Bénin. L'objectif de cette étude est d'évaluer la qualité mycologique des casse-croûtes à base de céréales produits et vendus dans sept (07) Départements du Bénin à travers l'isolement et l'identification des moisissures pouvant altérer sa qualité organoleptique et nutritionnelle.

## II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

### II-1. Présentation de la zone d'étude

Le cadre d'étude est constitué de sept (07) Départements du Bénin (Atlantique, Littoral, Mono, Couffo, Ouémé, Plateau et Zou) (**Figure 1**). C'est une région à forte concentration démographique est d'un climat de type subéquatorial avec deux saisons pluvieuses et deux saisons sèches [17]. Les principales cultures agricoles sont : le maïs, le riz, le manioc, le niébé, l'arachide et le palmier à huile. Le choix porté sur les sept (07) Départements est basé sur la densité de la population, les activités de transformation des produits céréaliers et les préférences alimentaires des populations.



**Figure 1** : Localisation géographique de la zone d'étude

### II-2. Matériel d'étude

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est constitué des échantillons de casse-croûtes à base de céréales produits et vendus dans la zone d'étude. La description sommaire de ces différents casse-croûtes est présentée (**Tableau 1**)

**Tableau 1** : Description sommaire des casse-croûtes céréaliers [2]

Noms des casse-croûtes (appellations en langues locales)	Description sommaire
<i>Mougnon ganvi</i>	Galette salée frite à base de maïs façonnée sous forme de petites boules.
<i>Hanmi klaklou</i>	Galette allongée façonnée frite à base de maïs et de condiments
<i>Dégon klèklè</i>	Galette arrondie frite à base de maïs assaisonnée et mélangée aux crevettes
<i>Avoumi</i>	Galette assaisonnée frite à base de maïs faite en chaîne de boules
<i>Bokoun dida</i>	Grains de maïs bouillis ou grillés, mélangés avec des graines d'arachide cuites ou grillées.
<i>Gbadé dida</i>	Épis de maïs bouillis salé ou non et consommés avec de l'amande de coco ou de l'arachide
<i>Kandji</i>	Pâte cuite sucrée à base de maïs emballée dans des feuilles végétales
<i>Andou</i>	Beignet à base de farine de maïs et d'arachide grillée mélangé à du piment séché écrasé ou farineux et d'épices
<i>Gbadé wouwou</i>	Communément appelé pop-corn est le grain de maïs soufflé
<i>Bokoun sisso</i>	Grains de maïs grillés, mélangés avec des graines d'arachide cuites ou grillées
<i>Gbadé mimin</i>	Épi de maïs grillé salé ou non et consommé avec de l'amande de noix de coco ou avec de l'arachide
<i>Gowé</i>	Pâte fermentée obtenue à partir de maïs ou du sorgho pré-germé consommée sous forme de boisson.
<i>Monlikoun sisso</i>	Grain de riz précuit, séché et frit consommé avec de l'arachide grillée
<i>Massa</i>	Gâteau frit sucré à base de farine de maïs légèrement fermentée
<i>Gbadé klèklè</i>	Galette frite épicée préparée à partir du maïs
<i>Akpan</i>	Pâte à base de maïs fermenté consommée comme boisson fraîche avec du lait
<i>Abla</i>	Pâte emballée et cuite à base de farine de maïs et de niébé
<i>Ablo</i>	Pâte cuite, salée sucrée, fermentée obtenue à partir du manwè (farine de maïs fermenté) et de la farine de du riz
<i>Kowé</i>	Pâte de maïs mélangée avec du gritz de niébé et de l'huile de palme emballée et cuite dans des feuilles végétales

### II-3. Échantillonnage

Dix-neuf (19) types d'échantillons de casse-croûtes constitués des principaux casse-croûtes céréaliers produits et vendus dans les sept (07) Départements du Bénin ont été analysés. Chaque type d'échantillon a été prélevé dans deux (02) localités différentes à raison de trois (03) pour chaque type de casse-croûte. Au total cent quatorze (114) échantillons ont été prélevés pour les analyses. L'échantillonnage a été fait selon la méthode normalisée NFV04-501 : 1998. Ils ont été prélevés dans des sachets de prélèvement stérile de marque Dailypac MOKA avec une face transparente pour un contrôle visuel optimal portant le nom, le code d'échantillonnage le lieu, la date et l'heure d'échantillonnage. Ils ont été acheminés aussitôt au laboratoire dans un délai variant entre 30 minutes et 4 heures selon le lieu de prélèvement.

#### **II-4. Critères de choix des casse-croûtes analysés**

Les casse-croûtes échantillonnés et analysés sont majoritairement produits à partir de la matière première qu'est du maïs. Cette céréale occupe le premier rang parmi les céréales cultivées au Bénin (70 % des superficies céréalières emblavées) [18]. Le maïs est la céréale la plus énergétique, par ses atouts nutritifs surtout sa richesse en amidon et en minéraux et accessoirement en protéines. Les casse-croûtes sont produits par la plupart des productrices (eurs) grâce à leur préférence vis-à-vis de la population cible à cause de leurs coûts relativement abordable, leur goût originel et leur caractère souvent mou ou croustillant. Leur durée et méthode de conservation sont en fonction de leur procédé final de fabrication [6]. Ces casse-croûtes ont été choisis pour l'objet d'un contrôle de qualité mycologique dans le but de garantir leur innocuité pour une bonne sécurité sanitaire des populations.

#### **II-5. Préparation des suspensions mères et des dilutions décimales**

La préparation des échantillons a été réalisée en suivant les recommandations de la norme NF V08-051, 1999. Pour cela, 10 g de chaque échantillon ont été prélevés et broyés préalablement à l'aide d'une meule en porcelaine et ensuite dilués au 1/10 (masse/volume) en y ajoutant 90 ml d'eau peptonée tamponnée. Du tween 80 a été utilisé à raison de 4 ml pour 1 litre de diluant. L'ensemble a été stomaché pendant 30 secondes à l'aide d'un « stomacher » et ensuite gardé sur paillasse pendant 45 minutes pour la revivification de la mycoflore. Une série de dilutions décimales de la suspension mère a été réalisée dans des tubes à essais contenant 9 ml de diluant au tween 80 au préalable (NB 01 11 007, 2006).

#### **II-6. Énumération et identification de la flore fongique**

Suivant la norme NB ISO 7954-2006, pour le dénombrement des germes, 0,1 ml de chaque dilution décimale a étéensemencé et étalé à l'aide d'une anse de platine à la surface de la gélose PDA (Potato Dextrose Agar, Oxoid CM 0134) préalablement coulée et refroidie en boîtes de pétri stériles. L'incubation a été faite à 25°C pendant 3 à 6 jours. Les présumées colonies de moisissures ont été repiquées par étalement en strie Z sur la gélose PDA. Les boîtesensemencées ont été incubées dans les mêmes conditions jusqu'à l'obtention des cultures pures. Après culture, la détermination des caractères morphologiques et culturaux a été faite à l'œil nu. Elle a été basée essentiellement sur les caractères tels que la vitesse de croissance, la texture des colonies, la couleur des colonies, la couleur du revers et de l'envers des boîtes de pétri et le mode de reproduction [19]. Les caractères microscopiques ont été observés par le prélèvement d'un fragment mycélien à l'aide d'une anse de platine stérile. Le fragment a été dilacéré sur une lame portant une goutte

de lactophénol au bleu coton [13, 20], puis le tout a été recouvert d'une lamelle. L'observation a été faite avec le microscope optique-LCD numérique. La méthode microscopique du mycélium utilisée est basée sur l'absence ou la présence de cloisons, la couleur des filaments mycéliens, le mode de ramification des cloisons et la différenciation des thallospores [19].

## II-7. Expression et interprétation des résultats

Les résultats ont été exprimés en Unités Formant Colonies par gramme (UFC/g) de produit analysé. L'interprétation des résultats a été faite en référence aux critères normatifs des valeurs guides des critères microbiologiques applicables aux céréales et produits dérivés de l'Agence Nationale de Normalisation, de Métrologie et du Contrôle de Qualité (ANM) du Bénin qui limite les moisissures à  $5.10^3$  UFC/g de produit.

## II-8. Analyses statistiques

Les valeurs des paramètres déterminées ont fait l'objet d'une analyse statistique descriptive (moyenne, minimum, maximum et écart-type) à l'aide du logiciel Statistica version 6.

# III - RÉSULTATS

## III-1. Flore fongique dénombrée

Les résultats issus des analyses des échantillons de casse-croûtes révèlent que des cent-quatorze (114) échantillons de casse-croûtes analysés, soixante (60) échantillons, soit 52,63 % révèlent la présence de moisissures. Ainsi, des 52,63 % des échantillons ayant montré la présence des moisissures, 94,73 % sont de qualité acceptable par rapport à 5,27 % qui sont inacceptables en tenant compte des critères normatifs de l'Agence Nationale de Normalisation, de Métrologie et du Contrôle de Qualité (ANM) pour les moisissures ( $5.10^3$  UFC/g). Les charges moyennes en moisissures (*Tableaux 2a, 2b*) varient de  $2.10^1 \pm 2$  UFC/g à  $7,4.10^3 \pm 2$  UFC/g. La charge minimale moyenne est dénombrée dans les échantillons codés BsLok et HkMis prélevés respectivement dans les localités de Lokossa dans le Département du Mono et de Misséssinto appartenant au Département de l'Atlantique. La charge maximale moyenne de  $7,4.10^3 \pm 2$  UFC/g est dénombrée dans l'échantillon BdCov prélevé dans la localité de Cové dans le Département du Zou. Les résultats révèlent que seuls les échantillons codés HkAgl et BdCov avec des charges moyennes respectives de  $6,5.10^3 \pm 2$  UFC/g et de  $7,4.10^3 \pm 2$  UFC/g ne sont pas conformes à la valeur guide. Les échantillons tels que : *Gbadé*



*mimin* (GmSak et GmKet), *Monlikoun sisso* (MsAdj et MsSèm), *Gbadé klèklè* (GkWom et GkHou), *Akpan* (AkpZo et AkpZi), *Abla* (AbaAb et AbaAp), *Ablo* (AboCo et AboPh), *Gowé* (GoBoh et GoDan), *Kowé* (KwCov et KwOua), *Massa* (MasKa et MasDj) ont tous une charge moyenne en moisissures de < 1 UFC/g de produits.

**Tableau 2a :** Valeurs moyennes des moisissures dénombrées dans les différents types de casse-croûtes

Échantillons	Moisissures			
	Résultats obtenus (UFC/g)	Valeurs moyennes (UFC/g)		
<i>Hanmi klaklou</i>	HkAgl <sub>1</sub>	6,5.10 <sup>3</sup>	6,5.10 <sup>3</sup> ± 1	
	HkAgl <sub>2</sub>	6,499.10 <sup>3</sup>		
	HkAgl <sub>3</sub>	6,501.10 <sup>3</sup>		
		HkMis <sub>1</sub>	1,9.10 <sup>1</sup>	2.10 <sup>1</sup> ± 3
		HkMis <sub>2</sub>	2,2.10 <sup>1</sup>	
		HkMis <sub>3</sub>	2.10 <sup>1</sup>	
<i>Mougnon ganvi</i>	MgAbo <sub>1</sub>	1,98.10 <sup>2</sup>	2.10 <sup>2</sup> ± 2	
	MgAbo <sub>2</sub>	2. 10 <sup>2</sup>		
	MgAbo <sub>3</sub>	2,02.10 <sup>2</sup>		
		MgBoh <sub>1</sub>	1,95.10 <sup>2</sup>	1,93.10 <sup>2</sup> ± 2
		MgBoh <sub>2</sub>	1,93.10 <sup>2</sup>	
		MgBoh <sub>3</sub>	1,91.10 <sup>2</sup>	
<i>Kandji</i>	KdPah <sub>1</sub>	2,11.10 <sup>2</sup>	2,1.10 <sup>2</sup> ± 1	
	KdPah <sub>2</sub>	2,10.10 <sup>2</sup>		
	KdPah <sub>3</sub>	2,09.10 <sup>2</sup>		
		KdTog <sub>1</sub>	7,7.10 <sup>1</sup>	7,8.10 <sup>1</sup> ± 1
		KdTog <sub>2</sub>	7,8.10 <sup>1</sup>	
		KdTog <sub>3</sub>	7,6.10 <sup>1</sup>	
<i>Bokoun sisso</i>	BsLok <sub>1</sub>	2,1.10 <sup>1</sup>	2.10 <sup>1</sup> ± 2	
	BsLok <sub>2</sub>	1,8.10 <sup>1</sup>		
	BsLok <sub>3</sub>	2,2.10 <sup>1</sup>		
		BsAzO <sub>1</sub>	1,9.10 <sup>1</sup>	2,1.10 <sup>1</sup> ± 2
		BsAzO <sub>2</sub>	2,1.10 <sup>1</sup>	
		BsAzO <sub>3</sub>	2,3.10 <sup>1</sup>	
<i>Bokoun dida</i>	BdCov <sub>1</sub>	7,398.10 <sup>3</sup>	7,4.10 <sup>3</sup> ± 2	
	BdCov <sub>2</sub>	7,400.10 <sup>3</sup>		
	BdCov <sub>3</sub>	7,402.10 <sup>3</sup>		
		BdZan <sub>1</sub>	7,4.10 <sup>1</sup>	7,3.10 <sup>1</sup> ± 4
		BdZan <sub>2</sub>	7,6.10 <sup>1</sup>	
		BdZan <sub>3</sub>	6,9.10 <sup>1</sup>	
Critère ANM	5.10 <sup>3</sup> UFC/g			



**Tableau 2b** : Valeurs moyennes des moisissures dénombrées dans les différents types de casse-croûtes

Échantillons		Moisissures	
		Résultats obtenus (UFC/g)	Valeurs moyennes (UFC/g)
<i>Gbadé dida</i>	GdGod <sub>1</sub>	5,5.10 <sup>1</sup>	5,5.10 <sup>1</sup> ± 1
	GdGod <sub>2</sub>	5,4.10 <sup>1</sup>	
	GdGod <sub>3</sub>	5,6.10 <sup>1</sup>	
	GdAka <sub>1</sub>	2,08.10 <sup>2</sup>	2,06.10 <sup>2</sup> ± 4
	GdAka <sub>2</sub>	2,05.10 <sup>2</sup>	
	GdAka <sub>3</sub>	2,04.10 <sup>2</sup>	
<i>Gbadé wouwou</i> (Pop-corn)	GwGlo <sub>1</sub>	6,8.10 <sup>1</sup>	7.10 <sup>1</sup> ± 2
	GwGlo <sub>2</sub>	7,2.10 <sup>1</sup>	
	GwGlo <sub>3</sub>	7.10 <sup>1</sup>	
	GwZêp <sub>1</sub>	2,17.10 <sup>2</sup>	2,2.10 <sup>2</sup> ± 5
	GwZêp <sub>2</sub>	2,22.10 <sup>2</sup>	
	GwZêp <sub>3</sub>	2,19.10 <sup>2</sup>	
<i>Avoumi</i>	AvTan <sub>1</sub>	4,9.10 <sup>1</sup>	5.10 <sup>1</sup> ± 1
	AvTan <sub>2</sub>	5.10 <sup>1</sup>	
	AvTan <sub>3</sub>	5,1.10 <sup>1</sup>	
	AvOua <sub>1</sub>	1,73.10 <sup>2</sup>	1,72. 10 <sup>2</sup> ± 3
	AvOua <sub>2</sub>	1,75.10 <sup>2</sup>	
	AvOua <sub>3</sub>	1,68.10 <sup>2</sup>	
<i>Andou</i>	AnPob <sub>1</sub>	1,98.10 <sup>2</sup>	2.10 <sup>2</sup> ± 3
	AnPob <sub>2</sub>	1,97.10 <sup>2</sup>	
	AnPob <sub>3</sub>	1,95.10 <sup>2</sup>	
	AnAb <sub>1</sub>	4.10 <sup>1</sup>	4.10 <sup>1</sup> ± 3
	AnAb <sub>2</sub>	3,7.10 <sup>1</sup>	
	AnAb <sub>3</sub>	4,3.10 <sup>1</sup>	
<i>Dégon Klèklè</i>	DkSeg <sub>1</sub>	1,7.10 <sup>1</sup>	2.10 <sup>1</sup> ± 3
	DkSeg <sub>2</sub>	2.10 <sup>1</sup>	
	DkSeg <sub>3</sub>	2,3.10 <sup>1</sup>	
	DkAga <sub>1</sub>	3,71.10 <sup>2</sup>	3,7.10 <sup>2</sup> ± 2
	DkAga <sub>2</sub>	3,68.10 <sup>2</sup>	
	DkAga <sub>3</sub>	3,69.10 <sup>2</sup>	
Critère ANM		5.10 <sup>3</sup> UFC/g	

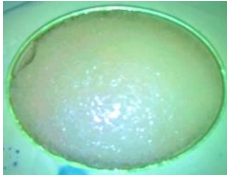

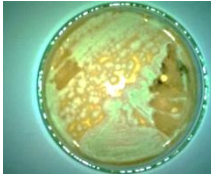

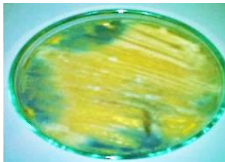
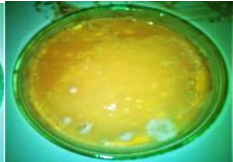

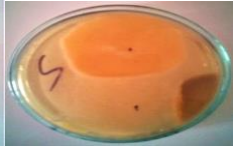
### III-2. Souches isolées des casse-croûtes

Les moisissures telles que *A. flavus*, *A. niger*, *R. stolonifer* et *Penicillium sp.* sont présentes dans les différents types de casse-croûtes analysés

### III-2-1. Description des caractéristiques macroscopiques des souches isolées

Les espèces de moisissures présentent des caractéristiques macroscopiques compilées (**Tableau 3**) ; lesquelles sont propres à chaque espèce et permettent de les identifier.




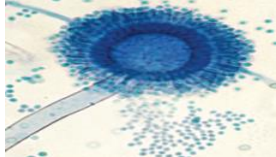
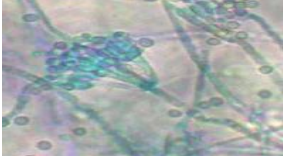
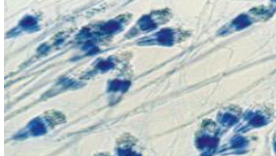

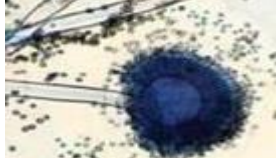
**Tableau 3** : Caractéristiques macroscopiques des espèces de moisissures isolées

Aspects macroscopiques des souches	Colonies	
	Recto	verso
Colonies à texture cotonneuse de couleurs blanche et grise foncée en recto. Les colonies sont incolores au verso de la boîte. La croissance est très rapide et extensive		
	<i>Rhizopus stolonifer</i>	
Colonies duveteuses et poudreuses de couleur blanche au début puis vert-jaune en recto et brunes au verso avec une croissance rapide (48 à 72 heures)		
	<i>Aspergillus flavus</i>	
Colonies duveteuses et poudreuses de couleur verte au recto. Le verso de la boîte est foncé avec un pigment diffus dans la gélose		
	<i>Penicillium sp.</i>	
Colonies granuleuses de couleur blanche puis noires au recto et jaune pâle au verso		
	<i>Aspergillus niger</i>	

### III-2-2. Description des caractéristiques microscopiques

Les caractéristiques microscopiques des souches de moisissures isolées sont décrites (**Tableau 4**).

**Tableau 4 :** Caractéristiques microscopiques des espèces de moisissures isolées

Description	Aspect microscopiques	Images de référence	Espèces
Filament large peu septé, spore ovoïde, rhyzoïdes, sporocystophores bien déterminé	 <p>(grossissement × 100)</p>	 <p>[19]</p>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
Conidiophores longs, vésicules sphérique, phialides directement reliés à la vésicule, conidies globuleuses, tête aspergillaires unisériée	 <p>(grossissement × 100)</p>	 <p>[19]</p>	<i>Aspergillus flavus</i>
Hyphes septés, phialides disposés en verticilles, phialides serrées les unes contre les autres donnant une image de pinceau ou pénicille	 <p>(grossissement × 100)</p>	 <p>[19]</p>	<i>Penicillium sp.</i>
Mycélium long, spores globuleuses disposées en chaîne, phialides insérés sur la vésicule globuleuse	 <p>(grossissement × 100)</p>	 <p>[21]</p>	<i>Aspergillus niger</i>

## IV - DISCUSSION

### IV-1. Flore fongique dénombrée et identifiée

Les résultats des analyses de la flore fongique des échantillons de casse-croûtes analysés révèlent que les deux (02) types de casse-croûtes codés HkAgl et BdCov sont non conformes aux critères béninois qui limitent la présence de la flore fongique à  $5.10^3$  UFC/g. Une diversité de moisissures telles que *A. flavus*, *A. niger*, *R. stolonifer* et *Penicillium sp.* sont identifiées dans les échantillons de casse-croûtes. Ces résultats sont en accord avec ceux de [22] au Niger où les analyses mycologiques des échantillons de maïs ont montré que plus de 70 % des échantillons sont contaminés par les genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*. Aussi, ces résultats ne sont pas en accords avec ceux de [10] au Liban où il apparaît que tous les échantillons de céréales analysés sont de très bonne qualité mycologique. Seulement des faibles charges de flore du champ sont observées (*Acremonium*, *Fusarium* et *Cladosporium*). Cette différence peut s'expliquer soit par l'application d'un très bon séchage des grains avant stockage, soit par l'application d'un traitement antifongique.

### IV-2. Moisissures toxigènes, mycotoxines et risques sanitaires

Les résultats de l'étude mycologique de l'ensemble des échantillons de casse croûtes analysés révèlent quatre (04) espèces de moisissures. Il s'agit de *A. flavus*, *A. niger*, *R. stolonifer* et *Penicillium sp.* Ces espèces fongiques sont présentes pour la plupart dans les aliments mal conservés ou mal séchés. Ainsi, des études similaires ont été menées par [23] sur la caractérisation de farine de maïs vendus sur les marchés d'Adjamé, Yopougon et Abobo en Côte d'Ivoire. Ces auteurs ont rapporté dans leurs travaux la présence des moisissures telles que *A. flavus*, *A. niger*, *R. stolonifer* et *Penicillium sp.* Les *Aspergilli* contaminent de nombreux produits destinés à l'alimentation humaine tels que les fèves de cacao, les grains de café, la farine de manioc, les céréales, les poissons, les arachides, les fruits secs, le vin, les œufs de volaille et le lait [24]. Des études effectuées au Vietnam ont montré la contamination de 25 échantillons de riz par le genre *Aspergillus* où les espèces *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Aspergillus oryzae* ont été isolées dans les proportions 40 % ; 23 % ; 11 % respectivement [25]. De même, une étude effectuée en Inde sur 1200 échantillons de riz contaminés par *Aspergillus* a montré que l'ensemble des grains de riz paddy était contaminé par le genre *Aspergillus* dont quatre différentes espèces ont été identifiées : *A. flavus* (1002), *A. niger* (910), *Aspergillus ochraceus* (154) et *Aspergillus parasiticus* (331) [26]. *Penicillium sp.* est aussi révélé dans les casse-croûtes produits et vendus dans la zone d'étude. Or, certaines espèces de *Penicillium sp.* sont capables de produire des mycotoxines à des températures inférieures, lesquelles sont optimales à la

croissance des espèces d'*Aspergillus* [23]. La présence des moisissures du genre *Aspergillus* et *Penicillium* indique que la contamination a lieu au cours du stockage des grains utilisés pour la production des casse-croûtes. Ces résultats sont en accord avec ceux des travaux de [27] qui ont rapporté que la contamination des grains de céréales peut avoir lieu avant la récolte, au champ, au cours du séchage ou au cours du stockage. Cependant [21, 28, 29] ont rapporté à travers certains de leurs travaux que les moisissures du genre *Aspergillus* et *Penicillium* présentes, dans le maïs supposent qu'une contamination a lieu probablement avant la récolte, au champ, au cours du séchage, du stockage et après transformation des grains. Les souches telles que *Aspergillus flavus* et *Penicillium sp.* identifiées dans les échantillons analysés sont des souches toxigènes productrices de mycotoxines telles que les aflatoxines de types B1, B2, G1, G2, l'Ochratoxine de type A, la patuline etc [2, 22, 30, 31]. Ces mycotoxines sont responsables de graves problèmes de santé pouvant affecter les populations consommatrices de ces casse-croûtes. En médecine humaine et vétérinaire quatre (04) types d'affection peuvent en découler. Il s'agit des allergies, des mycoses, des mycétismes et des mycotoxicoses (hépatotoxicité, génotoxicité, immunotoxicité, cancérrogénicité) [2, 32]. En dehors des genres *Aspergillus* et *Penicillium* qui sont isolés des échantillons de casse croûtes analysés, *Rhizopus solonifer* également isolé a été rapporté par [22], que les moisissures du genre *Rhizopus* colonisent les céréales, les fruits et légumes. La présence de mycotoxines dans les grains de céréales représente un risque important pour la santé animale et humaine [33, 34]. Il est donc important de veiller aux mesures adéquates pour empêcher la contamination fongique des denrées alimentaires afin de limiter la présence des mycotoxines et les dangers éminents.

### IV-3. Facteurs dépendants de la contamination

La présence des moisissures est due au fait que le séchage, la conservation des matières premières sont mal fait ainsi que le mauvais entreposage des produits alimentaires dérivés dans un environnement inadéquat au cours de la vente [22]. Les aliments exposés à l'air libre dans de grandes bassines et sans protection adéquate sont susceptibles d'être contaminés par des spores fongiques et des bactéries [22]. Au cours de la vente, les casse-croûtes sont souvent mal couverts et sont soumis à la pollution de l'air ambiant et exposés à côté des caniveaux non couverts, aux insectes (mouches) qui constituent des sources de contamination de ces produits alimentaires. Ces facteurs sont des sources qui influencent négativement la qualité hygiénique des casse-croûtes pouvant causer des maladies alimentaires mettant ainsi en péril la sécurité sanitaire des populations. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par [35 - 37] pour les aliments vendus sur les voies publiques. Ces derniers ont

permis d'analyser l'influence de la pollution et des pratiques culinaires sur la qualité hygiénique des aliments de rue. Précisons que les moisissures, identifiées dans les casse-croûtes analysés sont liées à plusieurs facteurs notamment la contamination des matières premières et/ou secondaires utilisées, la qualité des ingrédients (huiles de friture, eau, épices, etc.) et l'hygiène au cours de la fabrication de ces casse-croûtes. [38, 39] ont rapporté dans leurs travaux que la croissance des moisissures dans de nombreuses denrées alimentaires est favorisée par des paramètres physico-chimiques, notamment la quantité d'eau libre ( $A_w$ ), la température, la présence d'oxygène, la nature du substrat et le pH.

## V - CONCLUSION

Cette étude a révélé que les casse-croûtes céréaliers produits et vendus dans les sept (07) Départements du Bénin retenus ne sont pas à 100 % de qualité satisfaisante. Une diversité d'espèces de moisissures telles que *Aspergillus flavus*, *Rhizopus stolonifer* et *Penicillium sp.* ont été identifiées. Parmi ces espèces de moisissures, certaines sont dotées d'un pouvoir toxigène et ont la capacité de produire des mycotoxines pouvant causer de graves problèmes de santé à l'homme. Il est donc nécessaire de porter une attention particulière à la qualité des casse-croûtes céréaliers afin de garantir une bonne sécurité sanitaire des consommateurs.

## RÉFÉRENCES

- [1] - H. O. ABDOULLAHI, A. TIDJANI, A. SAWADOGO, B. TARNAGDA, L. I. ABAKAR, H. CISSE, Y. TRAORE, A. SAVADOGO, «Isolement et caractérisation de souches fongiques à partir de poisons fume et sèche du lac Fitri au Tchad», *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2 (4) (2019) 155 - 160
- [2] - G. HOUANSOU, C. T. GUIDI, V. CHEGNIMONHAN, E. O. HOUNSOUNOU, R. M. CAPO-CHICHI, M. AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO, «Technologies traditionnelles de production des casse-croûtes à base de céréales au Bénin: importance nutritionnelle, caractéristiques socio-économiques et risques toxicologiques», *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé (Togo)*, 20 (2) (2018) 35 - 51
- [3] - C. BROUTIN, «Transformer les céréales pour les nouveaux marchés urbains», agroalimentaire/consommation. Ed Gret; ministère des affaires étrangères. Collection le Point Sur, France, N°31 (2003) 296 p.
- [4] - B. I. OLUWALANA, «Sensory and microbiological quality assessment of fried snacks produced from ripe and unripe plantain fruits (*Musa paradisiaca*)



- fortified with *Vigna unguiculata* (L.) Walp (cowpea)», *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8 (1) (2014) 182 - 188
- [5] - C. M. NAGO, «La transformation alimentaire traditionnelle du maïs au Bénin : détermination des caractéristiques physicochimiques des variétés en usage ; relations avec l'obtention et la qualité des principaux produits dérivés», Thèse de doctorat d'État Ès Sciences, Université Paris 7-Denis Diderot-UFR de Biochimie, (1997) 199 p.
- [6] - R. NOUT, D. J HOUNHOUGAN, T. V. BOECKEL, «Les aliments : transformation, conservation et qualité», Technologies post-recolte, Backhuys Publishers, CTA Wageningen (Pays-Bas), (2003) 268 p. <https://hdl.handle.net/10568/64519>
- [7] - C. K. TCHEKESSI, I. Y. BOKOSSA, G. J. F. HOUNKPATIN, J. BANON, N. ADIGUN, P. SACHI, C. AGBANGLA, «Étude socio-économique et technologique de fabrication des boulettes de céréales pour la production d'une boisson fermentée de type probiotique consommée au Bénin». *International Journal of Innovation and Applied Studies*, (2014) 1323 - 1335 p.
- [8] - G. HOUANSOU, C. T. GUIDI, V. CHEGNIMONHAN, M. AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO, «Typologie et perception des populations sur la qualité organoleptique des casse-croûtes produits à base de céréales dans sept Départements du Bénin». *Revue Internationale des Sciences Appliquées*, (2019) 01 - 13 p.
- [9] - A. TIDJANI, M. AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO, F. TOUKOUROU, S. B. OUATTARA, C. DE SOUZA, «Dosage des Aflatoxines dans les "Kilichi" et leurs ingrédients commercialisés au Tchad», *Micr. Hyg. Alim.*, 20 (58) (2008) 27 - 35
- [10] - J. MAKHLOUF, «Caractérisation de la biodiversité des souches d'*Aspergillus* de la section *Flavi* isolées d'aliments commercialisés au Liban : approche moléculaire, métabolique et morphologique». Thèse de doctorat d'État Ès Sciences, Université de Toulouse. Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries (SEVAB). *Toxicologie Alimentaire*, (2019) 142 p.
- [11] - G. REBOUX, «Mycotoxines : effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques», *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, (2006) 208 - 212 p.
- [12] - M. ESKOLA, «Study on trichothecenes, Zearalenone and Ochratoxin A in Finnish Cereals : Occurrence and Analytical Techniques. Academic dissertation». EELA publication 3. Department of Chemistry, Helsinki and, University of Helsinki, *Department of Applied Chemistry and Microbiology*, (2002) 78 p.
- [13] - M. AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO, C. AHANHANZO, D.F. ANAGO, N. HOUÉNOUVO, F. TOUKOUROU, C. DE SOUZA, «Identification des flores mésophiles, mycologiques et études de la croissance d'*Aspergillus flavus* dans les pâtes d'arachide produites à Savalou au Bénin», *Revue Micr. Et Hyg. Alim.*, 23 (67) (2011) 57 - 65
- [14] - N. ZAKHIA-ROZIS et S. SCHORR-GALINDO, «Les mycotoxines : quelles réponses de la recherche à cette problématique», *Cahier d'Agriculture*, 22 (2013) 149 - 50



- [15] - J. NICKLIN, K. GRAEME-COOK, T. PAGET, R. KILLINGTON, «L'essentiel en microbiologie», Edition Berti. France, Paris, (2000) 210 - 217 p.
- [16] - A. CARLOTTI, «Identification des moisissures», Technologie/Process. *La vague*, (2014) 3 p.
- [17] - G. LE BARBE, G. ALE, B. MILLET, H. TEXIER, Y. BORET, R. GUALDE, «Les ressources en eaux superficielles de la République du Bénin», (1993) 540 p.
- [18] - S. C. B. POMALEGNI, N. R. AHOYO ADJOVI, C. P. KPADE, D. S. J. C. GBEMAVO, C. M. ALLAGBE, A. ADJANOHOON, G. A. MENSAH, «Capitalisation des études et autres travaux sur les chaînes de valeur du maïs au Bénin ». Document Technique et d'Informations. Dépôt légal N° 11236 du 29 avril 2019, 2ème Trimestre, Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin ISBN : 978-99919-75-87-0, 401p. <http://www.slire.net>
- [19] - D. CHABASSE, J. BOUCHARA, L. DE GENTILE, S. BRUN, B. CIMON, P. PENN, «Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation en biologie médicale», Bioforma 230 bd raspail 75014, France, Paris. N° 25, (2002) 159 p.
- [20] - J. GUIRAUD et P. GALZY, «L'examen au microscope. Partie 1, Techniques générales de la microbiologie : L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires». Éditions de l'usine nouvelle, Paris, Collection Génie alimentaire, (1980)
- [21] - C. TABUC, «Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines». Pathologie et Génétique. Université de Bucarest, (2007) 190 p.
- [22] - D. D. TOFFA, «Étude de la contamination de certains aliments d'origine végétale de la République du Niger les moisissures toxigènes». Thèse de Doctorat. Biologie, Mycologie-Environnement. Université Mohammed, Faculté Des Sciences Rabat, (2015) 246 p.
- [23] - J. KY, S. GBEHE, D.C. YOUO, «Caractérisation de neuf échantillons de farine de maïs *Zea mays* (L.) vendus sur les marchés d'Adjamé, Yopougon et Abobo en Côte d'Ivoire». *Journal of Applied Biosciences*, 115 (2017) 11434 - 11440
- [24] - M. WEIDENBÖRNER, «Encyclopedia of food mycotoxins, Ochratoxicosis 181, Ochratoxin A 181-186, Ochratoxin B 186, Ochratoxin C 186, Ochratoxins 187, *Aspergillus* 26-31, *Penicillium* 203-207», edit : Springer-Berlin, (2001) 296 p.
- [25] - S. T. TRAN, J. D. BAILLY, A. QUERIN, P. LE BARS, P. GUERRE, «Fungal contamination of rice from South Vietnam, mycotoxinogenesis of selected strains and residues in rice», *Revue de Médecine vétérinaire*, 152 (2001) 555 - 560
- [26] - K. R. N. REDDY, C. S. REDDY, K. MURALIDHARAN, «Detection of *Aspergillus spp.*, and Aflatoxin B1 in Rice in India», *Food Microbiology*, 26 (01) (2009) 27 - 31
- [27] - N. MAHIDEB, H. MERROUCHE, «Étude des moisissures potentiellement productrices de mycotoxines isolées à partir des grains de blé dur (traités et non traités)». Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, (2015) 107 p.

- [28] - L. CZERWIECKI, D. CZAJKOWSKA, A. WITKOWSKA-GWIAZDOWSKA, «Ochratoxin A and fungal flora in Polish cereals from conventional and ecological farms», *Food Additives and Contaminants*, 19 (5) (2002) 470 - 477
- [29] - Council for Agricultural Science and Technology (Cast), «Ames, Iowa, USA Mycotoxins: Risks in plant, animal and human systems», Task force report, N° 139 (2003) 199 p.
- [30] - Cahier de Formation Biofarma (CFB), «Les moisissures d'intérêt médical : les aspergillus», (2002) 66 p.
- [31] - AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments), «Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale», Rapport final, (2009)
- [32] - A. PFOHL-LESZKOWICZ, «Métabolisation des mycotoxines, effets biologiques et pathologies ; Ecotoxicogénèse dans «Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque» de Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France». Technique et Documentation, France, Paris, (1999) 18 - 35 p.
- [33] - K. COLTON-GAGNON, B. DUVAL, S. RIOUX, «Les moisissures de l'épi du maïs grain», Bulletin d'information, – Grandes cultures, N°33 (2014)
- [34] - J. KY et B. Y. DIOMANDE, Caractérisation de la mycoflore de grains de maïs (*Zea mays*) destinés à la préparation d'aliments composés pour la volaille, *International Journal Biological and Chemical Sciences*, 11 (6) (2017) 2594 - 2603, December 2017 ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print)
- [35] - N. BARRO, C. A. T. OUATTARA, A. P. NIKIEMA, A. S. OUATTARA, S. A. TRAORE, «Évaluation de la qualité microbiologique de quelques aliments de rue dans la ville de Ouagadougou au Burkina-Faso», *Cah. Santé*, 12 (2002a) 369 - 374
- [36] - N. BARRO, P. NIKIEMA, C. A. T. OUATTARA, A. S. TRAORE, «Évaluation de l'hygiène et de la qualité microbiologique de quelques aliments rue et les caractéristiques des consommateurs dans les villes de Ouagadougou et de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso)», *Rev. Sci Tech. Sci. Santé*, 25 (2002b) 21
- [37] - S. M. I. HOTEYI, C. C. GNIMADI, G. V. ADJADJI, A. M. IGUEET, G. A. MENSAH, «Alimentation de rue des populations : une santé en péril à Cotonou au Sud-Bénin? Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB)», (2014) 12 p.
- [38] - J. P. JOUANY et A. YIANNIKOURIS, «Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal», INRA Productions Animales, (2002) 3 - 16 p.
- [39] - A. AMROUCHE, «Étude mycologique et mycotoxicologiques du blé tendre local et importé et ses dérivés de meunerie (farines et sons) stockés dans la région de Bechar. Extraction et détection des aflatoxines par méthode chromatographique», Thèse de magistère, Université de Bechar, (2007) 149 p.