

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار ثليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie environnementale et  
infectieuse*

### THEME

---

**Impact de rayons ultraviolets sur la survie de  
quelques souches bactériennes et fongiques.**

---

Présenté par :

**BEDERINA Med Yacine.**

**BEGAGRA Med El Amine.**

Devant le jury :

**Président : BOUKEROUIS Djoudi.**

**Rapporteur : KRANTAR Kamel.**

**Examineur : GACEM Mohamed Amine.**

**Soutenu publiquement le : 8 Juin 2016.**

# Dédicaces

*Au nom de dieu le miséricordieux, par essence et par excellence.*

« Je remercie mon dieu pour tout absolument tout. »

*Je dédie ce travail :*

*A ma très chère et tendre mère, et à mon cher père, qui ont sacrifiés leur vie pour moi, et qui ont été mon repère. Merci pour leur amour, affection et patience.*

*A ma chère épouse.*

*A mes chers frère et sœurs.*

*A toutes mes amis spécialement à mon intime amie*

*Boudjema Badr Eddine.*

*A tous mes collègues de ma promotion surtout mon binôme*

*Amine qui partage avec moi la difficulté de ce travail.*

*A tous ceux qui me connu.*

*Med yacine*

# *Dédicaces*

*Au nom de dieu le miséricordieux, par essence et par excellence.*

« Je remercie mon dieu pour tout absolument tout. »

*Je dédie ce travail :*

*A ma très chère et tendre mère, et à mon cher père, qui ont sacrifiés leur vie pour moi, et qui ont été mon repère. Merci pour leur amour, affection et patience.*

*A ma chère épouse KAOUTHAR et à mon cher fils*

*ABDELMADJID*

*A mes chères sœurs : AICHA, HANAE, FATIMA, REGUIA et la petite CHAÏMA.*

*A toute la famille BEGAGRA, KAABOUCHE et HACHANI*

*A toutes mes amies spécialement à mon intime amie*

*SID AHMED.*

*A toutes mes collègues de ma promotion surtout mon binôme*

*YACINE qui partage avec moi la difficulté de ce travail.*

*A tous ceux qui me connaissent.*

*AMINE*

## Remerciements

Nous remercierons Dieu le miséricordieux de nous avoir donnés la santé, la volonté et la force d'atteindre notre but.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et profondes gratitude à notre encadreur *M. Krantar Kamel* pour nous avoir dirigés avec souplesse et compréhension pour mener a terme ce modeste travail.

Nous remercions tous les membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous adressons également nous plus sincères remerciements à tous les enseignants qui nous ont accompagnés tout le long de notre parcours universitaire.

Nous remercions énormément *M. Goudjal Yacine* maître de conférence à l'université de Laghouat et *M. Boudjema Badereddine* ingénieur de laboratoire des analyses médicales a l'établissement EPH pour nous avoir aidé dans notre travail.

Nous n'oublions pas de remercier le personnel du laboratoire de département de biologie qui nous a facilité notre travail.

Nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation ce travail.

***Amine et Yacine***

**Résumé**

Dans un contexte global de sécurité alimentaire, associé à une recherche de nouveaux procédés d'amélioration de la qualité, de prolongement de la fraîcheur, mais aussi de volonté de diminution des pertes post-récoltes, le présent projet a pour but de combiner les effets antimicrobiennes des rayons ultraviolets (UV). Des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*), Gram positif (*Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis*) ainsi que des spores de moisissures (*Fusarium graminearum* et *Aspergillus flavus*) ont été soumises à quatre temps de traitement (5, 15, 45 et 60 secondes) et trois distances de la lampe UV (1, 2 et 3 cm). Les résultats obtenus montrent que les souches bactériennes sont sensibles aux rayons UV à partir de 15 secondes de traitement, et une résistance remarquable présentée par les souches fongiques aux temps 5 et 15 secondes. On conclut que l'action bactéricide et fongicide des rayons UVC est très importante.

**Mots clés :** UVC, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus flavus*.

**Summary**

In a global context of food security, coupled with the search for new quality improvement processes, extending the freshness, but also will decrease post-harvest losses, this project aims to combine the effects antimicrobial ultraviolet (UV). Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*), gram positive (*Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*) and mold spores (*Fusarium graminearum* and *Aspergillus flavus*) were subjected to four treatment time (5, 15, 45 and 60 seconds) and three distances from the UV lamp (1, 2 and 3 cm). The results show that the bacterial strains are sensitive to UV rays from 15 seconds of treatment, and a remarkable resistance presented by fungal strains times 5 and 15 seconds. It is concluded that the bactericidal and fungicidal action of UVC is very important.

**Key words:** UVC, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus flavus*.

**- ملخص -**

في السياق العالمي للأمن الغذائي، إلى جانب البحث عن عمليات جديدة لتحسين نوعية، وإبقائها طازجة لمدة أطول، وللتقليل أيضا من خسائر ما بعد الحصاد، يهدف هذا المشروع إلى إظهار تأثير الأشعة فوق البنفسجية على بعض أنواع من المكروبات و هي : بكتيريا سلبية الغرام (*Escherichia coli*)، بكتيريا إيجابية الغرام (*Bacillus subtilis* و *Micrococcus luteus*) و نوعين من الفطريات (*Fusarium graminearum* و *Aspergillus flavus*) و التي عالجت بها بأربع فترات زمنية مختلفة ( 5، 15، 45 و 60 ثانية) و على ثلاث مسافات من مصباح الأشعة فوق البنفسجية متغيرة ( 1، 2 و 3 سم) وأظهرت النتائج أن السلالات البكتيرية حساسة لأشعة فوق البنفسجية ابتداءا من مدة علاج تقدر بـ 15 ثا، ومقاومة ملحوظة من قبل السلالات الفطرية فيمدة علاج تقدر بـ 5 و 15 ثا. وخلصنا إلى أن تأثير الأشعة فوق البنفسجية على أنواع البكتيريا و الفطريات المدروسة مهم جدا.

**كلمات المفتاح:** الأشعة فوق بنفسجية

*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium graminearum*

# *Table des matières*

• Liste des tableaux

• Liste des figures

- Introduction

## **- Partie bibliographique**

<b>Chapitre I – Généralités sur les micro-organismes</b> .....	3
I.1 – Les bactéries .....	4
I.1.1- Bactéries Gram négatif .....	5
I.1.1.1- <i>Escherichia coli</i> .....	7
I.1.2- Bactéries à Gram positif .....	9
I.1.2.1- <i>Bacillus subtilis</i> .....	10
I.1.2.2- <i>Micrococcus luteus</i> .....	13
I.2 - Les champignons .....	14
I.2.1 - Identification des champignon .....	15
I.2.2 – Caractères morphologiques .....	15
I.2.3 – Classification .....	16
I.2.4 – <i>Fusarium graminearum</i> .....	18
I.2.5 – <i>Aspergillus flavus</i> .....	19
I.3 – Méthodes de décontaminations classiques .....	21
<b>Chapitre II - Généralité sur les rayons ultraviolets</b> .....	23
II.1 – Aperçu générale sur les rayons ultraviolets .....	23
II.2 - Les sources des rayons UV .....	24
II.3 - Mesure de l'irradiation UV .....	24
II.3.1- Spectromètres et radiomètres (mesures directes) .....	25
II.3.1.1 – Spectroradiomètres .....	25
II.3.1.2 – Radiometer à large band .....	25
II.3.2 – Dosimeters individuels .....	26
II.3.2.1 – Satellites (mesures indirect).....	26
II.4 – Facteurs influençant la dose de rayonnement UV .....	26
II.4.1- Ozone .....	26
II.4.2- Altitude .....	27
II.4.3- Albédo .....	27
II.4.4- Aérosols .....	27
II.4.5- Nébulosité .....	27

II.5- Action locale des rayons UV .....	28
II.6- Action du rayonnement UV sur les micro-organismes .....	29
II.6. 1- Mécanisme de l'inactivation des micro-organismes par l'UV .....	29
II.6.2- Inactivation des Virus et des bactéries .....	30
II.6.3- Cinétique d'inactivation .....	30
II.7- Résistance des micro-organismes aux rayonnements UV .....	31
II.7.1- Les bactéries .....	31
II.7.2- Les virus .....	31
II.7.3- Spores et kystes de protozoaires.....	31
II.7.4- Les différences de sensibilité des micro-organismes.....	31
II.7.5- La taille du génome .....	32
II.8- L'utilisation des rayons UV .....	33

## **- Partie expérimentale**

<b>Chapitre III- Matériel et méthodes</b> .....	35
III.1- Objectifs de l'étude .....	35
III.2- Lieu de travail .....	35
III.3- Matériels biologiques.....	35
III.3.1- Les bacteries .....	35
III.4.2- Les champignons.....	35
III.4- Principe de travail.....	36
III.4.1-Description de la lampe UV.....	37
III.5- Méthodes .....	38
III.5.1- Dispositif UV .....	38
III.5.2- Tests sur les souches bacteriennes .....	38
III.5.3- Tests sur les souches fongiques .....	40
<b>Chapitre IV- Résultats et discussion</b> .....	42
IV.1- Résultats de l'impact des rayons UV sur les micro-organismes .....	42
IV.1.1- Tests sur les souches bactériennes .....	42
IV.1.1.1- L'effet de l'UV sur <i>Escherichia coli</i> .....	42
IV.1.1.2- L'effet de l'UV sur <i>Micrococcus luteus</i> .....	43
IV.1.1.3- L'effet de l'UV sur <i>Bacillus subtilis</i> .....	45
IV.1.2- Tests sur les souches fongiques .....	46
IV.2.2.1- L'effet de l'UV sur <i>Aspergillus flavus</i> .....	46
IV.2.2.2- L'effet de l'UV sur <i>Fusarium graminearum</i> .....	47
V.2- Discussion des résultants.....	48
<b>- Conclusion</b> .....	51
<b>- Références bibliographiques</b>	

• **Liste des tableaux**

<b>Tableaux</b>	<b>N° de page</b>
<b>Tableau 01</b> - Microbes dans un corps humain sain .....	4
<b>Tableau 02</b> - Taxonomie L' <i>Escherichia coli</i> .....	8
<b>Tableau 03</b> - Taxonomie de <i>Bacillus subtilis</i> .....	12
<b>Tableau 04</b> - Taxonomie de <i>Micrococcus luteus</i> .....	14
<b>Tableau 05</b> - Taxonomie de <i>Fusarium graminearum</i> .....	18
<b>Tableau 06</b> - Taxonomie d' <i>Aspergillus flavus</i> .....	20
<b>Tableau 07</b> - Les souches bactériennes utilisées dans ce travail.....	36
<b>Tableau 08</b> - Les souches fongiques utilisées dans ce travail.....	36

## • Liste des figures

Figures	N° de page
<b>Fig. 01</b> - Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif.....	6
<b>Fig. 02</b> - Photo d' <i>Escherichia coli</i> .....	7
<b>Fig. 03</b> - Photo d' <i>Escherichia coli</i> gram négatif (prise avec un microscope optique et magnifié 400 fois) montre la couleur rouge de bactéries lorsqu'elles sont colorées en utilisant la technique de coloration de Gram.....	7
<b>Fig. 04</b> - Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif .....	10
<b>Fig. 05</b> - Photos de <i>Bacillus subtilis</i> .....	11
<b>Fig. 06</b> - Photo de <i>Bacillus subtilis</i> gram positif (microscope optique, objectif x100) après coloration de Gram.....	11
<b>Fig. 07</b> - Photos de <i>Micrococcus luteus</i> .....	13
<b>Fig. 08</b> - Photo de <i>micrococcus luteus</i> gram positif (microscope optique, objectif x100) après coloration de Gram.....	13
<b>Fig. 09</b> - Principales classes des moisissures .....	16
<b>Fig. 10</b> - Image microscopiques de <i>Fusarium graminearum</i> .....	18
<b>Fig. 11</b> - Image microscopiques d' <i>Aspergillus flavus</i> .....	19
<b>Fig. 12</b> - Spectre des rayonnements UV .....	23
<b>Fig. 13</b> - La double hélice de l'ADN et les deux paires de ses bases .....	29
<b>Fig. 14</b> - Dimérisation photochimique de deux bases de thymine .....	30
<b>Fig. 15</b> - Courbes de doses-réponses pour différents types de micro-organismes .....	32
<b>Fig. 16</b> - L'appareil UV utilisé .....	37
<b>Fig. 17</b> - Dispositif de traitement UV.....	38
<b>Fig. 18</b> - Diagramme montrant le protocole expérimental.....	39
<b>Fig. 19</b> - Schéma de travaille expérimentale .....	41

<b>Fig. 20</b> - Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Escherichia coli</i> après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).....	42
<b>Fig. 21</b> - Résultats de la souche <i>Escherichia coli</i> A) témoin B) après l'exposition sur les rayons UV (60 Secondes) à distances (1cm) .....	43
<b>Fig. 22</b> - Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Micrococcus luteus</i> après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).....	43
<b>Fig. 23</b> - Résultats de la souche <i>Micrococcus luteus</i> A) témoin B) après l'exposition sur les rayons UV (60 Secondes) à distances (1cm).....	44
<b>Fig. 24</b> - Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Bacillus subtilis</i> après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).....	45
<b>Fig. 25</b> - Résultats de la souche <i>Bacillus subtilis</i> A) témoin B) après l'exposition sur les rayons UV (60 Secondes) à distances (1cm) .....	46
<b>Fig. 26</b> - Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Aspergillus flavus</i> après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).....	46
<b>Fig. 27</b> - Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche <i>Fusarium graminearum</i> après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).....	47
<b>Fig. 28</b> - Représentation graphique de la moyenne du pourcentage d'inhibitions des souches bactériennes. ....	49
<b>Fig. 29</b> - Représentation graphique de la moyenne du pourcentage d'inhibitions des souches fongiques.....	49

---

## **- Introduction**

## **Introduction**

La majorité des études utilisant l'UV porte sur le traitement des eaux usées ou sur l'aseptisation de l'eau potable en substitution du chlore. La désinfection des eaux par les rayonnements UVC est un procédé de désinfection physique très répandu et employé avec succès dans plusieurs pays du monde. L'efficacité est maximale entre 250 et 280 nm pour dénaturer l'ADN ou encore entraîner des modifications structurales membranaires induisant des pertes en composés cellulaires vitaux, ce qui conduit à la mort cellulaire (Liu *et al.*, 1993 ; Nigro *et al.*, 1998).

Durant les 100 dernières années, la science a pu identifier les effets bactéricides du rayonnement UV du spectre électromagnétique. Les longueurs d'ondes spécifiques responsables de ces effets sont celles situées entre 240 et 280 nanomètres (nm), avec un pic à 253.7 nm. Ces longueurs d'onde sont situées dans les domaines des UV-C (Zelenka, 1999)

Dans un contexte global de sécurité alimentaire, avec une recherche incessante de nouveaux moyens athermiques de lutte contre le développement de microorganismes indésirables, cette étude rentre dans le cadre d'un projet européen qui a pour but de combiner les effets antimicrobiens des ultraviolets (UV) et de l'ozone pour décontaminer les fruits et légumes, diminuer les pertes post-récoltes et prolonger ainsi leur durée de conservation.

C'est dans cette optique que s'inscrit le présent mémoire qui a pour objectif de déterminer l'impact des rayons UV sur la survie de quelques souches bactériennes et fongiques.

Ce manuscrit s'articule sur deux grands axes :

- Le premier consiste en une synthèse bibliographique divisée à son tour en deux chapitres :

Le premier constitue une généralité sur les micro-organismes et nous rappelons les connaissances sur les espèces microbiennes : bactéries (*Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis*) et les champignons (*Aspergillus flavus* et *Fusarium graminearum*).

Le deuxième constitue un aperçu général sur les rayons ultraviolets qui ont à étudié leur effet sur les micro-organismes.

- Le second axe est consacré à notre expérimentation personnelle dans laquelle nous répondons à l'objectif cité précédemment. tout en s'appuyant sur :
  - Les essais ont été conduits en mesurant l'effet antibactériennes de l'UV sur l'*Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* et *Bacillus subtilis* pendant différents temps de d'exposition et par différentes distances.
  - Les essais ont été conduits en mesurant l'effet antifongique de l'UV sur l'*Aspergillus flavus* et *Fusarium graminearum* pendant différents temps de d'exposition et par différentes distances.

Les résultats obtenus seront discutés ensuite et une conclusion générale achèvera notre étude.

---

## **- Partie bibliographique**

### **Chapitre I - Généralité sur les micro-organismes**

## I- Généralité sur les micro-organismes :

Les micro-organismes aussi appelés microbes et protistes, forment un ensemble d'organismes vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu. C'est leur seul point commun, car ils diffèrent et varient par leur morphologie, leur physiologie, leur mode de reproduction et leur écologie. Les protistes se composent : bactéries, des protozoaires, des champignons (Mycètes) microscopique, et des algues. Les virus sont considérés comme des microorganismes non vivants, acellulaires, puisqu'ils ne peuvent accomplir aucune activité vitale avec autonomie (**Bergan, 1984**).

Avant la découverte de micro-organismes, les êtres vivants connus n'étaient classés qu'en deux catégories : les végétaux et les animaux ; nul ne soupçonnait l'existence de catégorie intermédiaire. Au cours du XIX siècle, il devient évident que les micro-organismes alliaient, dans toutes les combinaisons possibles, des propriétés végétales et animales. Il est généralement admis aujourd'hui qu'ils ont évolué, sans grand changement, à partir d'ancêtres communs aux deux espèces (**Levine, 1973**). Les micro-organismes sont différents et leur classification a toujours été un défi pour les taxinomistes (**Bergan, 1984**).

Les micro-organismes sont généralement divisés en cinq majeure catégories taxonomiques : les algues, les bactéries, les champignons, les protistes et des virus (**Bergan, 1984**).

Les micro-organismes jouent un rôle important dans les processus environnementaux. Certains de leurs rôles sont très bien connus et élaborés. Par exemple, le rôle des microbes dans les cycles biogéochimiques des éléments et de la matière, la fertilité du sol, y compris la décomposition de la matière organique et la fixation de l'azote. Applications industrielles des microbes dans la médecine, la nourriture, la production des acides, des vitamines, de l'alcool, également dans la brasserie et de la cuisson. Dans ces domaines de nouvelles technologies sont développées et de nouvelles souches de microbes concernés sont développées par les bio-technologistes microbiennes pour augmenter la production industrielle de produits chimiques (**Levine, 1973**).

Tandis que des microbes jouent une part importante dans nos vies quotidiennes en nous maintenant en bonne santé, d'autres ne nous apportent que de mauvaises nouvelles. Ces microbes « mauvaises nouvelles » s'appellent aussi maladie causant des microbes et peut rendre malade plantes, animaux et humains.

**Tableau 01** - Microbes dans un corps humain sain (Mainil et al., 1999)

Oreille (externe)	Aspergillus (champignon)
Peau	Candida (champignon)
Intestin grêle	<i>Clostridium</i>
Intestin	<i>Escherichia coli</i>
Vagin	<i>Gardnerella vaginalis</i>
Estomac	<i>Lactobacillus</i>
Urètre	<i>Mycobacterium</i>
Nez	<i>Staphylococcus aureus</i>
Yeux	<i>Staphylococcus epidermis</i>
Bouche	<i>Streptococcus salivarius</i>
Gros intestin	<i>Trichomonas hominis</i> (protozoaire)

Les micro-organismes sont présents dans le tractus digestif de l'homme et des animaux, un grand nombre d'entre eux est en relation symbiotique avec l'hôte et participe au fonctionnement normal des processus digestifs, cette flore est très abondante : elle représente en moyenne pour un homme  $10^{14}$  cellules (alors qu'un homme est constitué de  $10^{13}$  cellules) (Mainil et al., 1999).

Ils peuvent également contribuer aux maladies chroniques et ils sont maintenant liés aux maladies comme celle à l'artère coronaire, le diabète, certains types de cancer, la sclérose en plaque et infection pulmonaire chronique.

### **I.1- Les bactéries :**

Les bactéries sont des êtres unicellulaires qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire. Leur taille varie de 1 à 10 microns ( $\mu\text{m}$ ). Elles ne sont donc visibles qu'au microscope optique ( $\times 10^3$ ) ou au microscope électronique ( $\times 10^6$ ). Elles peuvent être désintégrées par divers procédés physiques et chimiques, ce qui permet d'étudier les constituants bactériens ainsi libérés (Mainil et al., 1999).

On peut classer les bactéries grâce à la coloration de gram, qui distingue deux types de bactéries : les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif.

### I.1.1- Bactéries Gram négatif :

Les bactéries à Gram négatif constituent une large catégorie de micro-organismes qui sont incapables de retenir une coloration de cristal violet en raison de la structure distincte de leur paroi cellulaire. Parmi ceux-ci, les entérobactéries de même que les bactéries non-fermentaires forment deux groupes largement responsables de plusieurs maladies infectieuses. Les bactéries regroupées dans la famille des *Enterobacteriaceae* se retrouvent principalement dans le sol, l'eau, et certaines (incluant *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.* et *Serratiamarcescens*) sont des constituants naturels de la flore intestinale de l'homme. Ces micro-organismes sont d'importants pathogènes en milieux hospitaliers et communautaires. Ces derniers se propagent facilement entre humains par le biais des mains, de l'eau et de la nourriture contaminée de même que de sources environnementales. Les bactéries non-fermentaires sont également répandues dans l'environnement et sont responsables d'infections dites opportunistes (York et al., 2015).

#### A) Structure :

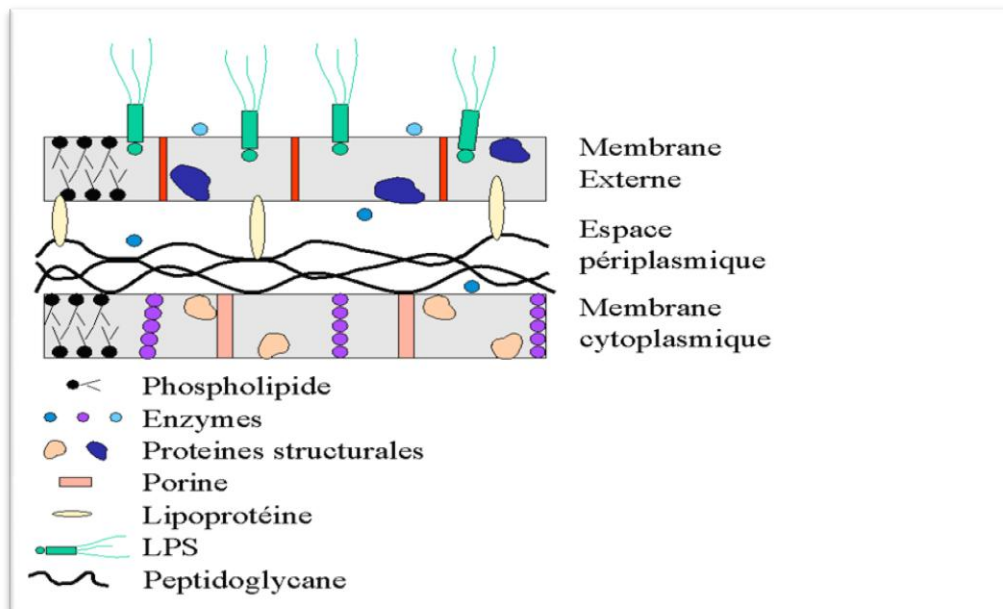
- Peptidoglycane < 15 %
- lipide complexe (A) (Il y a analogie entre les appellations «endotoxine», « lipide A » et «membrane externe »).
- Polysaccharides complexes (partie la plus externe de la paroi, antigènes O).
- Protéines (Broes, 1993).

Il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane qui ne représente que 5 à 20% des constituants de la paroi bactérienne. Mais 3 polymères situés en dehors du peptidoglycane viennent compléter la paroi : des lipoprotéines, une « membrane externe » qui contient du lipopolysaccharide. Les lipoprotéines sont le lien entre le peptidoglycane et la « membrane externe » : le composant protéine est un polymère de 15 acides aminés qui forme une liaison peptidique avec le tétra-peptide des chaînes latérales du peptidoglycane ; le composant lipide est relié à la « membrane externe ».

La « membrane externe » est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle tout ou partie des phospholipides de la couche la plus externe sont remplacés par des molécules de lipopolysaccharide (Fairbrother, 1993).

Au sein de cette « membrane externe », qui est une mosaïque fluide, se trouvent associés au moins deux types de protéines spécifiques : certaines sont dites protéines de structure car elles consolident la membrane externe; d'autres, appelées « porines » permettent le passage des petites molécules hydrophiles et en particulier, sur le plan médical, des antibiotiques ( $\beta$ -lactamines, tétracyclines, quinolones...).

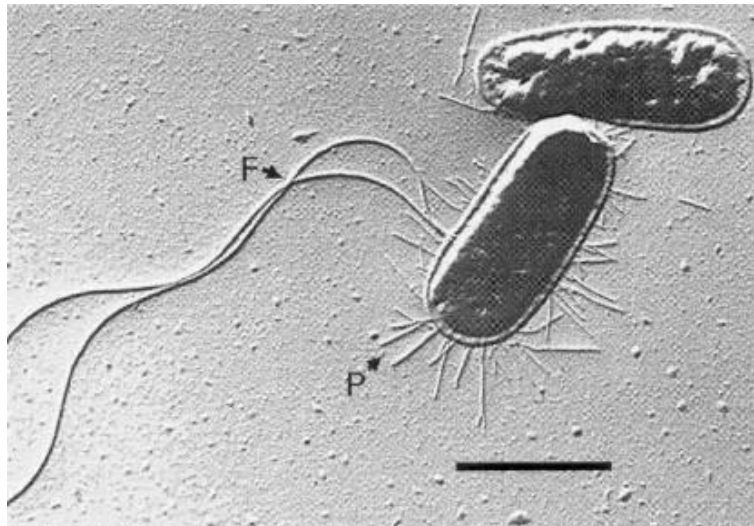
Sur le plan immunologique, le lipopolysaccharide constitue l'antigène O des bactéries à Gram négatif. Le LPS est un lipide complexe auquel est attaché un polysaccharide qui est responsable de la spécificité antigénique de l'antigène O. Sur le plan physiopathologique, le LPS, extrêmement toxique, représente l'endotoxine des bactéries à Gram négatif (Fairbrother, 1993).



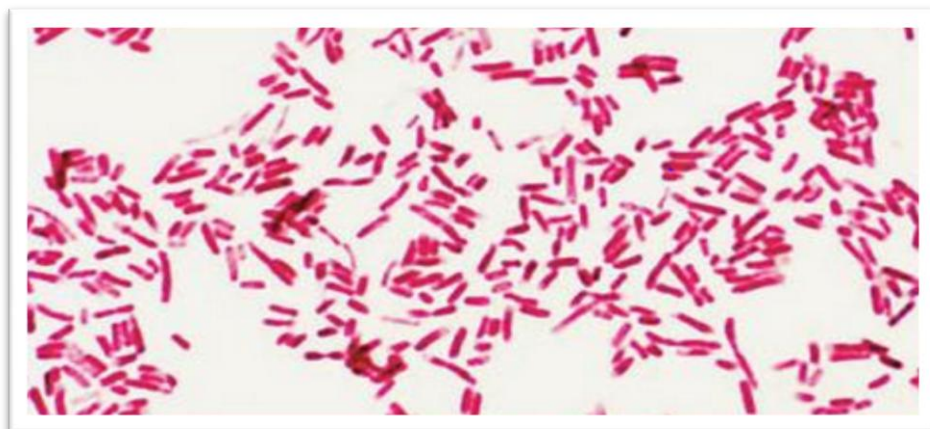
**Fig. 01** - Schéma de la paroi des bactéries à Gram négatif (Fairbrother, 1993).

**I.1.1.1-Escherichia coli :**

*Escherichia coli*, l'une des premières espèces bactériennes étudiées par les scientifiques a été isolée pour la première fois en 1885 dans les selles de nourrissons par le pédiatre allemand Theodor Escherich qui lui donna le nom de bacille *Bacterium coli* commune. En 1919, pour rendre hommage aux travaux d'Escherich, Castellani et Chambers ont renommé la bactérie *Escherichia coli* (**Ghebru, 1988**). *Escherichia coli* (*E. coli*) est un bacille à Gram négatif appartenant à la classe des  $\gamma$ -protéobactéries et à la famille des Enterobacteriaceae. Il s'agit d'une bactérie anaérobie facultative fermentant le glucose et non sporulante. Le microbiote intestinal des animaux à sang chaud et des reptiles est son habitat primaire (**Fairbrother, 1993**).



**Fig. 02** - Photo d'*Escherichia coli* (**Ghebru, 1988**).



**Fig. 03** - Photo d'*Escherichia coli* gram négatif (prise avec un microscope optique et magnifié 400 fois) montre la couleur rouge de bactéries lorsqu'elles sont colorées en utilisant la technique de coloration de Gram (**Ghebru, 1988**).

### A) Classification d'*Escherichia coli*:

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* du fait de leur isolement fréquent du tube digestif de l'homme et /ou de fèces des mammifères. Les genres appartenant à cette famille sont des bacilles à gram négatif, ne possédant pas d'oxydase, aéro-anaérobies facultatifs et parfois mobiles grâce à une ciliature péritriche. Le genre *Escherichia coli* est constitué de 5 espèces : *E. coli* ; *E. blattae* ; *E. fergusonii* ; *E. hermannii* et *E. vulneris* (Ghebru, 1988).

**Tableau 02** –Taxonomie d'*Escherichia coli* (Gyles, 2007).

<b>Règne</b>	Bactérie
<b>Embranchement</b>	Protelobacteria
<b>Classe</b>	Gamma Protelobacteria
<b>Ordre</b>	Enterobacteriales
<b>Famille</b>	Enterobacteriaceae
<b>Genre</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Espèces</b>	<i>E. coli</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. hermannii</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. blattae</i> .

### B) Pathogénicité d'*Escherichia coli* :

Certaines souches d'*E. coli* sont pathogènes pour l'homme. La classification médicale des *Escherichia coli* pathogènes distingue ainsi 6 groupes définis suivant les différents signes cliniques induits par une infection :

- Les *E. coli* entérohémorragiques (ECEH).
- Les *E. coli* entérotoxinogènes (ECET).
- Les *E. coli* entérotoxinogènes (ECEPT).
- Les *E. coli* entéroinvasifs (ECEI).
- Les *E. coli* entéroaggrégatifs (ECEagg).
- Les *E. coli* d'adhésion diffuse (ECDA) (Farmer et al., 2002).

### I.1.2-Bactéries à Gram positif

Les bactéries gram positif sont des bactéries qui retiennent le cristal violet dans le procédé de coloration de Gram. En taxinomie bactériologique, bactéries enveloppées d'une membrane plasmique, doublée d'une épaisse paroi de peptidoglycane et dépourvues d'une membrane externe. Le caractère gram-positif est dû à l'épaisseur de la paroi et au taux de pontage élevé du peptidoglycane. Lorsque la paroi est trop mince pour que la coloration soit nettement positive, la bactérie est néanmoins classée comme gram-positif, si elle n'a pas de membrane externe (**Hanes, 2003**).

#### A) Structure :

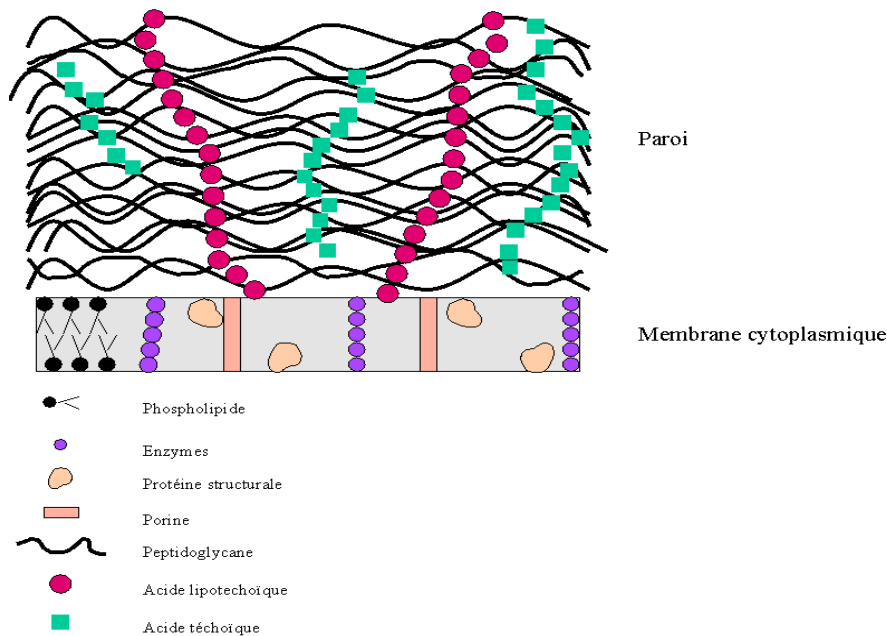
Les bactéries Gram positif ont (sauf exception) une structure uni-membranée qui s'organise en trois grandes parties (de l'extérieur vers l'intérieur) :

- La couche de peptidoglycane composant la paroi cellulaire
- L'espace périplasmique
- La membrane plasmique (**Heuvelink et al., 1999**)

La couche de peptidoglycane des bactéries à Gram positif est très épaisse contrairement à celle des bactéries à Gram négatif. Sa composition varie très légèrement en fonction du genre, voire de l'espèce, de la bactérie concernée. Elle est principalement formée de plusieurs couches de polymère de N-acétyl-glucosamine (NAG) et d'acide N-acétylmuramique (NAM) en série alternée. Le peptidoglycane des Gram positif est traversé latéralement par de grandes chaînes polymériques qui le relie à la membrane plasmique : les acides lipotéichoïques. D'autres chaînes, telles les acides téichoïques, sont contenus dans le peptidoglycane et assurent sa stabilité (**Hanes, 2003**).

L'espace périplasmique, beaucoup plus étroit que chez les Gram négatif, est un espace de stockage d'enzymes, de nutriments, de protéines, d'ions...etc. Il a beaucoup d'autres fonctions notamment dans certaines étapes de la synthèse de protéine et dans le métabolisme. Il se situe entre la couche de peptidoglycane et la membrane plasmique (**Heuvelink et al., 2002**).

La membrane possède des protéines poreuses aboutissant dans l'espace périplasmique (synthèse de protéine). La membrane plasmique contient de nombreux autres complexes protéiques d'une importance vitale pour la bactérie (comme l'ATP synthase) qui ont des rôles prépondérants dans le métabolisme bactérien.



**Fig. 04** -Schéma de la paroi des bactéries à Gram positif (Hanes, 2003).

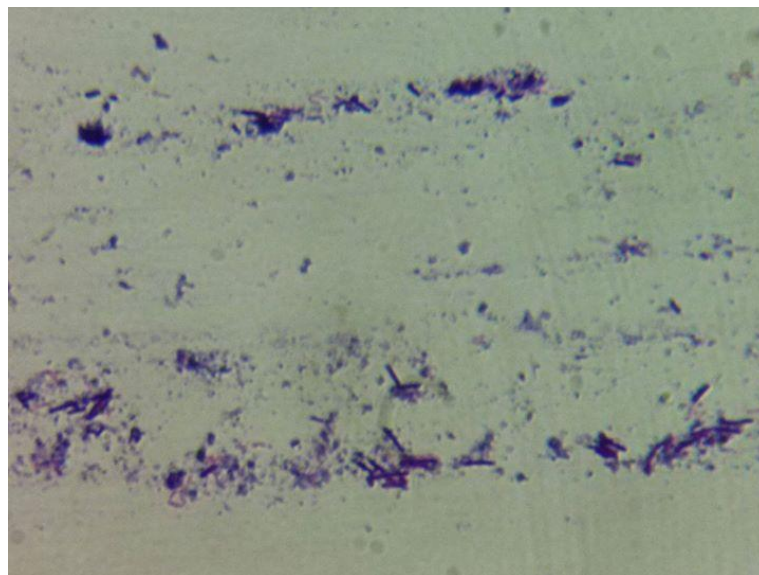
Les bactéries Gram positif sont pour la plupart des germes non exigeants, c'est-à-dire qu'ils se cultivent facilement dans les milieux de base. La plupart des coques sont des Grams positif mais de nombreux bacilles sont aussi des Gram positif.

#### I.1.2.1- *Bacillus subtilis* :

*Bacillus subtilis* est une bactérie vivant dans le sol à des températures modérées (5°C-65°C). Dans sa niche écologique, elle doit souvent faire face à des stress et des carences en nutriments, ce qui l'a conduite à développer diverses stratégies afin de survivre en conditions défavorables. Elle est notamment capable de former des spores, qui lui permettent de survivre longtemps dans des conditions extrêmes telles que la dessiccation, la chaleur ou les radiations. Au cours de l'évolution, sa compétence naturelle lui a également conféré une capacité d'adaptation par recombinaison. A court terme, la bactérie est aussi capable d'affronter des situations telles que les stress osmotiques, oxydatifs, acides ou les chocs thermiques, en particulier grâce à des régulateurs globaux de réponse au stress (Hanes, 2003).



**Fig. 05** - Photos de *Bacillus subtilis* (Heuvelink et al.,1999).



**Fig. 06** - Photo de *Bacillus subtilis* gram positif (microscope optique, objectif x100) après coloration de Gram.

### A) Classification de *Bacillus subtilis* :

*B. subtilis* fait partie des bactéries gram-positives à faible pourcentage en guanine et en cytosine (%GC) dans leur génome. Elle appartient au groupe des Firmicutes (ou Bacillus/Clostridium) qui comporte trois classes : les Bacilli (comprenant les genres *Bacillus*, *Listeria*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* et *Streptococcus*), les Clostridies les Mollicutes (Heuvelink et al., 2002).

**Tableau 03** -Taxonomie de *Bacillus subtilis*. (Hanes, 2003)

<b>Règne</b>	Bactérie
<b>Embranchement</b>	Firmicutes
<b>Classe</b>	Bacilli
<b>Ordre</b>	Bacillales
<b>Famille</b>	Bacillaceae
<b>Genre</b>	<i>Bacillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Bacillus subtilis</i>

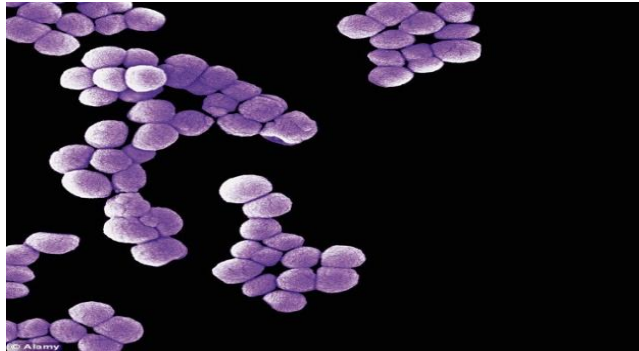
### B) Pathogénicité de *Bacillus subtilis*:

Les *Bacillus subtilis* ne sont pas pathogènes. Ils peuvent contaminer les aliments, mais ils entraînent rarement une intoxication alimentaire. Ils sont utilisés sur les plantes en tant que fongicide. Ils sont également utilisés pour les graines agricoles, telles que des légumes et graines de soja, en tant que fongicide. Les bactéries, les colonisés sur les systèmes de racines, en concurrence avec les organismes pathogènes fongiques. *Bacillus subtilis* utilisent comme fongicide ne heureusement pas affecter les humains. Certaines souches de *Bacillus subtilis* provoquent la pourriture des pommes de terre. Il pousse dans la nourriture qui est non-acide, et peut causer des ropiness dans le pain qui est gâté. Certaines souches liées à *Bacillus subtilis* sont capables de produire des toxines pour les insectes. Ces souches peuvent également être utilisées pour la protection de cultures. *Bacillus thuringiensis*, par exemple, est une autre bactérie appartenant au même genre qui est utilisé pour le contrôle des insectes (Heuvelink et al.,1999).

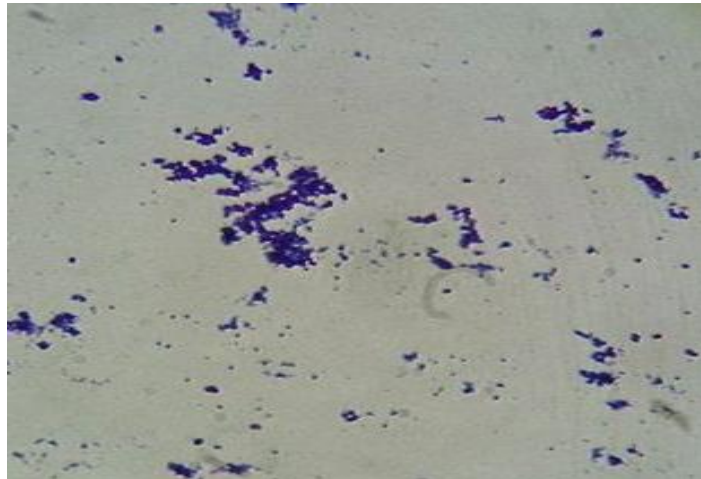
**I.1.2.2- *Micrococcus luteus* :**

Le *Micrococcus luteus* est une bactérie Gram positif qu'on retrouve sur la peau, dans la bouche et les voies respiratoires supérieures des mammifères, y compris de l'homme. C'est l'espèce du genre *Micrococcus* la plus courante et elle peut persister jusqu'à deux ans et demi sur la peau humaine (Heuvelink et al., 2002).

Il ne s'agit pas d'une bactérie systématiquement pathogène mais elle peut le devenir chez les personnes immunodéprimées. Le *Micrococcus luteus* peut alors se rendre responsable d'abcès intracrâniens, de pneumonie, d'endocardite, d'arthrite septique ou encore de méningite (Hanes, 2003).



**Fig. 07** - Photos de *Micrococcus luteus*.(Heuvelink et al., 2002).



**Fig. 08** - Photo de *Micrococcus luteus* gram positif (microscope optique, objectif x100) après coloration de Gram.

**A) Classification de *Micrococcus luteus* :**

**Tableau 04** -Taxonomie de *Micrococcus luteus* (Hanes, 2003)

<b>Règne</b>	Bacterie
<b>Embranchement</b>	Actinobacteria
<b>Classe</b>	Actinobacteria
<b>Sous-classe</b>	Actinobacteridae
<b>Ordre</b>	Actinomycetales
<b>Sous-ordre</b>	Micrococccineae
<b>Famille</b>	Micrococcaceae
<b>Genre</b>	<i>Micrococcus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Micrococcus luteus</i>

**B) Pathogénicité de *Micrococcus luteus* :**

*Micrococcus luteus* n'est pas pathogène et est considéré comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergent engendrant des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés. *M. luteus* est résistant à un potentiel hydrique réduit et peut tolérer la dessiccation et de fortes concentrations salines (Heuvelink et al., 1999).

**I.2-Les champignons :**

Les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux, ubiquitaires (Pitt et al., 2000). Au sein du règne des champignons renfermant suivant les auteurs 65000 à 100.000 espèces différentes, les moisissures constituent un ensemble hétérogène d'environ 20.000 espèces. Ces microorganismes eucaryotes appartiennent en majorité à quatre classes : zygomycètes, ascomycètes, basidiomycètes et deutéromycètes (Berthier et Valla, 2001).

Les moisissures peuvent devenir visibles, lorsque leur développement est important, ce sont de véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères, capables de se développer sur des substrats nutritifs variés et tout particulièrement sur les denrées alimentaires, il s'agit d'organismes hétérotrophes. Ces microorganismes microscopiques produisent une grande variété de métabolites secondaires, certains d'entre eux sont très utiles à l'homme et présentent un intérêt considérable dans les différents domaines (agriculture, biotechnologie, environnement, santé, etc) (Perry *et al.*, 2004). A côté de ces intérêts bénéfiques, les moisissures constituent un agent de détérioration très important. Leur développement indésirable sur les aliments peut entraîner de nombreux problèmes tel que la modification de l'aspect des produits alimentaires, altération de qualités organoleptiques (odeur et flaveur), réduction qualitative et quantitative de la valeur alimentaire, une baisse de rendement des récoltes et des pertes économiques dues au rejet des produits contaminés (Pitt *et al.*, 2000). Cependant l'impact le plus négatif de l'altération des denrées alimentaires est lié à la synthèse de substances toxiques qui sont les mycotoxines. Parmi les 300 métabolites d'origine fongique, seule une trentaine est connue pour être des mycotoxines (Bhatnagar *et al.*, 2002).

### **I.2.1- Identification des champignons**

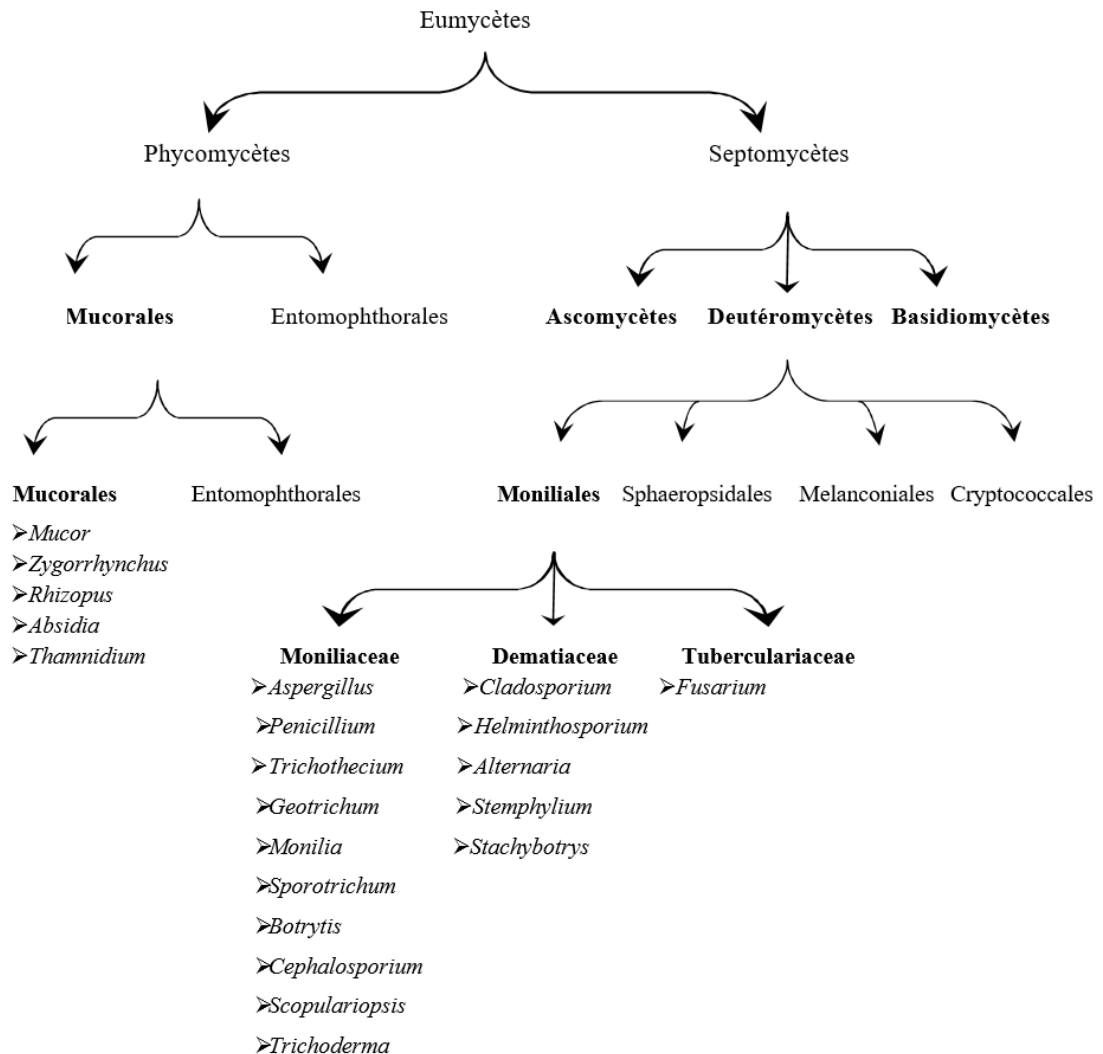
L'identification des espèces fongiques susceptibles de coloniser les aliments est basée sur la comparaison des critères d'ordre morphologique, physiologique et écologique, après leur culture sur différents milieux appropriés (Guarro *et al.*, 1999). L'identification moléculaire est souvent utilisée.

### **I.2.2- Caractères morphologiques**

L'observation de l'aspect de la colonie (couleur, texture), des septations, de la forme et du branchement des hyphes, des structures de sporulation et des spores sont une partie des caractères observés pour identifier correctement le champignon. Chaque espèce de champignon est caractérisée non seulement par sa couleur, son apparence et son mode de reproduction, mais aussi par ses exigences spécifiques d'ordre physiologique (ex. température de croissance) et écologique (substrat, conditions d'environnement) (Aazzoune, 2011).

### I.2.3- Classification

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent en diverses familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) et le mode de reproduction (**Davet, 1996**). Les Eumycètes (les vrais champignons) forment un groupe très vaste incluant les classes principales des moisissures (**Bourgeois, 1989**).



**Fig. 09** - Principales classes des moisissures (**Bourgeois, 1989**).

- Zygomycètes

Ces moisissures possèdent un thalle mycélien non cloisonné et des organes de reproduction sexuée (**Guiraud, 1998**). La famille la plus importante dans cette classe est celle de Mucorales qui comprennent un grand nombre de moisissures saprophytes mais aussi quelques espèces parasites des champignons, des animaux et des hommes (mucormycoses) et surtout des contaminants de nombreux produits alimentaires (**Leveau et Bouix, 1993 ; Boiron, 1996**). Certaines Mucorales sont parfois utilisées industriellement en raison de leurs activités enzymatiques (amylase, protéase,...) comme *Rhizopus* et *Mucor* (**Guiraud, 1998**).

- Ascomycètes

Les Ascomycètes sont définis comme des champignons à thalle mycélien cloisonné, dont le mode de reproduction est sexué avec des spores endogènes (ascospores). Cette classe regroupe de nombreux parasites des végétaux mais aussi de nombreuses moisissures (**Guiraud, 1998**). Elles sont cependant plus particulièrement nombreuses dans l'ordre des Eurotiales, des Microscelales et des Sphaeriales. Dans cette classe, le genre le plus connu est *Endothia* et *Neurospora* (**Bourgeois, 1998**).

- Basidiomycètes

Elles regroupent seulement certaines moisissures parasites. Elles sont caractérisées par un thalle à mycélium septé et une reproduction sexuée avec la formation de spores exogènes (basidiospores), c'est le cas de *Agaricus* et *Coprinus* (**Botton et al., 1999**).

- Deutéromycètes

Egalement appelés champignons imparfaits, les Deutéromycètes sont caractérisés par un mycélium cloisonné et une reproduction végétative réalisée par des spores asexuées ou par simple fragmentation du mycélium (**Boiron, 1996**). Ces moisissures constituent la majeure partie des Hyphales ; elles sont classées en fonction des caractéristiques des organes conidiens et du mode de groupement des hyphes. Le groupe des Deutéromycètes contient un grand nombre de contaminants de végétaux et de produits alimentaires : *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, cette classe regroupe aussi les *Penicillium* et les *Aspergillus* (**Punt et al., 2002 ; Frazier, 1967**).

#### I.2.4- *Fusarium graminearum* :

Appelée aussi *Gibberella zea* est une espèce de champignons ascomycètes de la famille des Nectriaceae , est un pathogène végétal qui provoque la fusariose. (Bourgeois, 1998).



**Fig. 10** - Image microscopiques de *Fusarium graminearum* (Bourgeois, 1998).

#### A) Classification de *Fusarium graminearum*

**Tableau 05** -Taxonomie de *Fusarium graminearum* (Bourgeois, 1998).

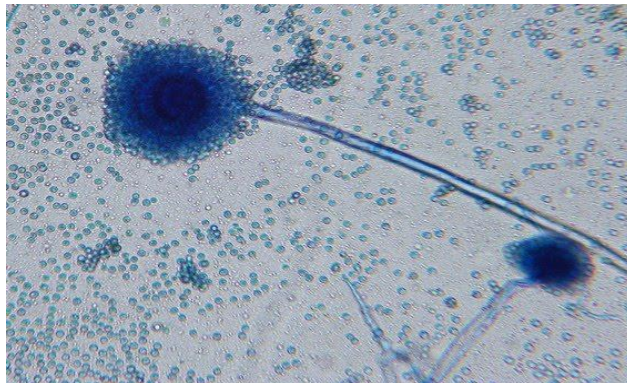
<b>Règne</b>	Fungi
<b>Embranchement</b>	Ascomycota
<b>Classe</b>	Sordariomycetes
<b>Ordre</b>	Hypocreales
<b>Famille</b>	Nectriaceae
<b>Genre</b>	<i>Gibberella</i>
<b>Espèce</b>	<i>Gibberella zea</i>

## B) Pathogénicité de *Fusarium graminearum*

Ce champignon est l'un des agents pathogènes responsables de fusarioses chez les céréales, notamment la fusariose du blé et la fusariose du maïs. Ces maladies, outre les pertes de rendement, provoquent des contaminations des grains récoltés par des mycotoxines (fusariotoxines) dangereuses pour la santé humaine et animale (Perry *et al.*, 2004).

### I.2.5- *Aspergillus flavus* :

Les espèces d'*Aspergillus* sont des mycètes filamenteux imparfaits ubiquitaires; *l'Aspergillus flavus* est cosmopolite et passe la majeure partie de sa vie comme saprophyte dans le sol. Il est aussi un microbe pathogène opportuniste engendrant des infections envahissantes et non envahissantes chez l'homme ainsi que chez certains animaux et insectes (Guiraud, 1998).



**Fig. 11** - Image microscopiques d'*Aspergillus flavus* (Guiraud, 1998).

**A) Classification d'*Aspergillus flavus* :**

**Tableau 06** -Taxonomie d'*Aspergillus flavus* (Guiraud, 1998).

<b>Règne</b>	Fungi
<b>Division</b>	Ascomycota
<b>Classe</b>	Eurotiomycetes
<b>Sous-classe</b>	Eurotiomycetidae
<b>Ordre</b>	Eurotiales
<b>Famille</b>	Trichocomaceae
<b>Genre</b>	<i>Aspergillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Aspergillus flavus</i>

**B) Pathogénicité d'*Aspergillus flavus* :**

*Aspergillus flavus* est le principal producteur d'aflatoxines B1 (la plus importante), B2, G1 et G2. L'aflatoxine B1 est actuellement considérée comme le plus important agent carcinogène d'origine naturelle connu. D'autres mycotoxines sont produites : acide aspergillique, acide kojique (très toxique pour les animaux), flavicine, flavicidine, granegilline, orizazine, acide flavicidique (phytotoxique), acide  $\beta$  propionique, substance trémorgénique. Certaines souches peuvent également produire de l'acide cyclopiazonique. Il existe des teneurs maximales réglementaires selon les produits (Perry et al., 2004).

### I.3- Méthodes de décontaminations classiques :

La fin de tension alimentaire n'est pas uniquement le résultat de la croissance et de la diversification de la production agricole. Elle est le fruit de nouvelles découvertes qui permettent de conserver plus longtemps les denrées alimentaires. L'importance de ces innovations n'est pas à minimiser. L'économie traditionnelle était considérablement handicapée par le manque de moyens de stockage et de conservation des aliments.

Les fruits et les légumes se consommaient uniquement en saison et le bétail ne se conservait que salé... ou sur pied. Le blé était abondant jusqu'à la fin de l'hiver, mais il venait souvent à manquer en période soudure. Pour tous, le printemps correspondait à une période de pénurie, dramatique lorsque les récoltes de l'année antérieure avaient été mauvaises. Les nouveaux procédés permettent d'abord de transférer l'apport calorifique et vitaminique dans le temps, en atténuant considérablement les effets de la soudure. Ils apportent aussi une plus grande sécurité alimentaire, diminuant les risques de toxi-infection liés à la consommation d'aliments périmés. En améliorant les conditions de transport de ces produits, ils permettent enfin d'assurer des trafics plus soutenus, au bénéfice notamment des régions déficitaires (**Bourgeois, 1989**).

Entre 1803 et 1809, les découvertes de Nicolas Appert sont à l'origine de nouvelles techniques de conservation des aliments par la chaleur, l'appertisation. Empiriquement, cet industriel met au point une méthode permettant de faire des conserves de lait et de légumes verts dans des bouteilles chauffées au bain-marie, puis plus tard à la vapeur. Cette technique se diffuse rapidement en Grande-Bretagne et aux Pays-Bas, d'abord pour la conservation du poisson et des fruits au sirop, en utilisant des boîtes de fer blanc soudées, bien plus pratiques à transporter. Les travaux de Nicolas Appert sont prolongés quelques années plus tard par son neveu.

Raymond Chevallier-Appert, qui invente l'autoclave en 1851. Dès 1853, l'Américain Winslow parvient à une stérilisation parfaite à haute température (environ 115°C), ce qui permet un développement rapide de l'industrie de la conserve, notamment du « corned-beef ». La découverte du monde microbien par Louis Pasteur, vers 1865, apporte une explication scientifique à ces processus. Elle conduit à la mise au point d'un traitement thermique plus modéré, applicable aux laitages, à la bière ou aux fruits, la pasteurisation. Plus tardivement, la commercialisation des commercialisations des stérilisateurs ménagers

permet de répondre ces techniques dans foyers, tout particulièrement dans le monde rural (**Bourgeois, 1989**).

La conservation par le froid était connue bien plus anciennement puisqu'on en trouve des traces dans la Grèce antique. Jusqu'à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, le commerce de la glace est à l'origine de trafics à grandes distances, en particulier à partir de la Norvège. L'utilisation de la glace naturelle présente cependant des inconvénients comme le prix élevé, les impuretés ou les difficultés de transport.

Au XVIII<sup>e</sup> siècle, les travaux scientifiques avaient toutefois permis de constater que la détente d'un gaz produit un refroidissement. En 1857, le Français Ferdinand Carré élabore un appareil frigorifique fonctionnant à l'éther sulfurique, suivi par celui de Charles Tellier, avec de l'éther méthylique (1862). La solution commercialisable est appliquée par la fière du précédent. Edmond Carré, à partir de l'acide sulfurique (1866). Mais cette technique permet surtout la réfrigération des boissons dans les cafés. En 1868, Charles Tellier crée une machine à compression fonctionnant à l'ammoniac, qu'il installe sur un navire, le Frigorifique, qui assure en 1876 le premier transport de viande entre Rouen et Buenos Aires. Son rival. Ferdinand Carré, aménage un autre navire, le Paraguay, pour effectuer le chemin inverse (**Buridant et al., 2007**).

---

## **Chapitre II - Généralité sur les rayons ultraviolets**

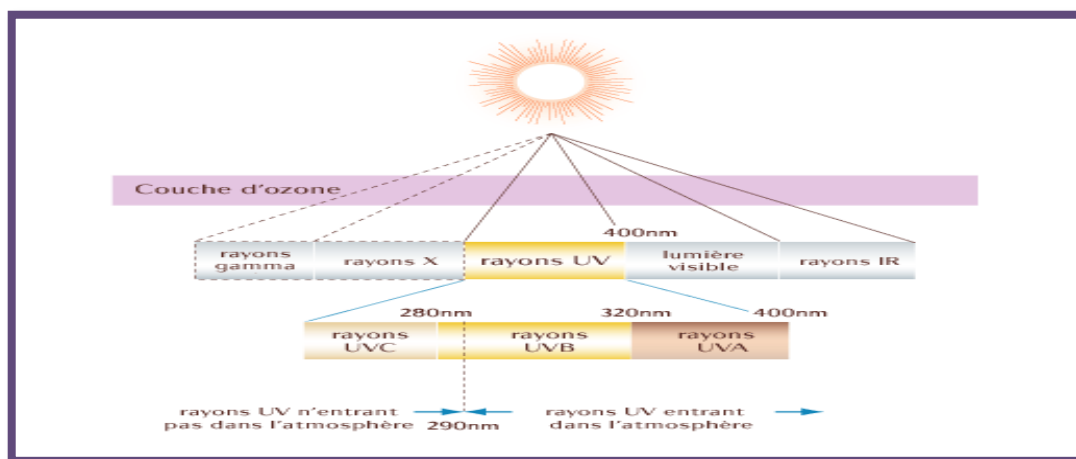
## II- Généralité sur les rayons ultraviolets :

### II.1- Aperçu générale sur les rayons ultraviolets :

En **1801**, le physicien **JohannWilhelm Ritter** a découvert la région ultraviolette du spectre solaire. Il a montré une action chimique des longueurs d'onde plus courtes que le violet de 100 à 400 nm sur le chlorure d'argent. Cette partie du spectre correspond au rayonnement UV. Il est subdivisé en trois groupes en fonction des caractéristiques physiques des différentes longueurs d'onde : UVC de 100 à 280 nm, UVB de 280 à 315 nm et les UVA de 315 à 400 nm. Seulement 1% du rayonnement de longueur d'onde supérieure à 315 nm est absorbé par l'ozone de l'atmosphère et 90% pour les longueurs d'onde inférieures à 315 nm (**Armstrong, 1994**).

Ces rayons UV ont une action photochimique sur les corps, action qui se manifeste par des réactions très diverses telles que :

- pigmentation de la peau (UV-A),
- vitamiation des produits alimentaires (UV-B),
- destruction des micro-organismes (UV-C),
- formation d'ozone (pour des longueurs d'onde de l'ordre de 185 nm).



**Fig. 12 - Spectre des rayonnements UV (Awwa, 1990)**

En pratique, les photobiologistes utilisent parfois une subdivision différente en fonction des caractéristiques biologiques du rayonnement ultraviolet : UVC de 200 à 290 nm, les UVB de 290 à 320 nm et les UVA de 320 à 400 nm (**Diffey, 2002**). Les rayonnements UVC ainsi définis (de longueur d'onde inférieure à 290 nm) n'atteignent pas la surface de la terre, sauf à très haute altitude où la couche Atmosphérique traversée par les UV est moins épaisse. La séparation à 320 nm correspond à la longueur d'onde au-delà de laquelle le rayonnement traverse le verre. De plus, les effets biologiques sont plus importants pour les longueurs d'onde plus courtes que 320 nm. Le flux d'énergie du rayonnement s'exprime en Watt par unité de surface (par exemple : W/cm<sup>2</sup>). L'irradiation reçue par un individu ou par une surface dépend de ce flux d'énergie et du temps d'exposition. Elle s'exprime en Joules par unité de surface (par exemple : J/cm<sup>2</sup>) ou en Wattheures par unité de surface (Wh/cm<sup>2</sup>). Par exemple, une dose de 100 Wh correspond à la dose reçue avec une puissance de 100 watts pendant une heure ou avec une puissance de 50 Watts pendant deux heures. 1Wh correspondent à 3600 Joules. Lorsque l'irradiation est exprimée en fonction de la longueur d'onde, on parle de distribution spectrale. IL est important de la prendre en compte car la nature des effets du rayonnement UV dépend de la longueur d'onde (**Setlow, 1974 ; Agar, 2004 ; Pearse et al., 1987**).

### **II.2- Les sources des rayons UV :**

Naturellement les rayons UV sont contenus dans le rayonnement solaire. La plupart des UV de type B et C sont absorbés dans l'atmosphère par la couche d'ozone (**Sandec, 2005**) Généralement les rayonnements UV artificiels sont produits à l'aide de sources lumineuses à vapeur de mercure parmi lesquelles on distingue les lampes basse et haute pression qui se différencient par leur spectre, leur géométrie ou encore leur puissance (**Faure, 2010**). Les UVA peuvent être générés également par des diodes électroluminescentes (**Huang et al., 2009**). Cette technique présente certains avantages dont une durée de vie longue, un meilleur rendement photonique/électrique que les lampes à vapeur de mercure, ainsi qu'une compacité plus élevée et une faible consommation électrique (**Faure, 2010**).

### **II.3- Mesure de l'irradiation UV :**

Une difficulté dans la mesure de rayonnement UV est de supprimer les autres composants du spectre électromagnétique. Ce problème est dû au fait que l'énergie du rayonnement UV est très faible en comparaison des rayonnements visibles et infrarouges. Diverses méthodes ont été développées pour estimer l'exposition au rayonnement ultraviolet solaire et sont discutées ici dans l'optique d'utilisations dans les études épidémiologiques.

### II.3.1- Spectromètres et radiomètres (mesures directes) :

Les spectro-radiomètres et les radiomètres sont des appareils de mesure directe de l'irradiation ultraviolette au sol. Ils fournissent des données pour des localisations précises (Martínez *et al.*, 2002).

#### II.3.1.1-Spectro-radiomètres :

Le spectro-radiomètre est utilisé pour déterminer la distribution spectrale de l'irradiation qui sert à définir les spectres d'action, c'est-à-dire le pouvoir pathogène du rayonnement pour chaque longueur d'onde. Les spectro-radiomètres sont composés de deux parties. L'optique d'entrée reçoit la lumière et la transmet au monochromateur qui la diffracte en fonction de la longueur d'onde. Ce deuxième élément est dit dispersif car il sépare les différentes longueurs d'ondes afin que seuls les UV atteignent le détecteur. Le principal avantage est qu'il donne le spectre du rayonnement UV reçu en temps réel, c'est-à-dire qu'il ne nécessite pas d'étape intermédiaire pour l'obtention du résultat. Pour chaque longueur d'onde, souvent avec un passe de 0,5 à 1 nanomètre.

#### II.3.1.2-Radiomètre à large bande :

D'après (Grainger *et al.*, 1993 ; Hartge *et al.*, 2006 ; Johnsen et Moan, 1991) Le radiomètre à large bande est un instrument moins coûteux qui permet de mesurer l'irradiation fournie par un ensemble de longueurs d'ondes prédéfinies et non pour chaque longueur d'onde. Il possède généralement un détecteur avec un dispositif de sélection des longueurs d'onde et une optique d'entrée. Par exemple, un radiomètre à UVB doit avoir un capteur avec une réponse spectrale uniforme pour les longueurs d'ondes comprises entre 280 et 315 nm et une réponse nulle pour les autres longueurs d'onde. Il existe aussi des radiomètres à UVA et à UV érythémateux. Le capteur doit recevoir les rayonnements provenant de tous les côtés pour prendre en compte le rayonnement direct, diffus et réfléchi. Le temps de réponse est plus rapide que celui des spectro-radiomètres ce qui permet de prendre en compte les changements météorologiques rapides. Le radiomètre le plus utilisé est le Robertson-Berger. Il mesure la dose d'ultraviolet reçue pour les longueurs d'onde responsables de l'apparition des érythèmes. Mais il est sensible à la température. De plus, pour couvrir de grandes zones géographiques, il est nécessaire d'avoir un grand réseau de radiomètres (Johnsen et Moan, 1991).

### II.3.2- Dosimètres individuels :

Les dosimètres individuels sont des outils de plus petite taille et de moindre coût. Le fonctionnement des dosimètres individuels chimiques ou biologiques est basé sur des caractéristiques des rayonnements UV. Ces rayonnements causent des dommages biologiques ou chimiques sur les films des dosimètres, l'estimation de l'irradiation est faite à partir de la mesure de ces dommages (**Horneck, 1995**).

#### II.3.2.1- Satellites (mesures indirect) :

L'utilisation de données satellitaires permet l'estimation de l'exposition au rayonnement UV pour des localisations où des mesures directes ne sont pas possibles. Les données de satellites peuvent être utilisées pour générer des cartes car elles permettent de couvrir une large zone géographique. Les paramètres influençant le rayonnement UV, c'est-à-dire essentiellement l'ozone, la nébulosité, l'albédo de la surface, sont dérivés à partir des mesures des satellites. Ils sont ensuite inclus dans un modèle de transfert radiatif pour estimer l'irradiation UV à la surface terrestre. Mais la précision de ces modèles a des limites. Les valeurs estimées à partir des capteurs positionnés dans l'espace doivent être validées avec des mesures au sol, plus directes et donc plus précises. Pour l'estimation du rayonnement UV, plusieurs types d'instruments sont utilisés : Ozone Monitoring Instrument (OMI), Les Geostationary Operational Environmental Satellites (GOES), Satellites Météosat (**Perez, 1997 ; Zelenka, 1999**).

### II.4- Facteurs influençant la dose de rayonnement UV :

#### II.4.1- Ozone :

La couche d'ozone ( $O_3$ ) de l'atmosphère est située dans la stratosphère, à environ 10 km au-dessus de la surface terrestre. Elle absorbe la quasi-totalité des UVC et une partie des UVB dont elle est le principal composant absorbant dans l'atmosphère et très peu d'UVA. Dans les années 1980, nous avons commencé à nous intéresser plus en détails à la diminution de la quantité d'ozone dans l'atmosphère et à ses effets. Elle est susceptible d'entraîner une augmentation de l'irradiation UV arrivant jusqu'à la surface terrestre (**Kimlin, 2008**). Une diminution de 1% de l'ozone atmosphérique engendrerait une augmentation de 2% de la dose de rayonnement UV efficace sur l'ADN (**Setlow, 1974**).

**II.4.2- Altitude :**

Aux altitudes les plus élevées, les rayonnements UV ont une épaisseur d'atmosphère plus fine à traverser et sont donc moins atténués. L'augmentation du rayonnement UV varie de 5% à 20% pour chaque kilomètre d'altitude selon la longueur d'onde (**Aucamp et al., 2011**).

**II.4.3- Albédo :**

L'albédo est le taux de rayonnement atteignant la surface terrestre qui est réfléchi par celle-ci. Il est souvent inférieur à 10%. La principale exception est la neige dont l'albédo peut amplifier le rayonnement UV jusqu'à 90%. Le sable reflète 15 à 30% du rayonnement. Au contraire l'herbe réfléchit peu le rayonnement UV. La réflexion de l'eau dépend de son mouvement. Une eau calme ne reflète que 5% tandis qu'une eau agitée peut refléter jusqu'à 20% (**Diffey, 2002**).

**II.4.4- Aérosols :**

Diverses particules de l'atmosphère, les aérosols, diffusent et absorbent les radiations UV. La diffusion est le phénomène par lequel un faisceau de rayonnement est dévié dans de multiples directions. Lorsqu'une petite particule se trouve sur le trajet de l'onde ultraviolette, elle rayonne à son tour dans toutes les directions (**Kimlin, 2008**).

**II.4.5- Nébulosité :**

L'effet d'un nuage sur le rayonnement UV dépend de sa composition, sa densité et son altitude. Dans la plupart des cas, la nébulosité diminue le rayonnement (**Kimlin, 2008**). La transmittance d'un nuage est le ratio de l'éclairement UV avec couverture nuageuse et de l'éclairement UV sans couverture nuageuse. Elle diminue quand la longueur d'onde augmente. Elle est de 45% pour les UVA et 60% pour les UVB (**Seckmeyer et al., 1996**). Les nuages qui sont composés soit de gouttelettes liquides ou de gouttelettes de glace atténuent les UV principalement par diffusion (**Diffey, 2002**). Les gouttelettes ont un rayon d'environ 1 à 30 microns, beaucoup plus large que les longueurs d'onde des UV.

Certaines études ont montré que les nuages pouvaient augmenter le rayonnement UV par rapport à une journée sans nuage par phénomène de réflexion, en particulier le rayonnement UVB (**Sabburg et al., 2001 ; Thiel et al., 1997**).

**II.5- Action locale des rayons UV :**

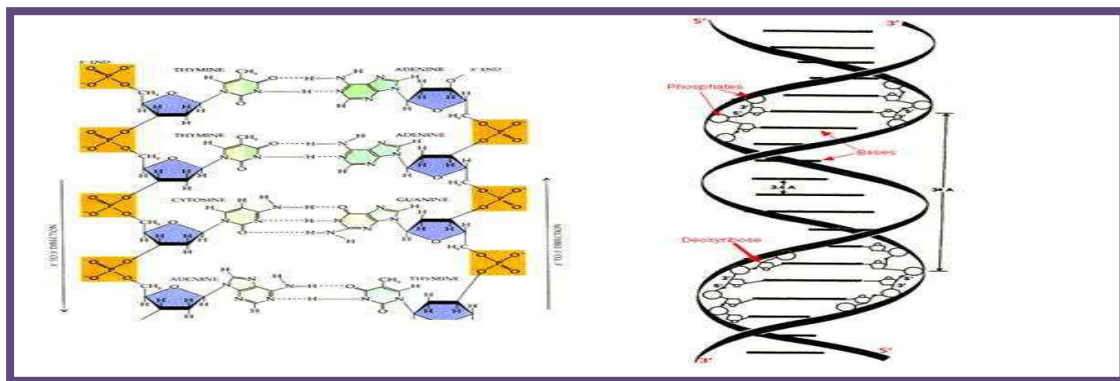
- **L'érythème:** que l'on appelle communément un coup de soleil, est une inflammation de la peau due à une surexposition au rayonnement UV. Il est principalement dû aux UVB mais les UVA sont aussi en cause dans leur apparition (**Setlow, 1974**). L'UVA induit sur le long terme un vieillissement prématuré de la peau par une diminution de l'efficacité de l'élastose dans le tissu conjonctif. La peau se dépigmente et se détend et des rides apparaissent (**Rabe, 2006**).
- **Pathologies oculaires:** Le rayonnement UV atteint aussi l'œil. Il est absorbé d'abord par le cristallin puis par la cornée ; il n'atteint pas la rétine. Les rayonnements les plus susceptibles de jouer un rôle majeur dans les maladies oculaires sont ceux issus de la diffraction et de la réflexion car les rayonnements directs ont peu de risque d'atteindre la cornée et les autres tissus oculaires, et ce en raison de l'aversion naturelle à regarder directement en direction du soleil. La cataracte est la maladie oculaire liée à l'exposition solaire la plus répandue. Il s'agit d'une opacification totale ou partielle du cristallin qui provoque une baisse de la vision. Plusieurs études suggèrent le rôle des UVB dans certains types de cataractes liées à l'âge. Le rayonnement UV peut aussi provoquer des inflammations de la cornée, de l'iris ou de la conjonctive de l'œil qui apparaissent dans les quelques heures suivant l'exposition (**Norval, 2006**).
- **Système immunitaire :** L'irradiation UVA et à l'UVB diminue les défenses immunitaires (**Halliday et Rana, 2008**). Elle réduit la capacité de certaines personnes à résister à des maladies infectieuses et compromet l'efficacité des vaccinations (**Norval, 2006**).
- Le rayonnement UV altère la structure de l'ADN en fonction de la longueur d'onde. En temps normal, les mécanismes de réparation de l'ADN corrigent ces dommages. Mais s'ils sont trop nombreux, ils provoquent une apoptose des cellules concernées voire des tumeurs (**Matsumura et Ananthaswamy, 2004**). Le rayonnement UV engendre notamment des mutations du gène TP53. Ce gène code pour la protéine p53 qui agit comme un suppresseur de tumeurs. Elle empêche des cellules de croître ou de se diviser de manière incontrôlée et prévient ainsi les cancers (**Gallagher et Lee, 2006 ; Meeran et al., 2008**).
- Le rayonnement UV a été classé en cancérigène de groupe 1 c'est-à-dire en cancérigène pour l'homme par le CIRC (Centre international de Recherche sur le Cancer)

en 2009 (**El ghissassi, 2009**). Il est notamment un facteur de risque pour les cancers de la peau. Une étude en laboratoire a montré que l'exposition chronique (plusieurs mois) au rayonnement UV induit des cancers cutanés chez la souris (**Kripke et Fisher, 1976**).

## II.6- Action du rayonnement UV sur les micro-organismes :

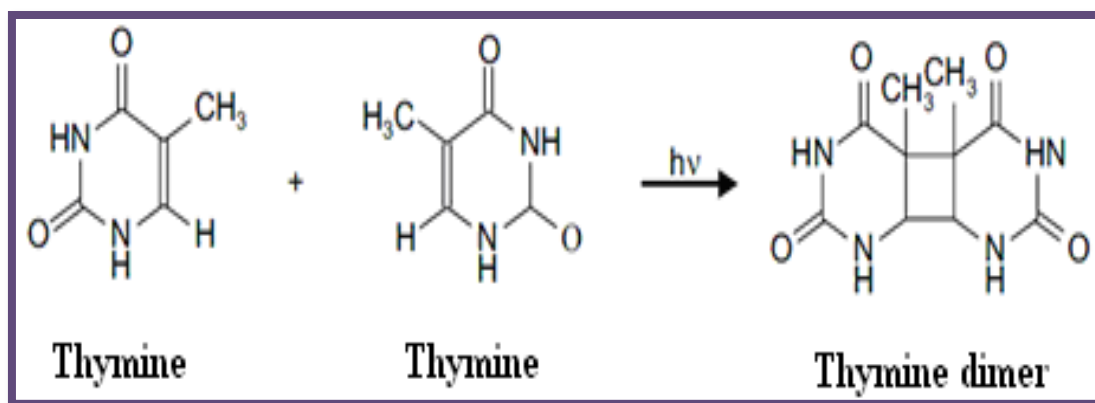
### II.6. 1- Mécanisme de l'inactivation des micro-organismes par l'UV :

Pour qu'il y ait désinfection, les lampes doivent fournir une radiation lumineuse dont le spectre d'émission se situe dans la région de l'UVC laquelle est la plus efficace à produire un effet germicide. On observe ce dernier lorsque l'énergie de la radiation est absorbée au niveau du matériel génétique (A.R.N et A.D.N). Ce dernier contient l'information qui est transmise d'une génération à l'autre et qui permet de perpétuer les caractères propres à l'espèce. Plus particulièrement, ce sont les nucléotides, éléments constitutifs des acides nucléiques qui absorbent le rayonnement, soit les bases puriques (adénosine (A) et guanine (G)) et les bases pyrimidiques (thymine (T) et cytosine (C)) (**Abrahams et Vander, 1976**).



**Fig. 13 - La double hélice de l'ADN et les deux paires de ses bases (Masselot, 2008)**

Suivant l'exposition aux UV, il y a une variété de photoproduits formés au niveau de l'A.D.N dont le plus important est le dimère de pyrimidines adjacentes sur un des brins d'A.D.N. et dont les 3 types répertoriés sont : T-T (appelé le dimère de thymine et le plus fréquent), T-C et C-C. Le dimère crée une distorsion au niveau de l'A.D.N., rendant inefficace voire impossible la réplication du micro-organisme ; il en résulte la mort cellulaire ou l'apparition d'une génération de mutants non viables ou incapables de se reproduire (**Bolton, 1999**).



**Fig. 14** - Dimérisation photochimique de deux bases de thymine

(Bolton,1999)

Quelques micro-organismes (en particulier bactéries) ont un mécanisme de réparation qui dissocie les dimères de thymine, ce processus est déclenché par l'absorption de la lumière UVA et la lumière visible et s'appelle ainsi la photo reactivation. Le mécanisme de réparation peut être empêché, mais ceci exige une dose UV plus élevée (Bolton, 1999).

### II.6.2- Inactivation des Virus et des bactéries :

Les bases pyrimidiques de l'A.R.N. des virus sont constituées de cytosine et d'uracile, au lieu de thymine et de cytosine pour l'A.D.N. des bactéries. La dimérisation de la thymine est plus facilement induite par les UV que celle de l'uracile. Ceci peut expliquer la plus grande résistance des virus. Les rétrovirus ont un double brin d'A.R.N. sur lequel davantage de dommages seraient nécessaires à l'inactivation ou qui permettrait la redondance des informations, ce qui est impossible sur un A.R.N. monobrin tel que celui du poliovirus. Les réovirus sont 3 fois plus grands que les poliovirus et possèdent une double membrane protéinique, qui absorberait mieux les UV (Faure, 2010).

### II.6.3- Cinétique d'inactivation :

L'inactivation des bactéries est caractérisable par des cinétiques qui comportent classiquement trois (03) étapes. La première phase correspond à une décroissance lente de la concentration bactérienne au cours du temps voire une stabilisation de celle-ci : il s'agit d'un plateau (I) dont la présence peut s'expliquer par une attaque isolée sur de multiples cibles qui conduirait à un faible endommagement des cellules. Puis viennent l'étape de croissance « loglinéaire » (II) qui couvre la plus grande partie de la réaction et dans laquelle l'attaque des cellules est démultipliée, et le troisième stade qui correspond au ralentissement final du processus (III) La cinétique de désinfection par rayonnement UV

est contrôlée essentiellement par les caractéristiques de l'intensité UV, du temps (Faure, 2010).

## II.7- Résistance des micro-organismes aux rayonnements UV :

### II.7.1- Les bactéries :

Les bactéries non sporulées sont les germes les moins résistants aux rayonnements UV (Dykstra, 2002), leurs résistance est comparable à celle d'*Escherichia coli*.

### II.7.2- Les virus :

Linden et Mofidi (1999) et d'autres auteurs ont démontré dans leurs travaux que les virus sont moins sensibles aux rayonnements UV que les bactéries. On note également une différence de sensibilité entre virus, les rota virus étant plus résistants que les poliovirus. Les bactériophages fécaux spécifiques des bactéries entériques peuvent servir comme indicateurs des risques de contamination virale (Shayeb, 2000).

### II.7.3-Spores et kystes de protozoaires :

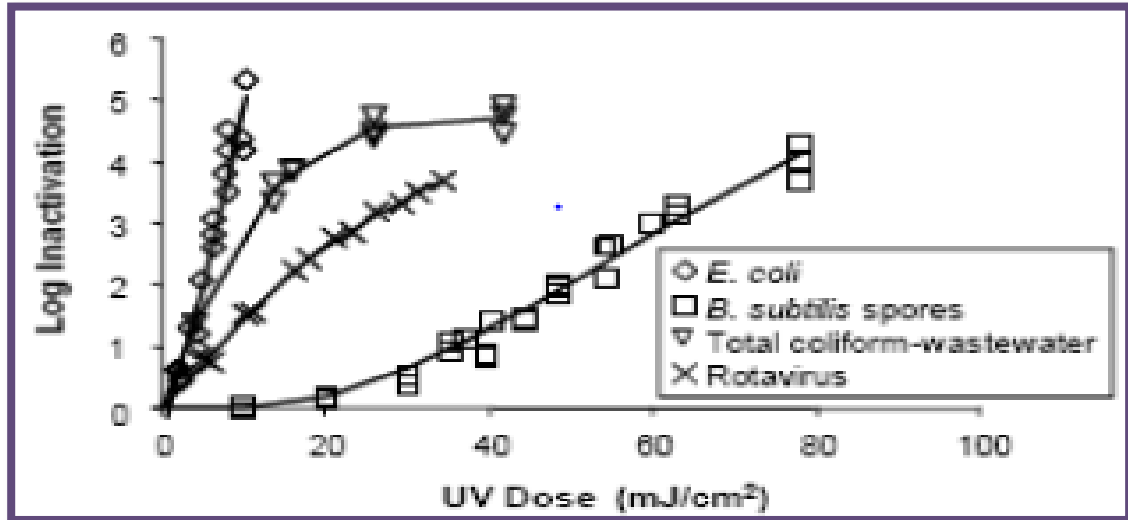
Ce sont les formes qui présentent la plus grande résistance aux rayonnements UV, et certains micro-organismes parasitaires ne seraient pas affectés (comme les œufs d'helminthe). Des travaux ont comparé la sensibilité des spores aux UV et aux autres désinfectants, et ils ont constaté que les UV sont les plus efficaces, même si quelques formes résistantes nécessitent d'importantes doses UV pour les réduire aux normes requises (Hijnen et al., 2006).

### II.7.4- Les différences de sensibilité des micro-organismes :

D'après (Rauth, 1965 ; Chang et al., 1985) la réponse à l'UV est variable selon le type de micro-organisme ciblé. En se limitant aux trois groupes principaux visés par la désinfection, la conclusion de la majorité des auteurs va dans le sens de celle de (Chang et al., 1985).

Les essais en laboratoire ont permis de déterminer le degré de résistance de différents microorganismes par rapport à celle d'*Escherichia coli*. Les bactéries végétatives nécessitent à peu près les mêmes doses qu'*Escherichia coli*. Les virus testés (rotavirus et poliovirus) sont trois à quatre fois plus résistants, les bactéries sporulées (*Bacillus subtilis*)

sont environ 10 fois plus résistantes alors que les kystes de protozoaires (*Acanthamoeba castellanii*) requièrent des doses environ 15 fois supérieures (Mignot, 2006).



**Fig. 15** - Courbes de doses-réponses pour différents types de micro-organismes (Chang et al., 1985)

La variation de sensibilité observée est difficilement dissociable de son état morphologique. Puisque le rayon doit pénétrer la cellule pour l'endommager, les organismes possédant une paroi plus épaisse ou des structures externes particulières seront en principe plus résistants aux rayons.

#### II.7.5-La taille du génome :

Vu la nature de l'action du rayonnement UV, la taille du génome et l'épaisseur des couches externes jouent un rôle important (Bolton, 1999), montre qu'à l'intérieur du même genre bactérien, la réponse peut être variable selon l'espèce, en raison de la taille ou de la composition du génome. Pour assurer leur inactivation, les micro-organismes doivent subir de multiples attaques du rayonnement au niveau du génome. Les acides nucléiques requièrent des dizaines et même des centaines de transformations photochimiques pour que la réplication soit rendue non fonctionnelle. De ce fait, les plus gros organismes présentent généralement la plus importante résistance. D'autre part, on remarque que les génomes qui contiennent des thymines sont les plus sensibles (Jagger, 1967), impute cette sensibilité au fait que les dimères de thymine sont plus facilement formés que les autres types.

**II.8- L'utilisation des rayons UV :**

- ❖ Diverses études suggèrent un effet protecteur de l'exposition au soleil sur certains types de cancers (**Angulo et al., 2004**). L'explication avancée est le rôle de l'UVB dans la synthèse de vitamine D. Mais ces études utilisent des données écologiques et des approximations de l'exposition au rayonnement UV, comme le temps passé en extérieur. Un groupe de travail du Centre international de Recherche sur le Cancer (**CIRC**) a étudié la relation entre l'exposition à l'UV et une éventuelle diminution de risque pour certains cancers. L'exposition à l'UV diminue le risque seulement pour le cancer du côlon.
- ❖ La lumière UV est fréquemment utilisée au laboratoire pour induire des mutations et son mécanisme d'action est le plus connu. Les conséquences les plus graves de l'exposition à la lumière UV, sont les modifications de l'ADN, molécule qui porte toutes les informations nécessaires à la vie des cellules et des individus (**Angulo et al., 2004**).
- ❖ Le rayonnement UV est utilisé en photothérapie contre certaines maladies comme le psoriasis, la dermatite atypique (**Nigro et al., 1998**).
- ❖ La désinfection par rayonnement UV présente actuellement meilleur rapport coût / performances ce qui explique le développement considérable de son utilisation avec, en 1996, plus de 1000 installations de traitement tertiaires, des plus petites (30m<sup>3</sup>/j) jusqu'aux plus grandes (300 000 m<sup>3</sup>/j) en Amérique du Nord et plus de 400 stations de traitement d'eau potable à travers le monde. Les domaines d'application de la technologie de désinfection par rayonnement UV s'élargissent au-delà du traitement tertiaire des eaux usées à des utilisations plus large comme la stérilisation des produits agro-alimentaires (**Unluturk, 2004**) et à l'industrie pharmaceutique. La majorité des études par exemple la technologie de désinfection par rayon UV utilisant l'UV porte sur le traitement des eaux usées ou sur l'aseptisation de l'eau potable en substitution du chlore. L'efficacité est maximale entre 250 et 280 nm pour dénaturer l'ADN ou encore entraîner des modifications structurales membranaires induisant des pertes en composés cellulaires vitaux, ce qui conduit à la mort cellulaire (**Liu et al., 1993 ; Nigro et al., 1998**).

La désinfection par les rayons UV est un moyen efficace de contrôler les microorganismes pathogène présents dans l'eau (**Liu et al., 1993**).

Les microorganismes ne sont pas tous sensibles de la même façon aux rayons UV, par exemple il a été démontré que comparativement à *E. coli*, les virus, sont trois fois plus

résistants aux rayons UV, Le poliovirus soient plus sensible au rayon UV que les autres (**Shaban et al., 1997**).

Plusieurs études démontrent que la dose UV appliqué aux microorganismes a un impact majeur sur le degré de photo réactivation, est un monomérisation directe des dimères de Thymines réalisée par la photolyase (ou enzyme de photo réactivation) la photolyase est une enzyme monomérique (**Voet et Voet, 1998**). Ce phénomène est atténué lorsque la dose UV augmente entre 300-500nm et s'effectue en deux étapes.

❖ D'un point de vue sociétal, certaines personnes considèrent le bronzage induit par l'exposition au rayonnement solaire comme un atout esthétique. Il est souvent considéré comme un facteur améliorant l'apparence. (**Goulart et Wang, 2010 ; Cafri, 2009 ; Börner et al., 2009**).

---

## **- Partie expérimentale**

### **Chapitre III - Matériels et méthodes**

### III- Matériel et méthodes :

#### III.1- Objectifs de l'étude :

Les objectifs du présent mémoire peuvent se résumer comme suit :

- ❖ Mettre en évidence l'effet antimicrobien des rayons ultraviolets (UV) sur les microorganismes.
- ❖ Mettre en évidence l'effet de la distance et du temps d'exposition aux UV sur la survie des souches microbiennes.
- ❖ Suivre l'augmentation de l'efficacité des rayons UV sur les microorganismes.
- ❖ Mettre en évidence l'effet de l'application direct des rayons UV sur la charge microbienne.

#### III.2- Lieu de travail :

Ces études ont été réalisées dans au laboratoire pédagogique du département de biologie à l'université AMAR THELIDJI – Laghouat.

#### III.3- Matériels biologiques

##### III.3.1 Les bactéries :

Les bactéries utilisées dans cette étude sont des souches de référence (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Micrococcus luteus*) font partie de la collection de laboratoire de microbiologie, ENS kouba, Alger. Toutes les souches sont fournies par Mr : LAHOUM Abdelhadi (laboratoire de microbiologie, ENS kouba ; Alger).

Leur pureté a été vérifiée par observation microscopique à l'objectif (x40). L'authentification des souches a été réalisé par coloration du Gram.

##### III.3.2 Les champignons :

Les souches fongiques *Aspergillus flavus* (AF), *Gibberellazeae* (*Fusarium graminearum*) (FG) ont été conservées dans le milieu PDA sous forme de gélose incliné à 4°C. Ces souches fongiques ont été utilisées pour réaliser ce travail, sont des souches de références fournit par Mr. KRANTAR Kamel (encadreur de ce travail).

**III.4- Principe de travail :**

Dans le présent travail, nous allons étudier :

L'efficacité de la désinfection aux UV sur la charge microbienne, Nous avons aussi testé quelle était l'influence des conditions expérimentales sur l'évaluation de l'efficacité de la désinfection aux UV. Et l'impact des facteurs de la distance et du temps d'exposition.

En prenant comme modèle de micro-organismes :

**Tableau 07-** Les souches bactériennes utilisées dans ce travail.

<b>Les souches bactériennes</b>	<b>Références</b>
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Micrococcus luteus</i>	/
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633

**Tableau 08-** les souches fongiques utilisées dans ce travail.

<b>Les souches fongiques</b>	<b>Références</b>
<i>Aspergillus flavus</i>	CECT 20802
<i>Gibberella zeae (Fusarium graminearum)</i>	CECT 2150

### III.4.1- Description de la lampe UV :

Ultraviolet ou lumière « UV » est une longueur d'onde du rayonnement. Il fait partie du spectre électromagnétique, qui comprend une micro-onde, rayonnement infrarouge et lumière visible. Chaque longueur d'onde du rayonnement est composé d'un champ électrique et magnétique, avec énergie vont et viennent entre eux. Tous les rayonnements vibre à une fréquence particulière et se déplace à la vitesse de la lumière (**Boltonet, 1999**).

La lampe est composée de deux tubes de lampe fluorescentes BLB (Black Light Blue) à rayonnement UV, émettant l'un, à 365 nm (UV-A) et l'autre à 254 nm (UV-C), avec filtre incorporé. Ce dispositif permet de traiter des échantillons à distance et temps contrôlés, pour des UVC à 254 nm (figure 16).



**Fig. 16** - L'appareil UV utilisé.

### III.5- Méthodes :

#### III.5-1- Dispositif UV :

L'appareil de laboratoire est muni d'une lampe UV et d'un filtre pour disposer des UVC à 254 nm. Ce dispositif permet de traiter des échantillons à distance et temps contrôlés (figure 17).



Fig. 17- Dispositif de traitement UV

#### III.5.2- Tests sur les souches bactériennes :

Les bactéries sont cultivées sur Bouillon Nutritif à 37°C pendant 18h. Les souches sont ensemencées en surface sur le milieu Plate Count Agar dit PCA, et incubées à 37°C, ceci pendant 24 à 48 h. La concentration obtenue en bactéries est une moyenne de  $7.4 \times 10^6$  UFC/ml (Unité Formant Colonie par millilitre) pour *Escherichia coli*,  $8.3 \times 10^5$  UFC/ml pour *Micrococcus luteus* et  $8.9 \times 10^5$  UFC/ml pour *Bacillus subtilis*.

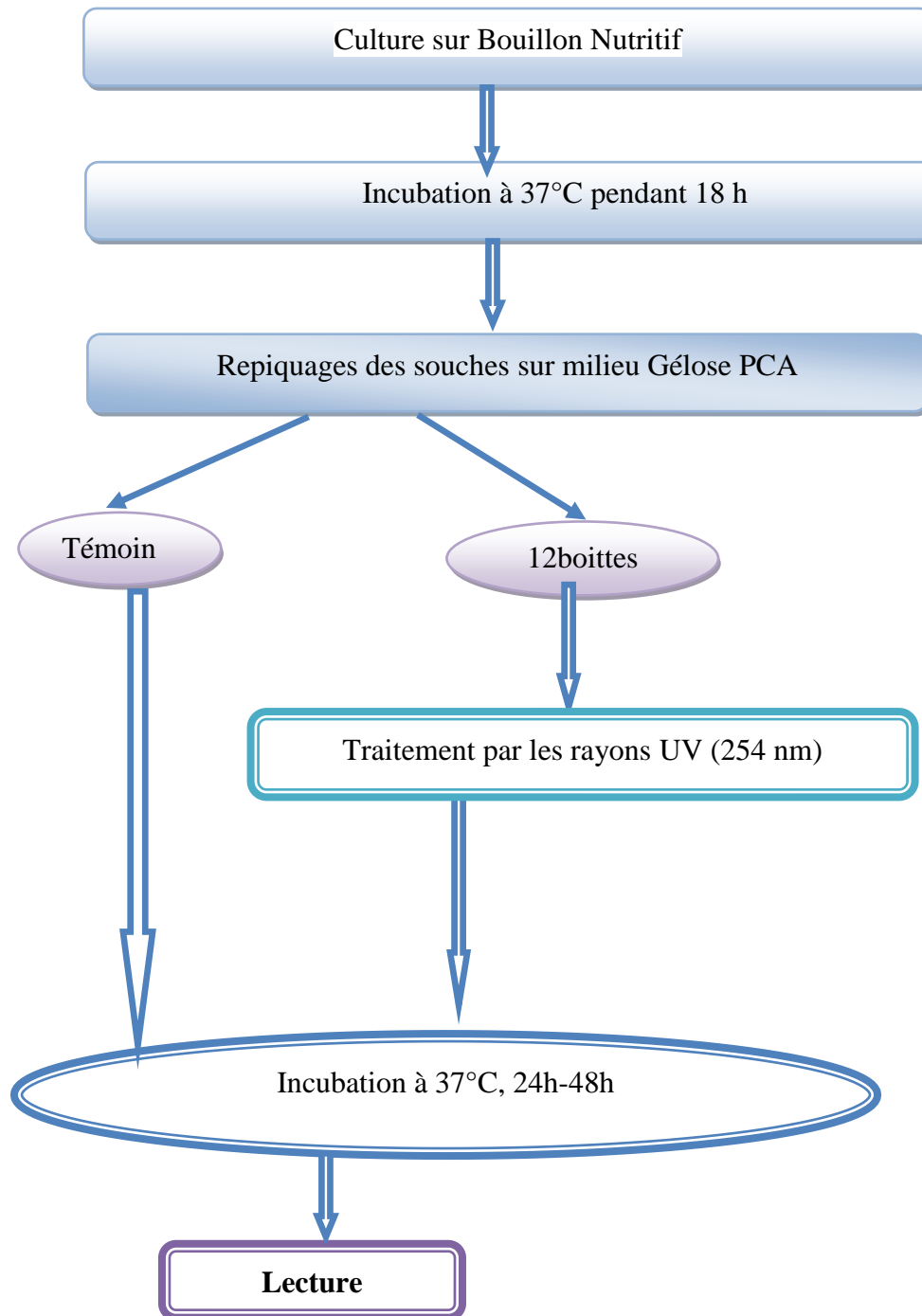
Les souches sont traitées du rayonnement UV aux différentes couples distances (1, 2 et 3 cm) et temps (5, 15, 45 et 60 secondes).

La mortalité cellulaire a été évaluée par la méthode des dilutions/étalements qui permet de quantifier l'aptitude des bactéries à se revivifier sur milieu gélosé.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé comme suit :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{UFC témoin} - \text{UFC teste}}{\text{UFC témoin}}$$

Le témoin correspond aux souches non-traitées et le test à ceux soumis aux UV (figure 18).



**Fig. 18** - Schéma résumant le protocole expérimental pour les souches bactériennes.

### III.5.3- Tests sur les souches fongiques :

Les champignons (*Fusarium graminearum* et *Aspergillus flavus*) sont cultivés à température ambiante sur gélose Sabouraud. Les spores obtenues après 6 jours de culture sur Sabouraud sont récupérées par versement de 9 ml d'eau physiologique stérile contenant 0,1 % de Tween 80, sur la surface de la gélose et raclage doux à l'aide d'un râteau stérile. Les spores sont transférées dans un tube stérile. La densité des spores est évaluée avec un hématimètre (Malassez) et un microscope optique (grossissement x40). La charge est de moyenne  $9.4 \times 10^5$  spores/ml pour *Fusarium graminearum* et de  $8.1 \times 10^6$  spores/ml pour *Aspergillus flavus*.

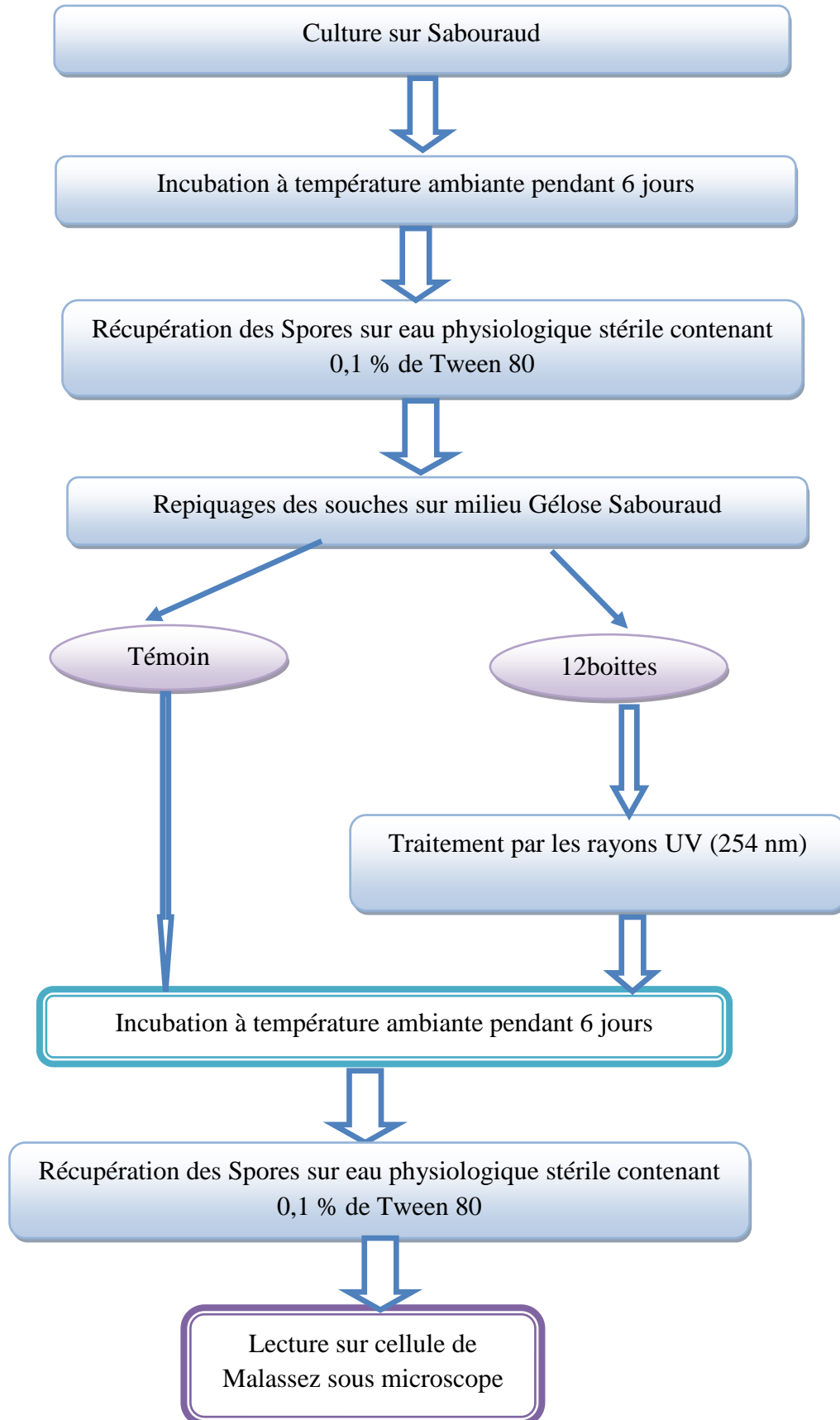
Les souches sont traitées du rayonnement UV aux différents couples distances (1, 2 et 3 cm) et temps (5, 15, 45 et 60 secondes).

La mortalité cellulaire a été évaluée par la même méthode utilisée pour les bactéries.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé comme suit :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{Spores témoin} - \text{Spores teste}}{\text{Spores témoin}}$$

Le témoin correspond aux souches non-traitées et le test à ceux soumis aux UV (figure 19).



**Fig. 19** - Schéma résumant le protocole expérimental pour les souches fongiques.

---

## **Chapitre IV - Résultats et discussion**

## IV- Résultats et discussion :

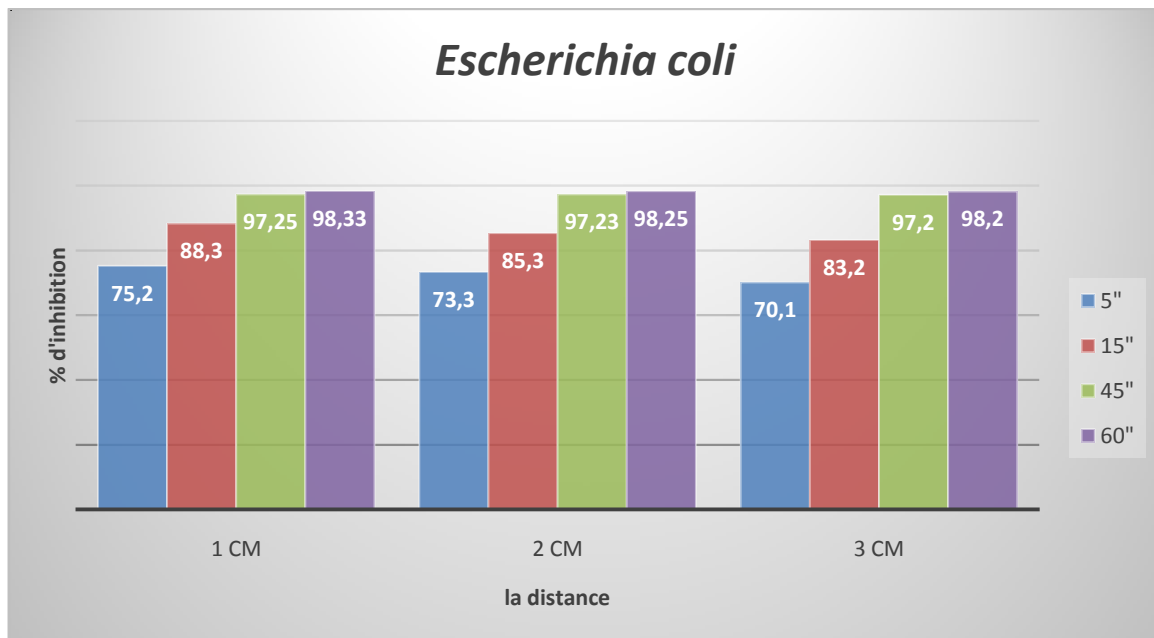
### IV.1- Résultats de l'impact des rayons UV sur les microorganismes:

Les valeurs de pourcentage d'inhibition sont variées avec la variation de la distance (1, 2 et 3 cm) et du temps d'exposition (5, 15, 45 et 60 secondes) des micro-organismes aux rayons UV (254 nm).

#### IV.1.1- Tests sur les souches bactériennes :

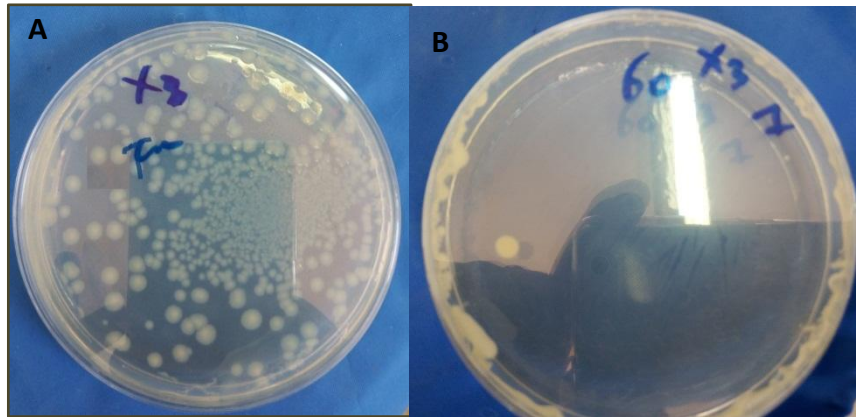
##### IV.1.1.1- L'effet de l'UV sur *Escherichia coli*:

*Escherichia coli* est un germe souvent associé à la qualité hygiénique des eaux de lavage et est retrouvé comme un indicateur de contamination fécale.



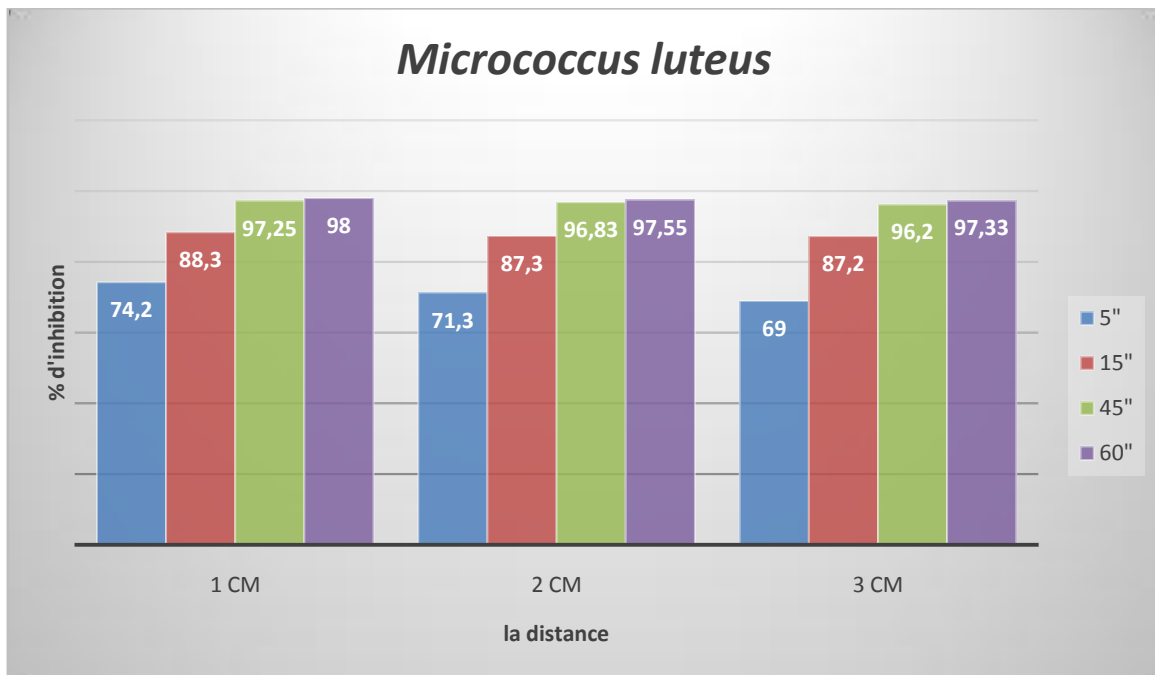
**Fig. 20** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Escherichia coli* après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).

On remarque pour la souche bactérienne *Escherichia coli* que à chaque fois on augmente la durée d'exposition au rayons ultraviolet, l'inhibition est plus en plus augmentée. Et avec un pourcentage d'inhibition important dans les temps plus de 15 secondes.



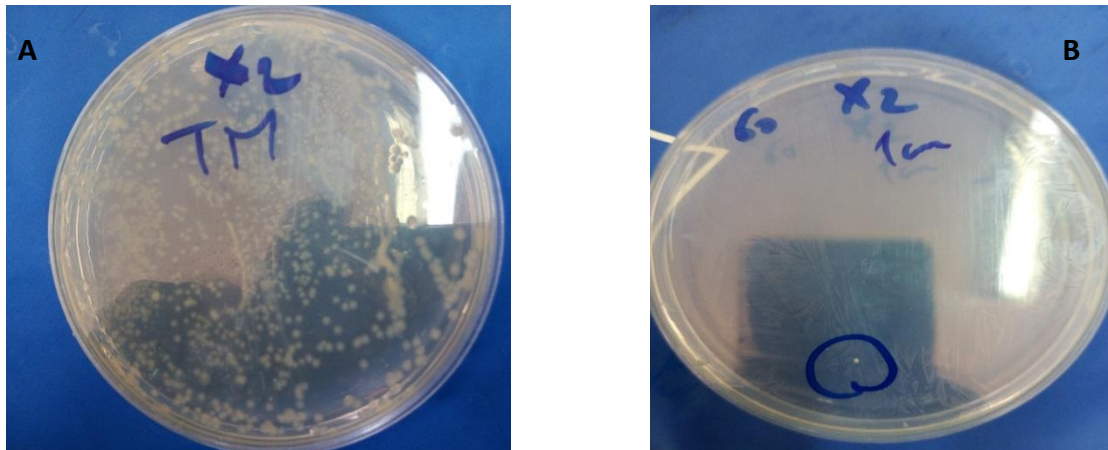
**Fig. 21** - Résultats de la souche *Escherichia coli* A) témoin B) après l'exposition sur les rayons UV (60 Secondes) à distances (1cm).

**IV.1.1.2- L'effet de l'UV sur *Micrococcus luteus*:**



**Fig. 22** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Micrococcus luteus* après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).

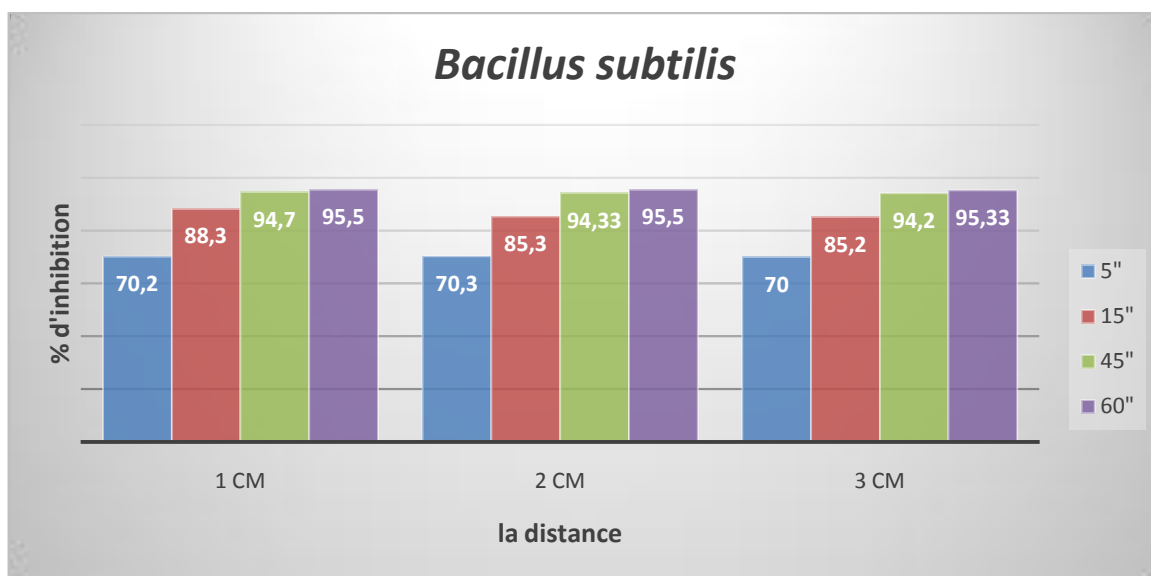
On remarque pour la souche bactérienne *Micrococcus luteus* que a chaque fois on augmente la durée d'exposition aux rayons ultraviolet, l'inhibition est plus en plus importante. Et avec un pourcentage d'inhibition important dans les temps plus de 15 secondes.



**Fig. 23** - Résultats de la souche *Micrococcus luteus* A) témoin B) après l'exposition sur les rayons UV (60 Secondes) à distances (1cm).

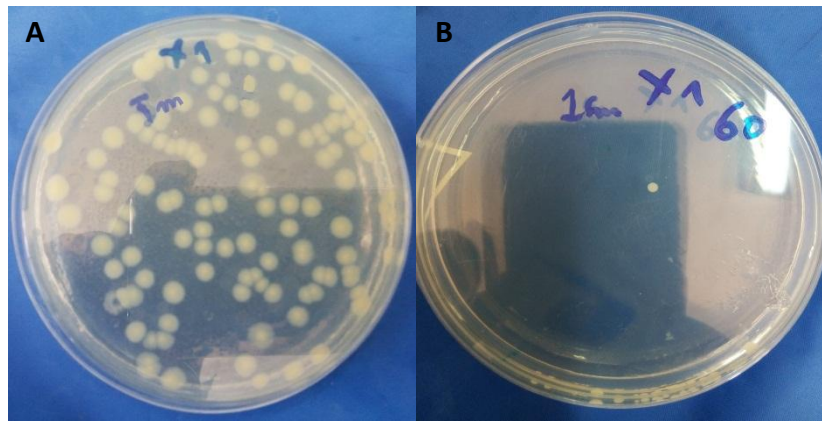
#### IV.1.1.3- L'effet de l'UV sur *Bacillus subtilis*:

*B. subtilis* fait partie des bactéries gram-positives à faible pourcentage en guanine et en cytosine (%GC) dans leur génome. Elle appartient au groupe des Firmicutes (ou *Bacillus*/*Clostridium*) qui comporte trois classes: les Bacilli (comprenant les genres *Bacillus*, *Listeria*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* et *Streptococcus*), les Clostridia et les Mollicutes. C'est un des organismes les plus étudiés, le second chez les procaryotes, juste après *Escherichia coli*.



**Fig. 24** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Bacillus subtilis* après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).

On remarque pour la souche bactérienne *Bacillus subtilis* que a chaque fois on augmente la durée d'exposition au rayons ultraviolet, l'inhibition est plus en plus augmente. Et avec un pourcentage d'inhibition important dans les temps plus de 15 secondes.

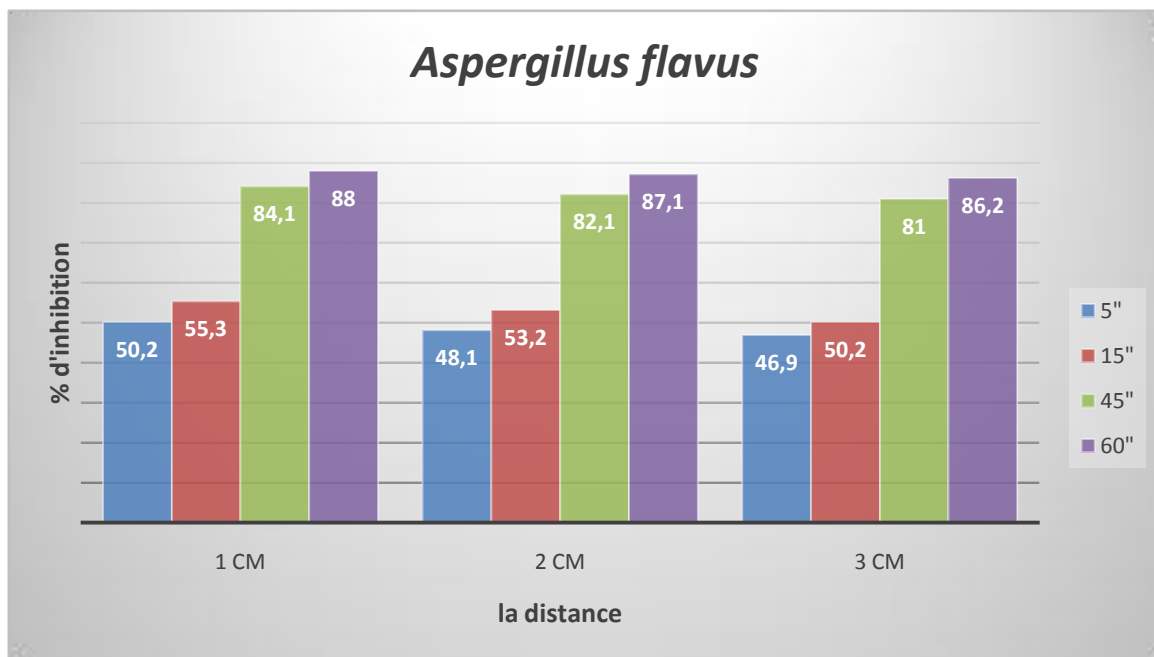


**Fig. 25** - Résultats de la souche *Bacillus subtilis* A) témoin B) après l'exposition sur les rayons UV (60 Secondes) à distances (1cm).

#### IV.1.2- Tests sur les souches fongiques :

##### IV.1.2.1- L'effet de l'UV sur *Aspergillus flavus*:

Le genre *Aspergillus* appartient à la classe des *Euascoomyetes* de l'embranchement *Ascomycota*. Il s'agit d'espèces anamorphes (asexuées) ayant des formes télomorphes connues ou présumées dans la famille des *Trichocomaceae*. Le genre *Aspergillus* est subdivisé en sept sous-genres, qui regroupent chacun plusieurs espèces. On recense environ 184 espèces du genre *Aspergillus*, dont 40 sont une cause documentée d'infection chez l'humain ou l'animal. *Aspergillus* se reproduit en formant des conidies portées par des phialides unisériées ou bisériées. Les colonies d'*Aspergillus* croissent rapidement et peuvent être de couleur blanche, verte, jaune ou noire.

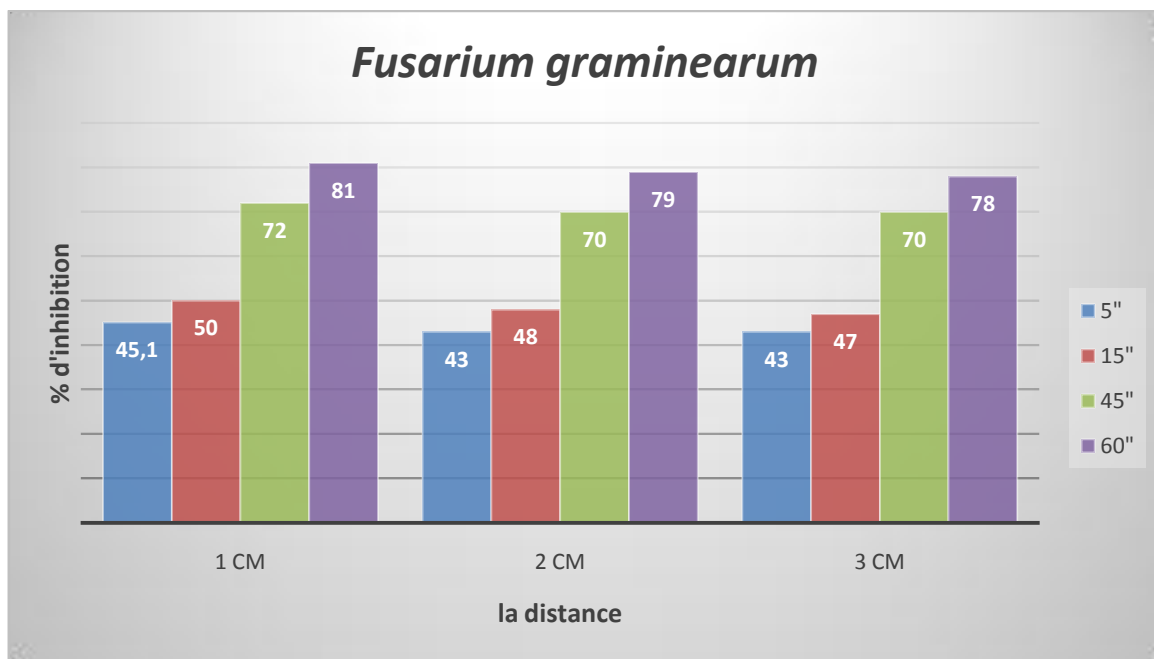


**Fig. 26** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Aspergillus flavus* après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).

On remarque pour la souche fongique *Aspergillus flavus* que a chaque fois on augmente la durée d'exposition aux rayons ultraviolet au delà de 45 secondes, le pourcentage d'inhibition est plus en plus augmenté, avec une résistance importante aux temps de 5 et 15 secondes.

#### IV.1.2.2- L'effet de l'UV sur *Fusarium graminearum*:

Le *F. graminearum* est un saprophyte facultatif qui vit et complète son cycle évolutif autant sur les tissus vivants que sur les débris de végétaux (Xue et al., 2001).



**Fig. 27** -Représentation graphique des résultats en pourcentages d'inhibition de la souche *Fusarium graminearum* après l'exposition sur les rayons UV (5, 15, 45 et 60 Secondes) à différentes distances (1, 2 et 3 cm).

On remarque pour la souche fongique *Fusarium graminearum* que a chaque fois on augmente la durée d'exposition aux rayons ultraviolet au delà de 45 secondes, le pourcentage d'inhibition est plus en plus augmenté, avec une résistance importante aux temps de 5 et 15 secondes.

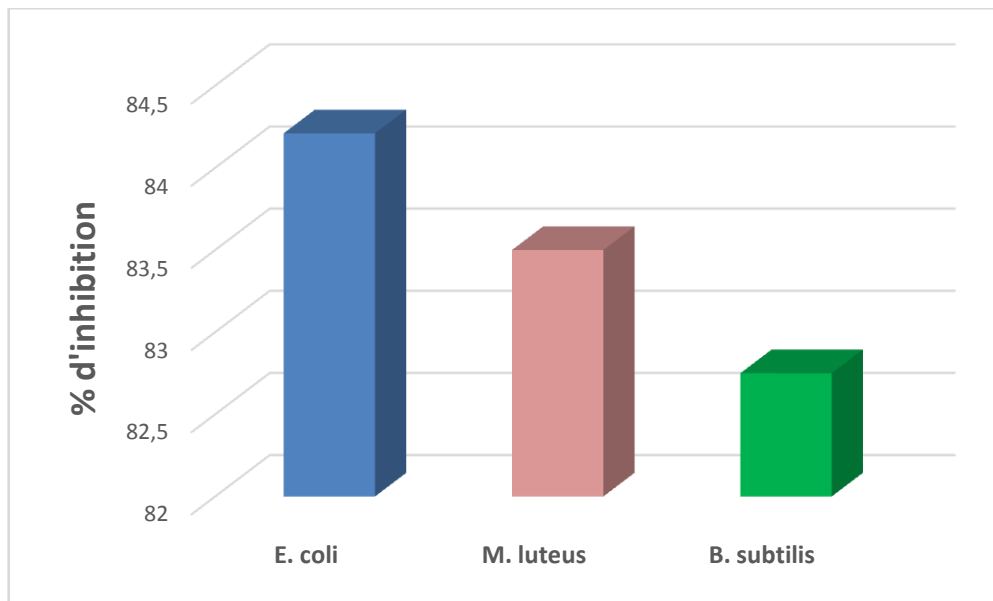
## V.2- Discussion des résultats :

Les résultats en pourcentage d'inhibition % de différentes souches bactériennes présentent des valeurs moyennes d'inhibition (%) égale 84.21% pour *Escherichia coli*, 83.5% pour *Micrococcus luteus* et 82.75% pour *Bacillus subtilis*.

D'après les figures 20, 22 et 24 on remarque que les souches bactériennes testées sont sensible aux UV de 70,1 à 98.33 % d'inhibition pour *Escherichia coli*, de 69% à 98% pour *Micrococcus luteus* et de 70% à 95.5% pour *Bacillus subtilis*. Cette inhibition est croissante avec le temps d'application. Il y a une différence significative entre le différent intervalle de temps. Par contre il n'est pas une différence significative entre les distances d'expositions.

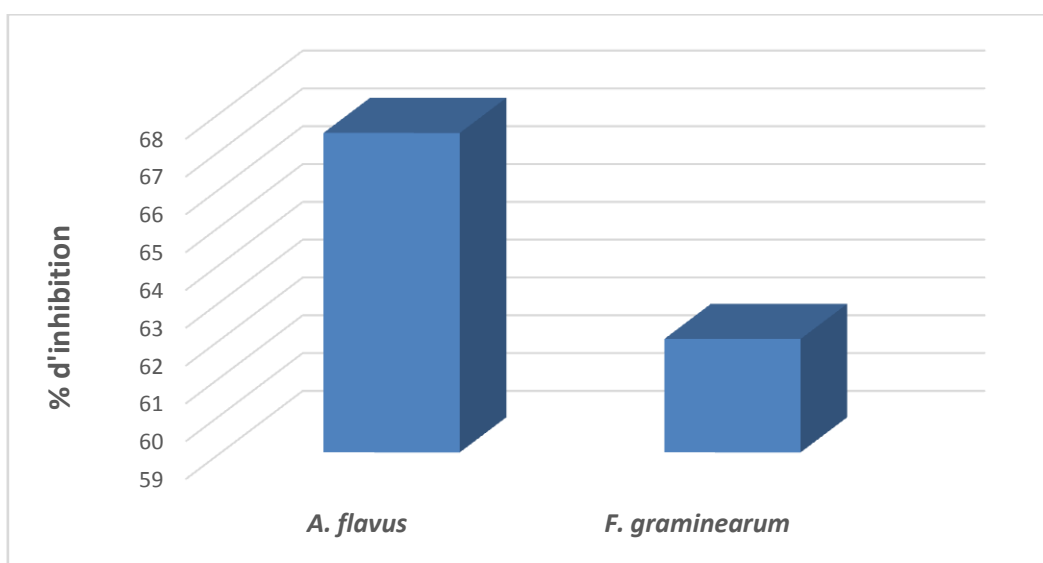
Les photons de la lumière UV ont suffisamment d'énergie pour casser certaines liaisons chimiques. Le type le plus courant des lésions de l'ADN dans les bactéries sous la lumière UV est un dimère pyrimidine, où deux bases adjacentes dans l'ADN de la bactérie deviennent réticulées. La lumière UV peut également créer des cassures double brin de l'ADN. Si elles ne sont pas réparés, dimères pyrimidiques déforment la structure de la molécule d'ADN et empêchent la réplication de l'ADN pendant la division cellulaire, qui peut provoquer la mort cellulaire (**Vincent et al., 2000**).

Le pourcentage d'inhibition est important à partir de 15 secondes. C'est-à-dire plus l'exposition des souches bactériennes sous l'UV est lent plus le pourcentage d'inhibition est augmenté. Et par étude comparative entre les trois souches (figure 28), et d'après la littérature, les rayons UV sont plus efficaces sur les bactéries Gram négatif (**Hassen et al., 2000**).



**Fig. 28** -Représentation graphique de la moyenne du pourcentage d'inhibitions des souches bactériennes

Les résultats du pourcentage d'inhibition % des champignons présentent des valeurs moyennes d'Inhibition (%) égale 67.45% pour *Aspergillus flavus* et 62% pour *Fusarium graminearum*. D'après les figures 25 et 26 on remarque que ce qui ressort dans les premiers temps (5 et 15 secondes), c'est la très forte résistance des spores aux UV, comprise entre 46.9% et 55.3% pour *Aspergillus flavus* et entre 43% et 50% pour *Fusarium graminearum*, comparée à celle des cellules végétatives bactériennes. Cependant, on note une différence significative entre les autres temps d'application des UV (45 et 60 secondes), mais pas d'effet de la distance de traitement.



**Fig. 29** -Représentation graphique de la moyenne du pourcentage d'inhibitions des souches fongiques.

La lumière ultraviolette a des caractéristiques de l'énergie qui le rend efficace pour détruire les micro-organismes tels que les champignons. Lorsqu'ils sont exposés à la lumière UV, le matériau génétique dans les cellules est endommagé comme les liaisons chimiques sont rompues à l'intérieur de la structure de l'ADN. Une exposition prolongée à la lumière UV inflige plus de dégâts au point où l'ADN ne peut pas être réparé et les cellules meurent à la suite. La lumière UV est utilisée pour contrôler les croissances fongiques dans les maisons après des dégâts d'eau et de traiter les éléments infestés de moisissures, tels que les livres et les expositions du musée (**Vincent et al., 2000**).

---

**- Conclusion**

## **Conclusion**

Dans un contexte global de sécurité alimentaire, associé à une recherche de nouveaux procédés d'amélioration de la qualité, de prolongement de la fraîcheur, mais aussi de volonté de diminution des pertes post-récoltes. La désinfection par les rayons UV est une méthode de traitement récent plus utilisé pour traitement de l'eau potable, les aliments ....etc.

Le présent projet a pour but de combiner l'impact des rayons ultraviolets (UV) sur la survie de quelques souches bactériennes et fongiques.

A travers cette étude, nous avons étudié les effets antimicrobiens et antifongiques des ultraviolets (UV) sur des souches habituellement retrouvées dans les cas d'altération des éléments alimentaires et pour les décontaminer. Ont été soumises à quatre temps de traitement par l'UV (5, 15,45 et 60 secondes) et à distances différentes de la lampe (1, 2 et 3 cm).

Les différents résultats confirment la sensibilité des souches bactériennes testée aux rayonnements UVC, et une résistance remarquable pour les souches fongiques aux premiers temps (5 et 15 secondes). Les UVC (254 nm) sont responsables de l'action antimicrobienne.

Le pourcentage d'inhibition % que nous avons déterminé à partir le nombre d'unité formant colonies (UFC/ml) pour les bactéries, et de nombre des sports (sports/ml) pour les champignons. Nous a permis de conclure que l'effet antimicrobien des UV est augment avec l'augmentation de temps de traitement.

On conclut que l'action bactéricide et fongicide des rayons UVC sur les souches testées et la méthode de traitement par UV est très importante.

---

## **- Références bibliographiques**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abrahams, P.J., et Van der, E. A.,** (1976). Host-cell reactivation of ultraviolet-irradiated SV40 DNA in five complementation groups of *xeroderma pigmentosum*. *Mutat Res* 35: 13-22.
- Agar, A.** (2004). The basal layer in human squamous tumor harbors more UVA than UVB fingerprint mutations: A role for UVA in human skin carcinogenesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.101. pp 4954-4959.
- Angulo, F.J., Nargund, V.N., et Chiller, T.C.** (2004).Evidence of an association between use of antimicrobial agents in food animals and antimicrobial resistance among bacteria isolated from humans and the human health consequence of such resistance, *J Vet Med*, 2004, 51, pp 374-379.
- Armstrong, B. K.** (1994). Stratospheric ozone and health. *Inter. Jour. of Epidem*, 23 (5), 873-85.
- Aucamp, P. J., Björn, L. O., et Lucas, R. M.** (2011). Questions and answers about the assessment. *Photochemical & Photobiological Sciences*, pp 10, 301.
- Awwa, P.** (1990). Alternative disinfection technologies for small drinking water systems. Bay, FL. Nov. 1-3. Cité par Liu D..
- Bergan, T.** (1984). Classification of *Escherichia coli*. *Methods Microbiol.*, 14, pp 1-41.
- Berthier, J., et Valla, G.** (2001). Moisissures-Mycotoxines et aliments : du risque a la prévention. Université Claude Bernard Lyon I. *Apria*. P. 110-163
- Bhatnagar, D., Yu, J., et Ehrlich, K. C.** (2002). Toxins of filamentous fungi. *Chemistry and immunology*. 81. 167-206.
- Boiron, P.** (1996).Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris. P. 19-79.
- Bolton, J. R.** (1999). Light Compendium Ultraviolet Principles and Applications, Inter-American Photochemical Society Newsletter, Vol. 22 (2).
- Börner, F.U., Schütz, H., et Wiedemann, P.** (2009).A population-based survey on tanning bed use in Germany. *BMC dermatology*, pp 9- 6.
- Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y., et Veau, P.** (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. 2ièmeEd. Masson. 426p
- Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., et Zucca J.** (1989).Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. P. 216-244.
- Broes, A.** (1993).Les *Escherichia coli* pathogènes du chien et du chat. *Ann. Méd. Vét.*, 137: pp 377-384.
- Cafri, G.**(2009).Investigating the role of appearance-based factors in predictingsunbathing and tanning salon use. *Journal of behavioral medicine*, 32(6), pp532-44.

**Cahagnier, B., Dragaci, S., Frayssinet, C., Frémy, J.M., Hennebert, G.L., Lesage-Chang, J.C.H., Osoff, S.F., Lobe, D.C., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Qualls, R.G., et Johnson, J.D.** (1985). UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology* 49: pp1361–1365.

**Chapeland-Leclerc, F., Papon, N., Noel, T., et Villard, J.** (2005). Moisissures et risques alimentaires (mycotoxines), *Revue Française des Laboratoires*, 373, 61-66.

**D’Mello, J.P.F., et Macdonald, A.M.C.** (1997). Mycotoxins. *Animal Feed Science Technology*, 69, 155-166.

**Davet, P.** (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. P. 52-57.

**Diffey, B.** (2002). Human exposure to solar ultraviolet radiation. *Journal of Cosmetic considerations*, Proceedings, Water Quality Technology Conference, Awwa, Tampa Dermatology, 1, pp. 124-130.

**Dragacci, S., Grosso, F., et Frémy J.M.** (2005), Analyse et détection des mycotoxines, *Technique de l’ingénieur*.

**Dykstra Z; 2002.** effective irradiance by clouds. *Photochemistry and photobiology*, 65(6), pp969-73.

**El ghissassi, F.** (2009). A review of human carcinogens-Part D: radiation. *The Lancet Oncology*, 10(8), pp751-752.

**Fairbrother, J.M.** (1993). Les colibacilloses du porc. *Ann. Méd. Vét.*, 1993, 137, pp 369-375.

**Farmer, J.J., Davis, B.R., Hickman-brenner, F.W., Worter, A., Huntley-carter , G.P., Asbury, M.A., Riddle, C., Wathe-grady, H.G., Elias, C., Fanning, G.R., Steigerwalt, A.G., O’hara, C.M., Morris, G.K., Smith, P.B., et Brenner, D.J.** (1985). Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 21, pp46-76.

**Frazier, W.C.** (1967). *Food microbiology*. Academic presse. London. P. 3-429.

**Gallagher, R.P., et Lee, T.K.**, (2006). Adverse effects of ultraviolet radiation: a brief environmental effects of ozone depletion and its interactions with climate change. *Medical Mycology*, 38, 41–46.

**Ghebru, A.**, (1988). Contribution à l’étude du pouvoir pathogène des Escherichia coli. *Mémoire De Maitrise Des Sciences Vétérinaires En Microbiologie Immunologie*, Nantes, 255-373Pp.

**Goulart, J.M., et Wang, S.Q.** (2010). Knowledge, motivation, and behavior patterns of the general public towards sun protection. *Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 9(4), pp 432-8.

**Grainger, R.G., Basher, R.E., et McKenzie, R.L.** (1993). UV-B Robertson-Berger meter characterization and field calibration. *Applied Optics*, 32(3), pp 343.

**Guarro, J., Gené J., et Stchigel, A.M.** (1999).- Developments in fungal taxonomy. *Clinical and Microbiological Review*, 12 (3), 454–500.

**Guiraud, J. P.** (1998). Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. P. 7-330.

**Gyles, C. L.,**(2007). Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *J Anim Sci* 85:E45-62.

**Halliday, G.M., et Rana, S.,**(2008). Waveband and dose dependency of sunlight-induced immunomodulation and cellular changes. *Photochemistry and photobiology*, 84(1),pp35-46.

**Hanes, D.**(2003). Nontyphoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier J.(Eds.); *International Handbook of Foodborne Pathogens*, Marcel Dekker: New York. pp 137-149.

**Heuvelink, A.E., Zwartkruis-nahuis, J.T., Van den biggelaar, F.L., Van leeuwen, W.J., et De boer, E.** (2002). Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *Int. J. Food Microbiol.* 52, pp67-75.

**Heuvelink, A. E., Van den biggelaar, F.L., Zwartkruis-nahuis, J., Herbes, R.G., Huyben, R. N., Melchers, W. J., Monnens, L.A., et De boer, E.**(1999). Occurrence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on Dutch dairy farms. *J Clin Microbiol* 36, pp3480-3487.

**Hijnen, W.A.M., Beerendonk, E.F., Medema, G.J.**(2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan cysts in water: a review. *Water Res.* 40, pp3-22.

**Hinrikson, H.P., Hurst, S.F., De Aguirre, L., et Morrison, C.J.**(2005), Molecular methods for the identification of *Aspergillus* species, 43(1), 129-137

**Horneck, G.,**(1995). Quantification of the biological effectiveness of environmental UV radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 31(1-2), pp43-49.

**Huang, X., Wang, H., Yin, S., Chen, X., Chen, W., et Yang, H.,**(2009). Sterilization system for air purifier by combining ultraviolet light emitting diodes with TiO<sub>2</sub>. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84, pp1437-1440.

**Jagger, J.**(1967). Introduction to research in ultraviolet photobiology. Prentice-Hall inc. Englewood Cliffs, NJ. 164 p.

**Johnsen, B., et Moan, J.** (1991). The temperature sensitivity of the Robertson-Berger sunburn meter, model 500. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 11(3-4), pp 277-84.

**Kimlin, M. G.**(2008). Geographic location and vitamin D synthesis. *Molecular aspects of medicine*, 29(6), pp 453-61.

**Kripke, M., et Fisher, M.**(1976). Immunologic parameters of ultraviolet carcinogenesis. *Journal of the National Cancer Institute*, 57(1), pp 211-5.

**Langseth, W., Hoie, R., et Gullord, M.** (1995). The influence of cultivars, location and climate on deoxynivalenol contamination in Norwegian oats 1985-1990. *Acta Agriculturae Scandinavica, section B: Soil and Plant Science*, 45, 63-67.

**Leveau, S. B. et Bouix, M.** (1993). Les microorganismes d'intérêt industriel. Lavoisier

- Levinem, M.**(1987).*Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohaemorrhagic, and enteroadherent. *J. Infect. Dis.*, 1987, 155, pp 377-389.
- Linden, K.G., et Mofidi, R.** (1999). Measurement of UV irradiance: tools and review. *Progress in biophysics and molecular biology*, 92(1), pp 119-31.
- Liu, W.K., Tebbs, S.E., Byrne, P.O., et Elliott, T. S. J.**(1993).The effects of electric current on bacteria colonising intravenous catheters. *Journal of infection*, vol. 27, n° 3, p. 261-269.
- Mainil, J.; Wilbaux, M.; Jacquemin, E.; Imberechts, H.;et Van bost, S.** (1999). Les souches pathogènes d'*Escherichia coli* chez les chiens et chats : III) Données bactériologiques et cliniques sur les souches nécrotoxigènes et sur celles positives pour des adhésines. *Ann.Méd. Vét*, 145, p 343-354.
- Marie, F.** (2010). Purification de l'air ambiant par l'action bactéricide de la photocatalyse. *Masson. Paris. P.* 12-426.
- Martínez-lozano, J.A., Tena, F., et Marín, M.J.**(2002).UV index experimental values during the years 2000 and 2001 from the Spanish Broadband UVB radiometric network. *Photochemistry and Photobiology* 76:pp 181–187.
- Masselot, M.**,(2008). <http://www.edu.up.mc.fr>, accédé octobre 2008.
- Matsumura, Y., et Ananthaswamy, H.N.** (2004). Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and applied pharmacology*, 195(3), 298-308.
- Meeran, S.M., Punathil, T., et Katiyar, S.K.**,(2008). IL-12 deficiency exacerbates inflammatory responses in UV-irradiated skin and skin tumors. *The Journal of investigative dermatology*, 128(11), pp 2716-27.
- Meessen, L., Multon, J.L., Richard-Molard, D., et Roquebert, M.F.**(1998). Moisissures des aliments peu hydratés. *Lavoisier Tec&Doc. France*,.
- Mignot, R.T.**(2006).On the appearance of branch cuts for fractional systems as a mathematical limiting process based on physical grounds. In *IFAC Fractional Differentiation and its Applications*, Ankara, Turkey.
- Nigro, F., Ippolito, A., et Lima, G.** (1998).Use of UV-C light to reduce Botrytis storage rot of table grapes », *Postharvest Biology and Technology*, vol. 13, n° 3, p.171-181.
- Norval, M.**(2006). The mechanisms and consequences of ultraviolet-induced immunosuppression. *Progress in biophysics and molecular biology*, 92(1), pp108-18.
- Pearse, A., Gaskell, S.,et Marks, R.**(1987). Epidermal changes in human skin following irradiation with either UVB or UVA. *The Journal of Investigative Dermatology* 88, 83-87.
- Perez, R.**(1997). Comparing satellite remote sensing and ground network measurements for the production of site/time specific irradiance data. *Solar Energy*, 60(2) ,pp89-96.
- Perry, J. J., Staley J. T., et Lory, S.**(2004). *Microbiologie*. Dunod. France.

**Peterson, S.W.** (2006). Multilocus sequence analysis of *Penicillium* and *Europicillium* species, *Rev. Iber.Micol.*, 23(3), 134-8.

**Pitt, J.I., Basílico, J.C., Abarca, M.L., et Lopez, C.** (2000). Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology*.38 (SUPPL 1). 41-46.

**Punt, P. J., Van Biezen, N., Conesa, A., Albers, A., Mangnus, J.,et Van den Hondel, C.** (2002). Filamentous fungi as cell factories for heterologous protein production. *TrendsBiotechnol.* 20(5): 200-206.

**Rabe, J.H.**(2006).Photo aging: mechanisms and repair. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55(1),pp 1-19.

**Rauth, A.M.**(1965).The physical state of viral nucleic acid and the sensitivity of viruses toultraviolet light. *Biophysical Journal* 5, pp 257–273.

**Riba, A.** (2008). Recherche sur les champignons producteurs d'aflatoxines et d'ochratoxines A dans la filière blé en Algérie, thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

**Sabburg, J., Parisi , A.V., et Wong, J.**(2001).Effect of cloud on UVA and exposure to humans. *Photochemistry and photobiology*, 74(3), pp 412-6.

**Sandeceawag, F.** (2005). Désinfection solaire de l'eau : Guide pour l'application de SODIS.

**Seckmeyer, G., Erb, R., et Arbold, A.** (1996).Transmittance of clouds is wavelengthdependent in the UV-range. *Geophysical Research Letters*, 23(20),pp 2753-55.

**Setlow, R.B.**(1974).The wavelengths in sunlight effective in producing skin cancer: a theoretical analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71(9), 3363-6.SANDEC.

**Shaban, A.M., El-taweel, G.E., Ali, G.H.**(1997). UV ability to inactivate micro-organisms combined with factors affecting radiation. *Water. Sci. Technol.* 35, 107-112.

**Shayeb, H.** (2000). Etude expérimentale et modélisation de la désinfection d'eaux naturelles, d'eaux potables et d'eaux usées épurées. Thèse de doctorat Ecole Nationale d'Ingénieurs de Tunis. Tunisie. pp 211.

**Thiel, S., Steiner, K., et Seidlitz, H.K.** (1997). Modification of global very thermally effective irradiance by clouds. *Photochemistry and photobiology*, 65(6),pp 969-73.

**Unluturk, S. K., Arastoopour, H., et Koutchma, T.** (2004).Modeling of UV dose distribution in a thin-film UV reactor for processing of apple cider. *Journal of Food Engineering*, 65, pp 125-136

**Vayssier, J.J., et Veau, P.** (1999).Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle.*Immunology*, 81, 167–206

**Voet, D., et Voet, J.G.**(1998).*Biochimie*. DeBoeck Université, 2ieme Édition, pp 1038-1039.

**Xue, A., Voldeng, H., et Pandeya, R.** (2001). Summary selected *Fusarium* research project sat AAFC. Agriculture and Agri-food Canada.

**York, N.R; et Jacobe, H.T.** (2010). UVA1 phototherapy: a review of mechanism andtherapeutic application. International journal of dermatology, 49(6), pp 623-30.

**Zelenka, A.** (1999).Effective Accuracy of Satellite-Derived Hourly Irradiances Theoretical and Applied Climatology, 62(3-4), pp199-207.