

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche Scientifique
Université M'Hamed Bougara de Boumerdès
Faculté des sciences
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master II

Domaine : Science de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Biologie

Option : Biochimie Appliquée

Thème : Etude *in vitro* de l'activité antifongique des bactéries

Lactiques isolées à partir des produits fermentés traditionnels vis-à-vis des champignons toxigènes isolées à partir des grains de blé en Algérie.

Réalisé par :

M^{elle} BENFELLAH Soumia

M^{elle} TINSALHI Sara

Soutenu le 25/09/2022

Devant le jury composé de :

M^{me} AKMOUSSI Sihem	MCB	UMBB	- Docteur Présidente
M^{me} HALLADJ Fatima	MCB	UMBB	- Docteur Examinatrice
M RIBA Amar	Pr	UMBB	- Professeur Promoteur
M^{elle} BADJI Tiziri		UMBB	- Doctorante co-promotrice

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

*Avant tous nous remercions « **ALLAH** » tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience afin de pouvoir sortir ce fruit de cinq années d'études et de diligence*

*Nous avons à remercier Monsieur **RIBA Amar** notre promoteur de nous avoir encadrer sur cette thématique de recherche.*

*Nous tenons à témoigner à Madame **BADJI Tiziri** notre chère co-promotrice nos plus sincères reconnaissances et remerciements pour tous ses conseils, ses suggestions, ses orientations, sa confiance, sa patience et aussi ses efforts fournis et sa disponibilité tout au long de la Période de réalisation de ce modeste travail malgré sa charge.*

*Nous remercierons **Dr AKMOUSSI Sihem** pour avoir accepté de présider le jury de soutenance et **Dr HALLADJ Fatima** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui nous ont permis d'évoluer dans la réflexion et l'élaboration de ce travail .On cite entre autres Mm **KHOUNI Hayet** et Mme **Mahcess Samia** .*

*Un grand merci à toute l'équipe du laboratoire de biodiversité et recherche de la faculté des sciences **FSI ,UMBB** pour leur gentillesse et serviabilité.*

Finalement, à nos parents pour leur soutien constant et leurs encouragements.

Merci à tous

Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux plus précieux des trésors :

*Mes parents : mon cher **papa** et ma tendre **maman***

*Mes très chères sœurs : **Meriem, Sabrina, Laila***

*Mes beaux frères : **Issam, Islam, Merouane***

*Mes nièces : **Ania et Maïssa***

*Mes neveux : **Ayoub, idriss et Ilyes***

*A mes très chères amies : **Nessrine, Marw et Asma** et*

*A mon binôme Soumia, Merci pour tous les moments qu'on a
Partagé.*

Sara

Dédicace

Je dédie ce travail

*A mes très chers parents, **AHMED** et **NACIRA**, qui ont toujours été là pour moi, pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études ; que dieu les préserve*

A mes grands parents

*A mes sœurs **ASMA** et **MERIEM**, et mon frère*

***HAITHEM**, et toute ma famille pour leurs encouragements.*

*A ma cousine **ZINEB**, et à tous mes amis et*

*en particulier **Sabrina** pour l'encouragement*

et leur soutien.

*

*A mon binôme **SARA** avec laquelle j'ai beaucoup*

de plaisir à travailler

Et enfin, pour moi-même, et pour mes efforts et ma patience tout au long de mes études.

Soumia

Liste d'abréviation :

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Asp : Aspergillus

Ssp : plusieurs espèce non précisées

AFLA : Aflatoxine

ATP : Adénosine-Triphosphate

FB : fumonisine

AZ : Zéaralénone

API : analytique profil index

Aw : Activité d'eau

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

LAB : Bactérie lactique

Cfu/mL : unité Faisant colonie / millimètre

PDA : Pomme de terre Dextrose Agar

YES : Yeast Extract Soya.

GRAS : Generally Recognized As Safe.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	la morphologie des têtes aspergillaires (a) unisériées (b) bisériées.....	04
Figure 2 :	Structure de l'ochratoxine A	07
Figure 3 :	Structure chimique de zéaralénone	08
Figure 4 :	Structure chimique de la patuline	09
Figure 5 :	Les différentes approches de lutte contre les mycotoxines.....	15
Figure 6 :	Arbre phylogénétique des bactéries lactiques.....	20
Figure 7 :	Les mécanismes responsables de la détoxification des mycotoxines par les bactéries lactiques.....	28
Figure 8 :	Aspect macroscopique des souches bactériennes après une culture de 48 h à 30 °C sur milieu M17	38
Figure 9 :	Résultats du test catalase.....	40
Figures 10, 11, 12, 13 et 14	Résultats de Galerie API 50CHU chez les 5 souches bactériennes sélectionnées.....	41, 42, 43, 44, 45
Figure 15 :	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus flavus</i>	47
Figure 16 :	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus parasiticus</i>	48
Figure 17 :	Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus alliaceus</i>	48
Figure 18 :	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i>	49
Figure 19 :	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus parasiticus</i>	49
Figure 20 :	Aspect microscopique d' <i>Aspergillus alliaceus</i>	50
Figure 21 :	Diagramme représentant les taux d'inhibition de la croissance mycélienne des trois champignons toxigènes par les bactéries lactiques à une concentration de 10 ¹⁰ Cfu/MI.....	53

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I :	Les principaux représentants de famille d'aflatoxines	06
Tableau II :	Les principales fumonisines	07
Tableau III :	Aw minimum et maximum de toxinogénèse de certaines espèces fongiques	10
Tableau IV :	La température de croissance de certaines espèces fongiques	10
Tableau V :	La concentration maximale admissible des mycotoxines réglementées dans l'alimentation humaine.....	13
Tableau VI :	Le pourcentage de réduction des mycotoxines dans les aliments par utilisation de différentes méthodes physiques	16
Tableau VII :	principales espèces et sous espèces de <i>Lactobacillus</i> utilisées en industrie laitière	21
Tableau VIII :	La dégradation des mycotoxines par les bactéries lactiques.....	27
Tableau IX :	Les souches fongiques	29
Tableau X :	Les souches bactériennes.....	29
Tableau XI :	Les équations des droites de régression utilisées pour quantifier les concentrations des souches bactériennes dans M17 bouillon	33
Tableau XII :	Résultats de l'examen macroscopique des souches bactériennes après une culture de 48 h à 30 °C sur milieu M17 agar.....	37
Tableau XIII :	Résultats de coloration de Gram des souches bactériennes.....	39
Tableau XIV :	Tableau récapitulatif des résultats d'identification de souches bactériennes par galerie API50 CHL	46
Tableau XV :	Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des trois souches fongiques par les bactéries lactiques à (10^{10} Cfu/mL)	52
Tableau XVI :	Effet antifongique des bactéries lactiques sur la croissance fongiques	52

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Résumé.

Abstract.

المخلص

INTRODUCTION.

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.

I. Mycotoxines et moisissures toxigènes.....	03
I.1. Généralités	03
I.2. Moisissures toxigènes.....	03
I.2.1. Le genre <i>Aspergillus</i>.....	03
I.2.2. Le genre <i>Fusarium</i>.....	04
I.2.3. Le genre <i>Penicillium</i>	05
I.3. Les principales mycotoxines : production et toxicité	05
I.3.1. Les Aflatoxines	05
I.3.2. L'Ochratoxines	07
I.3.3. Les Fumonisines	08
3.4. La zéralénone	19
I.3.5. La patuline	10
I.4. Les facteurs influençant la production des mycotoxines	11
I.4.1. Facteurs intrinsèques	11
I.4.2. Facteurs extrinsèques	11
I.5. Occurrence des champignons toxigènes et les mécotoxines en Algérie	13

I.6. Règlement et législation des mycotoxines.....	15
I.7. Approches de lutte contre les champignons toxigènes et la contamination par les mycotoxines	16
I.8. Stratégie de détoxification des mycotoxines dans les produits contaminés.....	18
I.8.1. Détoxification des aflatoxines.....	18
I.8.2. Détoxification de l'ochratoxines A	19
I.8.3. Détoxification des fumonisines.....	19
I.8.4. Détoxification des zéaralénone	19
I.8.5. Détoxification de la patuline	20
II. Efficacité des bactéries lactiques dans la lutte contre les champignons toxigènes et les mycotoxines	20
II.1. Généralité sur les bactéries lactiques.....	20
II.2. Les principaux genres de bactéries lactiques	22
II.3. L'activité antifongique des bactéries lactiques	25
II.4. Les substances antifongiques	26

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

I. Matériel	29
I.1. Matériel biologiques.....	29
II. Méthodes.....	30
II.1. Revivification des souches bactériennes.....	30
II.2.1. Identification morphologiques.....	30
II.2.1.1. L'aspect macroscopique des souches bactériennes	30
II.2.1.2. L'aspect microscopique des souches bactériennes	30
II.2.2. Identification biochimiques des souches de bactéries lactiques	31
II.2.2.1. Test de catalase.....	31

II.2.2.2. Identification des souches bactériennes par galerie API 50 CHL.....	31
II.3. Repiquage des souches fongiques	32
II.3.1. Identification macroscopiques des souches fongiques.....	32
II.3.2. Identification microscopiques des souches fongiques	33
II.4. Evaluation de l'activité antifongique des bactéries lactiques vis-à-vis des champignons toxino-gènes	33
II.4.1. Préparation des suspensions fongiques	33
II.4.2. Préparation de l'inoculum bactérien	33
II.4.3. Etude de l'activité antifongiques des bactéries lactiques par méthodes de double couche	34
II.5. Analyses statistiques	35

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Identification des souches bactériennes	37
I.1. Résultats de l'identification morphologique	37
I.1.1. L'aspect macroscopique	37
I.1.2. L'aspect microscopique.....	39
I.2. Résultats de l'identification biochimique	40
I.2.1. Test de catalase	40
I.2.2. Identification biochimique des bactéries lactiques par galerie API50CHL	40
I.3. Résultats de l'identification morphologiques des souches fongiques	47
I.3.1. L'aspect macroscopiques.....	47
I.3.1.1. <i>Aspergillus flavus</i>	47
I.3.1.2. <i>Aspergillus parasiticus</i>	47
I.3.1.3. <i>Aspergillus alliaceus</i>	48
I.3.2. L'aspect microscopiques	48

I.3.2.1. <i>Aspergillus flavus</i>	49
I.3.2.2. <i>Aspergillus parasiticus</i>	49
I.3.2.3. <i>Aspergillus alliaceus</i>	50
I.4. Résultats d'activité antifongiques des bactéries lactiques vis-à-vis des champignons toxigènes	50
III. Discussions générale	53
VI : Conclusion et perspective	56

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

ANNEXES.

Résumé

Les moisissures toxigènes ont été reconnues comme l'un des contaminants les plus dangereux dans l'alimentation. Le principal objectif de cette étude est d'évaluer l'effet antifongique des bactéries lactiques isolées de différentes matrices alimentaires vis-à-vis des moisissures potentiellement toxigènes isolées à partir des grains de blé en Algérie. Cinq souches de bactéries lactiques ont été testées pour leur capacité à inhiber ou réduire la croissance de moisissures productrices d'aflatoxines et d'ochratoxine A, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus alliaceus* et une souche de collection *Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T). Les expériences ont été conduites à deux concentrations différentes de bactéries lactiques (10^5 et 10^{10} Cfu/mL) sur une concentration en moisissures de 10^5 spores/mL à une température de 25°C sur une durée de 7 jours. Les résultats de l'effet antifongique ont montré que les souches bactériennes testées exercent un effet inhibiteur variable sur la croissance mycélienne des champignons utilisés. Une meilleure inhibition d'environ 57% a été observée avec la souche Lab-L5/al avec une concentration de 10^{10} Cfu/mL vis-à-vis *l'Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T). Ces résultats suggèrent que ces souches peuvent être exploitées dans des approches biologiques pour lutter contre la prolifération des champignons toxigènes ainsi que la production des mycotoxines dans les produits alimentaires.

Mots clés : Moisissures toxigènes, mycotoxines, bactéries lactiques, effet antifongique.

Abstract

Toxigenic molds are considered as the most common contaminant in food. The main objective of this study is to evaluate the antifungal activity of lactic acid bacteria strains, isolated from different food matrices, against toxigenic molds isolated from Algerian wheat. Five lactic acid bacteria strains were used in this study to investigate their antifungal activity against *Aspergillus flavus*, *Aspergillus alliaceus* and the collection strain *Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T). The experiments were conducted at two different lactic acid bacteria concentrations (10^5 and 10^{10} Cfu/mL), 10^5 spores/mL of mold concentration, 25 °C and 7 days of incubation time. The results showed that the inhibitory effect exhibited by bacterial strains are variable between strains and higher against *Aspergillus parasiticus* CBS 100926T. The higher inhibitory effect was obtained with Lab-L5/al at 10^{10} Cfu/mL of bacterial concentration against *Aspergillus parasiticus* CBS 100926T with 57%. These results suggested that the lactic acid bacteria strains can be used as biocontrol agents in order to limit toxigenic mold proliferation as well as mycotoxins production in food products.

Keywords: Toxigenic molds, mycotoxins, lactic acid bacteria, antifungal activity.

المخلص للبحر من أخطر الملوثات في الأغذية. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم التأثير المضاد للفطريات من مواد غذائية مختلفة ضد الفطريات المسببة للمغزولة من حبوب القمح
تم التعرف على الفطريات المسببة للمغزولة من بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة

الجزائر. تم توثيق خمس سلالات من بكتيريا حمض اللاكتيك من خلال قهرها على تثبيط أو تدمير A وهو الفطريات المبيضة الألفا توكسين والأوكريوتوكسين والمنتجات المشتملة
مربية وسالالة *Aspergillus flavus* و *Aspergillus alliaceus*.

بتتركيزين مختلفين من بكتيريا حمض اللاكتيك. *Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T) المبيضة المبيضة

الكل ، تركيز العفن 105 جراثيم / مل ، ودرجة حرارة 25 درجة مئوية وحضانة لمدة 7 أيام. أظهرت البكتيريا المبيضة لها تأثير مثبت من غير عاي وهو الفطريات

(105 و 1010 كذا) إنتاج التأثير المضاد للفطريات أن السلالات

Cfu / ml بتتركيز Lab-L5 / al 1010 المبيضة المبيضة. لوحظ تثبيط أفضل بدرجة 57 % نظريًا مع سلالاته السلالات في الأساليب المبيضة المبيضة أو الحد

من (CBS 100926T) لطبائفة ضدها تشير هذه النتائج إلى أنه يمكن استغلال

تلك الفطريات المبيضة للمبيضة وكذلك إنتاج السموم الفطرية في المنتجات الغذائية

تقييم السلامة ، السموم الفطرية ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، التأثير المضاد للفطريات والكلامات

Introduction

Introduction

La contamination des denrées alimentaires par les moisissures toxigènes représente un problème majeur sur le plan sanitaire et économique. Les mycotoxines produites par ces champignons microscopiques ont été reconnues comme l'un des contaminants les plus dangereux dans l'alimentation. Actuellement, il existe un intérêt majeur pour l'amélioration de la qualité et de la sécurité alimentaire par l'application des méthodes de préservation, protection et/ou de détoxification.

La mise en place des mesures préventives basées sur le respect de bonnes pratiques d'agriculture, de stockage, de fabrication et de distribution permet de réduire le développement des moisissures et la production des mycotoxines (Gonçalves et al., 2019). Mais, à cause des aléas naturels notamment le climat, l'agriculture ne peut pas maîtriser tous ces facteurs de contamination et garantir l'absence totale des mycotoxines dans les denrées agricoles (Tirado et al., 2010; Chakraborty & Newton, 2011;).

Etant donné que la contamination par ces toxines est inévitable, de nombreuses stratégies ont été développées afin de conserver les aliments. Des procédés chimiques, physiques et biologiques ont été développés pour minimiser la production et diminuer le taux des mycotoxines dans les produits contaminés (Bhatnagar-Mathur et al., 2015; Ismail et al., 2018; Pankaj et al., 2018; Sheikh-Zeinoddin & Khalesi, 2019). Les traitements physiques et chimiques présentent des inconvénients, notamment une élimination inefficace des mycotoxines, le coût élevé et l'altération des propriétés organoleptiques des aliments traités (Chulze, 2010; Terzi et al., 2014). Les limites de ces traitements ont poussé les scientifiques à se tourner vers d'autres méthodes de détoxification.

Depuis des millénaires, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fermentation des aliments dans le but d'améliorer leurs propriétés organoleptiques et nutritionnelles, et de limiter les pertes en produits frais, par l'inhibition des microorganismes pathogènes et/ou d'altération. L'effet antimicrobien de ces bactéries est attribué à plusieurs facteurs pouvant agir en synergie : compétition pour l'espace et nutriments et la production des substances antimicrobiennes, telles que les acides organiques, peroxyde d'hydrogène, diacétyle, dioxyde de carbone, reutérine, dipeptides cycliques et les bactériocines (Schnürer & Magnusson, 2005; Dalié et al., 2010).

L'agent de contrôle impliqué dans le traitement des aliments contaminés doit répondre à plusieurs critères. Il doit avoir une bonne efficacité et tolérable par l'homme et les animaux. De

Introduction

ce fait, les bactéries lactiques représentent une alternative intéressante pour la réduction des niveaux de contamination par les moisissures toxigènes grâce à leur innocuité et leur capacité à produire des substances antifongiques.

Le principal objectif de cette étude est d'évaluer l'effet antifongique des bactéries lactiques isolées de différentes matrices alimentaires vis-à-vis des champignons potentiellement toxigènes isolés à partir des grains de blé en Algérie ainsi qu'une souche de collection d'*Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T).

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

I. Mycotoxines et moisissures toxigènes

I.1 Généralités

Les moisissures toxigènes sont des organismes unicellulaires avec un aspect filamenteux, susceptibles de coloniser de nombreux produits agricoles, notamment les céréales, les légumes et les fruits, en pré-récolte, au cours de la croissance de la plante, et/ou en post récolte. Lorsque certains facteurs écologiques tels que l'activité de l'eau, l'humidité et la température favorable sont réunis. Ces moisissures peuvent produire des métabolites secondaires hautement toxiques appelées « Mycotoxines » (Battilani et al., 2020) . L'origine de mot mycotoxine est issu du terme grec (mykes) (champignons) et du terme latin (toxicum) signifiant (poison). (Agriopoulou et al., 2020).

Les mycotoxines ont été reconnues comme l'un des contaminants les plus dangereux dans l'alimentation et constituent un problème majeur sur le plan sanitaire et économique en raison de leurs effets néfastes sur la santé de l'homme et de l'animal. L'exposition aux mycotoxines peut être directe par la consommation des denrées contaminées ou indirecte par les animaux nourris avec des aliments contaminés. Les mycotoxines sont présentes souvent sous forme d'un mélange dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux. Par conséquent, l'homme et l'animal sont exposés à plus d'un seul type de mycotoxine simultanément (Battilani et al., 2020).

Sur plus de 300 mycotoxines recensées, les aflatoxines, les ochratoxines, patuline et les toxines de *Fusarium* sont les toxines les plus préoccupantes pour la sécurité alimentaire en raison de leur large diffusion et leur forte toxicité (Tantaoui-Elaraki et al., 2018). En effet, ces substances présentent des propriétés cancérigène, mutagène, hépatotoxique, tératogène et immunotoxique (Moss, 1996; Adeyeye, 2016). Les aflatoxines dont l'aflatoxine B1 et l'ochratoxine A ont été classées comme cancérogènes avérées par le Centre Internationale de Recherche contre le Cancer (IARC, 2012).

I.2 Moisissures toxigènes

I.2.1 Le genre *Aspergillus*

Le genre *Aspergillus* appartient à la famille des *Aspergillaceae*, comprenant 339 champignons filamenteux (Schubert et al., 2018). C'est un genre très répandu, présent dans divers habitats naturels et artificiels, tels que l'eau, l'air, le sol et la végétation (Simões et al., 2021). Pour l'identification et la classification d'*Aspergillus*, les détails morphologiques des conidiophores, des cléistothèces des cellules de Hulle ou des sclérotés sont utilisés (fig 1). Il

Synthèse bibliographique

est caractérisé par la production de spores asexuées (Park et al. 2017). De plus coloration des colonies est une caractéristique importante pour distinguer les espèces apparaissant sous les nuances de vert, jaune, marron, blanc, noir ou gris (Pimenta et al., 2020).

Il existe des espèces d'*Aspergillus* productrices de mycotoxines. Ainsi, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* sont connues par leurs capacités de produire des aflatoxines, *A. flavus* produit l'aflatoxine B1 et *A. parasiticus* produit les aflatoxines B1, B2, G1 et G2 (Von Hertwig et al., 2020).

Aspergillus carbonarius est une souche typique qui produit de l'ochratoxine A, une molécule qui possède une activité cancérogène chez l'homme (Li et al., 2021).

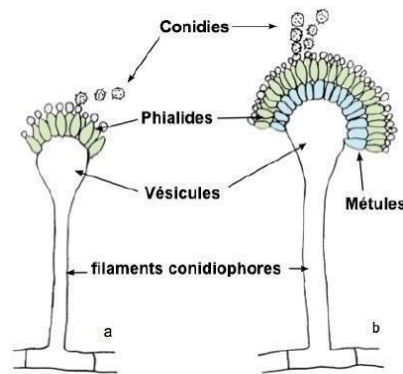


Figure 1 : la morphologie des têtes aspergillaires (a) unisériées (b) bisériées (Elise, 2015).

1.2.2 Le genre *Fusarium*

Le complexe des espèces du *Fusarium* comprend à la fois des souches pathogènes et non pathogènes, que l'on trouve fréquemment dans le sol. La spécificité d'hôte étroite des souches pathogènes a conduit au concept de forme spéciale, chaque forme spéciale regroupe des souches ayant la même gamme d'hôtes (Edel-Hermann et Lecomte, 2019). Contrairement à *Aspergillus* et *Penicillium*, *Fusarium* produit également une gamme variée de métabolites secondaires toxiques, tels que les trichothécènes et les fumonisines qui peuvent contaminer les produits agricoles et les rendant toxiques à l'alimentation humaine ou animale (Ma et al., 2013).

1.2.3 genre *penicillium*

. Les *Penicilliums* sont des champignons diversifiés. Environ 350 espèces sont reconnues au sein de ce genre. Il est subdivisé en quatre sous-genres *Aspergilloïdes*, *Penicillium*,

Synthèse bibliographique

Furcatum et *Biverticillium* (Perrone et Susca, 2017). L'identification des espèces de *Penicillium* est principalement basée sur des critères morphologiques, tels que les caractéristiques macroscopiques et microscopiques (Demjanová et al., 2020). Les colonies sont généralement de couleur verdâtre, parfois blanche, composées de conidiophores denses (Srinivasan et al., 2020). Certaines espèces de *penicillium* sont phytopathogènes ; elles provoquent de graves maladies post-récolte et des pertes économiques importantes. *Penicillium expansum* est le principal phytopathogène des fruits tandis que *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* provoquent respectivement, la moisissure verte et bleue dans les agrumes (Gandía et al., 2021). Les *penicilliums* sont présents dans le monde entier et jouent un rôle important en tant que décomposeurs de matières organiques et provoquent des pourritures destructrices dans l'industrie alimentaire où ils produisent une large gamme de mycotoxines (Perrone et Susca, 2017).

I.3 Les principales mycotoxines : production et toxicité

I.3.1 Les Aflatoxines

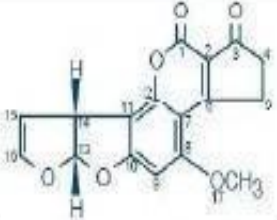
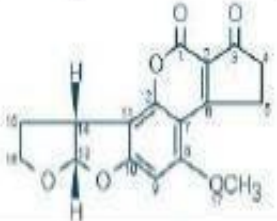
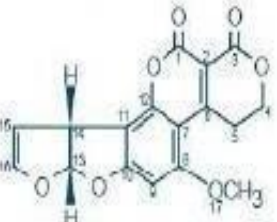
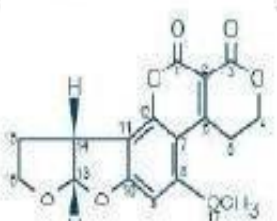
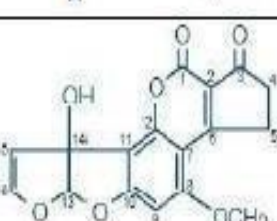
Les aflatoxines sont des dérivés chimiques de la difuranocoumarine avec un groupe bifurane attaché au noyau de la coumarine et un cycle pentose en cas des aflatoxines de type B, tandis que les aflatoxines de type G possèdent un cycle lactone (Mahato et al., 2019). Elles sont produites par trois espèces du genre *Aspergillus*. *A. flavus*, produisent uniquement les aflatoxines du groupe B, mais *A. parasiticus* et *A. nomius* produisent en plus des aflatoxines du groupe G. Elles contaminent différents aliments telles que les épices, les noix, les céréales et le lait (Kumar et al., 2021). Deux autres aflatoxines, l'aflatoxine M1 (AFM1) et l'aflatoxine M2 (AFM2), qui sont des dérivés hydroxylés d'AFB1 et AFB2, respectivement, peuvent être détectées dans la viande d'animaux ayant consommé des aliments contaminés par les aflatoxines ainsi que dans des produits d'origine animale tels que les œufs, le lait et le fromage (Wu et al., 2009; Kumar et al., 2017).

La famille des aflatoxines comporte 13 substances. Les principales aflatoxines sont présentées dans le Tableau I.

Les aflatoxines ont été principalement associées à des maladies cancéreuses et elles peuvent provoquer divers autres maladies aiguës et chroniques, dont la plupart sont graves. La cancérogénicité des aflatoxines a été associée au foie. Des études épidémiologiques et animales ultérieures ont démontré leurs cancérogénicités sur des organes loin de foie notamment, le rein et le pancréas (Benkerroum, 2020).

Synthèse bibliographique

Tableau I : Les principaux représentants de famille d'aflatoxines (Edah et al., 2021)

Dénomination	Formule brute	Structure	Masse moléculaire g/mol
Af.atoxine B1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆		312,3
Af.atoxine B2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆		314,3
Af.atoxine G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇		328,3
Af.atoxine G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇		330,3
Af.atoxine M1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇		328,3

I.3.2 L'ochratoxine A

L'ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine contenant un cycle dihydroisocoumarine lié à la phénylalanine par une liaison amide (Fig 2), elle appartient à la famille des ochratoxines (Taniwaki et pitt, 2019).

L'ochratoxine A ainsi que les ochratoxines B et C sont produites par des moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. Parmi ces toxines l'OTA est considérée comme la plus toxique et la plus importante sur le plan sanitaire et économique. La température optimale de la

Synthèse bibliographique

production d'OTA par *Aspergillus ochraceus* est 28°C. Au contraire, *Penicillium viridicatum* la produit dans une gamme de températures qui varie de 4 à 30°C. Dans les régions froides, l'OTA est produite par des espèces du genre *Penicillium*, alors que dans les régions chaudes, ce sont plutôt les *Aspergillus* qui la synthétisent (Edah et al., 2021). Les ochratoxines contaminent de nombreux aliments tels que les céréales, la bière, le vin, le cacao, le café, les raisins secs et les épices (Muhialdin et al., 2020)

Il a été démontré que l'OTA est néphrotoxique, hépatotoxique, tératogène et immunotoxique pour plusieurs espèces d'animaux et elle provoque des tumeurs rénales et hépatique chez la souris et le rat (Tao et al., 2018). De plus, elle provoque l'ochratoxicose de la volaille, les néphropathies porcines, les néphropathies endémiques humaines et les tumeurs urinaires (Heussner et Bingle., 2015).

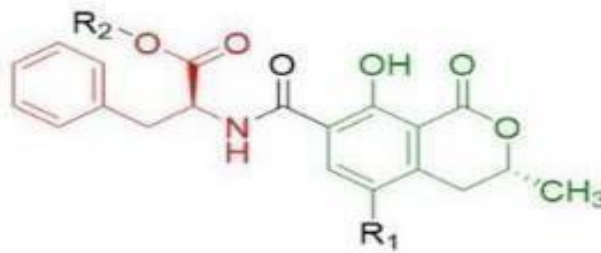


Figure 2 : Structure de l'ochratoxine A (Khalil et al., 2021).

I.3.3 Les Fumonisines

Les fumonisines sont une famille de composés hétérogènes solubles dans l'eau, comprenant des acides aliphatiques à longue chaîne avec des chaînes latérales d'acide carboxylique estérifiées (Taniwaki et pitt, 2019). Elles sont synthétisées par les espèces de *Fusarium*. Plus de 15 homologues de fumonisines sont connus et classés en quatre familles, A, B, C et P. Les fumonisines B (FB1, FB2 et FB3 et FB4) (tableau II) et notamment, la FB1 est considérée comme la plus préoccupante du fait de sa forte toxicité et son occurrence fréquente (Qu et al., 2022).

Tableau II : Les principales fumonisines (Edah et al., 2021)

Synthèse bibliographique

Dénomination	R1	R2	Masse moléculaire
Fumonisine B1	OH	OH	721,838
Fumonisine B2	OH	H	705,839
Fumonisine B3	H	OH	705,839
Fumonisine B4	H	H	689,840

Les Fumonisines provoquent divers effets toxiques sur l'organisme notamment, l'autophagie, l'apoptose, la neurotoxicité, l'immunotoxicité et cancérogénicité. La toxicité des fumonisines est un processus très compliquée. Plusieurs études ont rapporté que les fumonisines exercent leur toxicité en modulant des sphingolipides et induisent un stress oxydatif (Qu et al., 2022).

I.3.4 La zéaralénone

La zéaralénone (ZEN) est une molécule de faible poids moléculaire. Elle appartient aux xénoestrogènes (fig 3) (Rogowska et al., 2019). Les espèces fongiques *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense*, *F. semitectum* et *F. equiseti* sont les principales souches productrices de ZEN infectant les céréales et les aliments dans le monde entier particulièrement, dans les régions à climats tempérés. Malgré que la contamination par le ZEN est faible dans les grains au champ, elle augmente dans les conditions de stockage avec une humidité de plus de 30 à 40 % (Taniwaki et Pitt., 2019).

La zéaralénone peut provoquer le syndrome hyper oestrogénique, une puberté précoce chez les enfants et des troubles de la reproduction qui sont liés à des effets oestrogéniques chez les femmes (Rai et al., 2020).

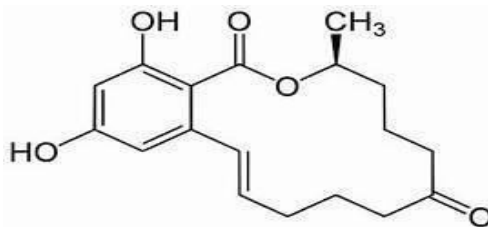


Figure 3 : Structure chimique de zéaralénone (Edah et al., 2021)

I.3.5 La patuline

Synthèse bibliographique

La patuline (Fig 4) est un contaminant chimique toxique isolé pour la première fois en 1940 à partir de *Penicillium patulum* (Perczak et al., 2018) . Elle est produite par plusieurs genres de moisissures notamment, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Byssochlamys*. La patuline est la mycotoxine la plus courante dans les pommes et les produits dérivés comme les jus, le cidre, les compotes et d'autres aliments destinés aux jeunes enfants (Puel et al., 2010)

Elle contamine les céréales, les légumes, les fruits et leurs dérivés. La patuline peut facilement entrer et s'accumuler dans le traitement des produits finaux en raison de ses caractéristiques hydrosolubles et thermostables (Zheng et al., 2021).

La patuline a été associée à des effets neurologiques, gastro-intestinaux et immunologiques indésirables chez les humains et les animaux, tout en causant des lésions hépatiques et rénales (Rodríguez-Bencomo et al., 2020). La consommation à long terme de la patuline augmente le risque de cancer chez les lapins et les souris (Zheng et al., 2021).

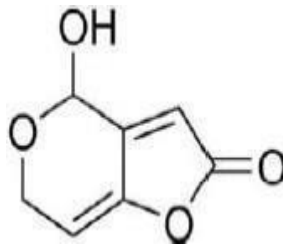


Figure 4 : Structure chimique de la patuline (Edah et al., 2021)

I.4 Les facteurs influençant la production des mycotoxines

I.4.1 Facteurs intrinsèques

La nature et la qualité des mycotoxines diffèrent selon les critères génétiques des espèces fongiques qui les synthétisent et leur milieu écologique. Au sein d'une espèce toxigène, la capacité de production des mycotoxines n'est pas présente chez toutes les souches. Certaines mycotoxines peuvent être produites par de nombreuses espèces appartenant à différents genres. De même, une souche fongique peut synthétiser différentes mycotoxines. La présence d'un champignon toxigène est nécessaire pour la production des mycotoxines. Cependant, l'existence d'une moisissure même toxigène n'implique pas obligatoirement la présence de mycotoxines et l'absence de moisissures n'implique pas obligatoirement l'absence de la mycotoxine (Guezlane-Tebibel et al., 2016).

Synthèse bibliographique

I.4.2 Facteurs extrinsèques

Ces facteurs représentent l'ensemble des paramètres écologiques de croissance et de toxino-génèse.

➤ Activité de l'eau (A_w)

L'activité de l'eau nécessaire à la production des mycotoxines est supérieure à celle de la croissance fongique (Tableau III), par exemple la production d'aflatoxine par *A. flavus* nécessite une valeur d' A_w comprise entre 0,83 et 0,87, alors que la croissance fongique nécessite une valeur plus basse environs 0,50 (lahouar, 2016).

Tableau III : A_w minimum et maximum de toxino-génèse de certaines espèces fongiques (Gauthier, 2016).

Champignons	A_w minimum	A_w maximum
<i>Aspergillus niger</i>	0,90	0,98
<i>Aspergillus japonicus</i>	0,98	0,98
<i>Aspergillus flavus</i>	0,84	0,99
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,83	0,87
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,82	0,98
<i>Penicillium viridicatum</i>	0,83	0,86
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,82	0,86

➤ La température

La température est un facteur très important pour la croissance fongique ; elle est liée à l'activité de l'eau. En général, la température optimale pour la croissance est supérieure à celle de la toxino-génèse (Tableau IV). Par exemple, la croissance optimale de *Penicillium viridicatum* à lieu entre 0 et 30 °C, alors que la synthèse d'OTA n'est possible qu'à une température entre 12 et 24 °C (Gauthier, 2016).

Tableau IV : La température de croissance de certaines espèces fongiques (Gauthier, 2016).

Synthèse bibliographique

Champignons	Tmin	Topt	Tmax
<i>Aspergillus flavus</i>	15	35	44
<i>Aspergillus clavatus</i>	10	25	37
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	8	24	28
<i>Penicillium purpurogenum</i>	12	28	35
<i>Fusarium tricinctum</i>	5	25	35

➤ Le pH

La production des mycotoxines s'accorde avec une large gamme de valeur de pH, mais pas avec des surfaces nettement acides ou nettement alcalines. La plupart des moisissures se développent facilement dans une gamme de pH allant de 4 à 9 avec un optimum de 4,5 à 6,5. Par contre, la production des mycotoxines a lieu pour des pH optimaux de croissance (Pleadina et al., 2019).

➤ Présence d'oxygène

Les moisissures toxigènes sont des organismes aérobies et la production des mycotoxines est plus sensible à la variation de la composition de l'air que la croissance fongique. La réduction de la pression partielle en oxygène a un effet dépresseur sur la toxigénèse (Guezlane- Tebibel et al., 2016).

➤ La nature de substrat

La nature de substrat ainsi que sa composition qualitative et quantitative en substances nutritives peuvent influencer la croissance fongique et la synthèse des mycotoxines. L'acide phytique diminue la synthèse d'aflatoxines par *A. parasiticus* et *A. flavus* par contre, la proline stimule cette production (Lahouar, 2016).

➤ Interactions microbiennes

La présence de plusieurs microorganismes (bactéries ou champignons) dans le même milieu entraîne une diminution de production des mycotoxines. Ainsi, la présence d'*A. Niger* inhibe la production d'Aflatoxine par *A. flavus* (Lahouar, 2016).

I.5 Occurrence des champignons toxigènes et les mycotoxines en Algérie

L'Algérie est un pays méditerranéen situé au nord-ouest de l'Afrique. Il connaît dans certaines régions un climat tempéré avec des températures et des taux d'humidité très élevés,

Synthèse bibliographique

ce qui favorise la croissance de certains champignons toxigènes et la toxinogénèse (Tantaoui-Elaraki et al., 2018).

La céréaliculture (principalement le blé et l'orge) est classée parmi les principales cultures en Algérie, et en raison des conditions climatiques favorables ces cultures sont souvent exposées aux contaminations par les champignons toxigènes, ce qui entraîne une accumulation des mycotoxines dans les produits agricoles.

Le blé est considéré comme un aliment de base chez la population algérienne et la contamination de cette céréale par les mycotoxines a été signalé pour la première fois par Riba et al. (2008), qui ont menés une enquête sur la microflore de blé local afin de détecter les souches fongiques productrices de l'ochratoxine A. Au cours de cette étude, des espèces fongiques appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Mucor* ont été isolées et identifiées dans 85 échantillons de blé collectés dans deux régions climatiques différentes pendant trois phases de production : phase pré-récolte, stockage en silos et après la transformation. Les isolats appartenant au genre *Aspergillus* était les plus fréquents, principalement *Aspergillus favus* et *Aspergillus niger*, dans toutes les phases de production. La détection des espèces ochratoxigènes a été réalisée en utilisant l'analyse par HPLC. Parmi 135 isolats appartenant au genre *Aspergillus* et 23 isolats de *Penicillium* spp étudiés, seuls 51 isolats (32,3%) étaient des producteurs d'OTA. Toutes les souches isolées d'*A. ochraceus* et *A. alliaceus* sont productrices d'OTA à des concentrations allant de 0,23 à 11,50 µg / g, alors que les faibles niveaux de production ont été détectés avec *A. terreus*, *A. niger*, *A. fumigates*, *A. versicolor* et *Penicillium* spp. L'analyse des échantillons collectés a révélé la présence d'OTA dans 12 des 30 échantillons de blé (40%) à des niveaux allant de 0,21 à 41,55 µg / kg et la concentration la plus élevée a été détectée dans les échantillons de farine.

Une enquête ultérieure menée par Zebiri et al. (2019) sur la présence d'OTA dans 81 échantillons de blé et de produits dérivés (semoule et farine) ont montré 76,54% d'échantillons contaminés. Environ 69,23% des échantillons de grains de blé étaient positifs pour l'OTA (0,21 à 27,31 µg / kg). L'OTA a été détecté à la fois dans la semoule et la farine à une concentration allant de 0,16 à 34,75 µg / kg.

Une autre étude menée de 2004 à 2006 sur la présence d'aflatoxines (AF) et d'acide cyclopiazonique (CPA) dans 108 échantillons de blé locaux (Riba et al., 2010) a révélé que les espèces d'*Aspergillus* les plus répandues appartiennent à la section *Flavi*. 150 isolats ont été identifiés, 144 souches comme *A. flavus* et 6 souches comme *A. tamari*. La capacité de production de mycotoxines a été détectée et les résultats ont montré que 72% et 10% des

Synthèse bibliographique

souches d'*A. flavus* produisent des aflatoxines et de l'acide cyclopiazonique, respectivement. 60 isolats sur 150 sont capables de produire de l'aflatoxine B1 à une concentration allant de 21,1 à 234,6 µg / g sur milieu Czapek Yeast Extract Agar. 56,6% des échantillons de blé et des produits dérivés (farine, semoule et son) ont été trouvés contaminés par l'aflatoxine B1 avec des concentrations allant de 0,13 à 37,42 µg / kg.

Plus récemment, Mahdjoubi et al. (2020) ont démontré présence de 15 mycotoxines (Ochratoxine A, Fumonisines B1 et B2, Fusarenon X, Citrinine, Zéaralénone, Sterigmatocystine, Enniatines A, A1, B et B1, Beauvericine, Toxines TH2 et HT2 et déoxynivalénole) dans 120 échantillons de céréales (blé, maïs, riz et à peine) destinées à la consommation humaine achetées dans des marchés algériens. Les résultats ont démontré que 65% des échantillons analysés sont contaminés au moins d'une toxine, tandis que 50% étaient contaminés par plus d'une mycotoxine. La contamination était plus élevée dans 21 échantillons pour les fumonisines (289-48878 µg / kg), 8 échantillons pour la zéaralénone (10,4-579 µg / kg) et un échantillon pour le déoxynivalénole (48-2055 µg / kg).

I.6 Réglementation et législation des mycotoxines

La présence des mycotoxines dans les denrées alimentaires provoque des effets indésirables sur la santé humaine et animale. Aujourd'hui, des lois et des réglementations spécifiques qui imposent des limites ou des tolérances sur les concentrations des mycotoxines dans les aliments ont été adoptées par plusieurs pays (Tableau V) (Mazumder et Sasmal, 2001).

Tableau V : La concentration maximale admissible des mycotoxines réglementées dans l'alimentation humaine (Gauthier, 2016).

Synthèse bibliographique

Toxine	Denrées concernées	CMA (µg/kg)
Aflatoxine B1	Arachide	2 à 8
	Céréales	2 à 5
	Épices	5
	Préparations pour enfants en bas âge	0,1
Aflatoxines B1, B2 G1, G2	Arachide	4 à 15
	Céréales	4 à 10
	Épices	10
Aflatoxine M1	Lait	0,05
	Préparations pour enfants en bas âge	0,025
Ochratoxine A	Céréales brutes	5
	Produits céréaliers et dérivés	3
	Préparations pour enfants en bas âge	0,5
	Raisins secs	10
	Café	5 à 10
	Vins, jus de raisin, moûts	2
Déoxynivalénol	Céréales (sauf blé, maïs et avoine)	1250
	Blé dur, avoine	1750
	Maïs brut	1750
	Farines et semoules de céréales	750
	Pains, pâtisseries, biscuits, snacks	500
	Pâtes sèches	750
	Céréales pour alimentation infantile	200
Ergot	Blé tendre, blé dur et seigle	5 000 000
Zéaralénone	Céréales et maïs	100 à 200
	Farines autres que maïs	75
	Farines et semoules de maïs	200
	Pains, pâtisseries, biscuits, snacks	50
	Aliments infantiles à base de céréales et maïs	20
Fumonisine B1	Maïs	2000
	Farines, semoules et huiles de maïs	1000
Fumonisine B2	Aliments à base de maïs	400
	Alimentation infantile à base de maïs	200
Patuline	Jus de fruits, boissons à base de pomme, compotes	25 à 50
	Jus de fruits, boissons à base de pomme pour enfants en bas âge	10

7.1 Approches de lutte contre les champignons toxigènes et la contamination par les mycotoxines

Plusieurs pratiques industrielles ont montré la capacité de réduire le niveau de contamination par les mycotoxines dans les aliments, comme le montre (fig 5). Diverses stratégies ont été rapportées pour l'élimination des mycotoxines, et peuvent être classées en approche physique, chimique et biologique.

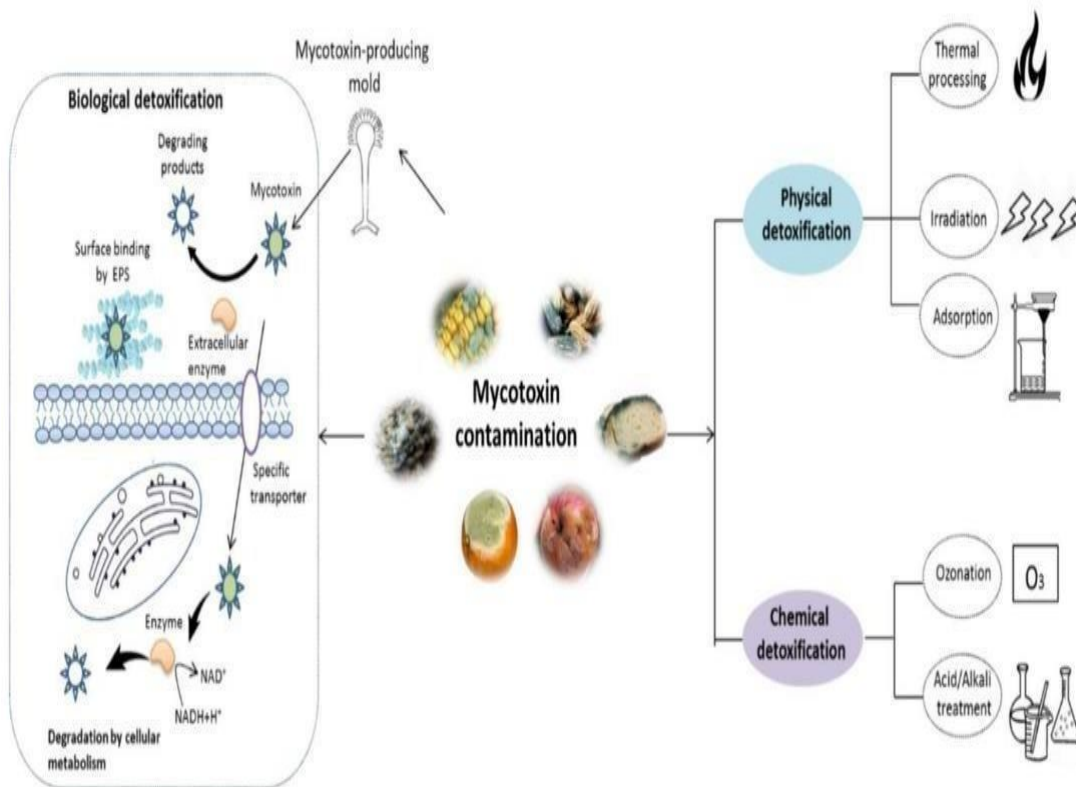


Figure 5 : Les différentes approches de lutte contre les mycotoxines (Liu et al., 2022).

I.7.1 Approche chimique

Les méthodes chimiques ont montré un grand potentiel dans la prévention de la contamination des denrées alimentaires par les moisissures toxigènes et la détoxification des mycotoxines. Ces méthodes de traitement impliquent l'utilisation d'une large gamme de produits chimiques tels que les acides, les bases, des agents réducteurs ou des agents oxydants (Shanakhat et al., 2018). L'ammonisation, un procédé commercial de traitement du maïs contaminé, peut réduire les aflatoxines et l'ochratoxine A. Certains agents réducteurs, tels que le bisulfite de sodium et l'hydroxyde de sodium se sont révélés efficaces pour réduire l'aflatoxine B1 et l'aflatoxine B2 à certains niveaux (Wan et al., 2020).

I.7.2 Approche physique

Les méthodes physiques sont largement utilisées pour réduire la contamination par les mycotoxines (tableau VI). En général, le tri et le lavage simple des grains de céréales ont été largement adoptés dans l'industrie alimentaire avant les processus alimentaires. Le tri peut séparer les matériaux de qualité inférieure et hétérogène des grains sains et de haute qualité en

Synthèse bibliographique

fonction de leurs différences de forme, de densité, de taille et de couleur (Wan et al., 2020). Ainsi, l'efficacité d'autres méthodes tels que le broyage, le chauffage par micro-ondes, la cuisson, la torréfaction, l'irradiation ultraviolette, l'irradiation gamma et la photocatalyse a été définie (Agriopoulou et al., 2016).

Tableau VI : Le pourcentage de réduction des mycotoxines dans les aliments par utilisation de différents méthodes physiques (Shanakhat et al., 2018)

Méthode de désintoxication	produit	mycotoxine	Réduction(%)
Tri	pistache	Aflatoxine	95
Décorticage	Maïs	Aflatoxine	46,6
Fraisage	Blé	ZEN	40-50
Extrusion	Céréale	Aflatoxine	50-80
Irradiation	Maïs	Fumonisines	34-95
	Céréale	Aflatoxine	85
Plasma froid	Fruit de palmier	Aflatoxine	toutes les spores

1.7.3 Approche biologique

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour contrôler le développement des champignons et la production des mycotoxines dans les aliments, mais les recherches ont optées pour la méthode biologique. Les bactéries lactiques sont les premiers micro-organismes capables de dégrader les mycotoxines. Elles sont préférées par rapport aux autres micro-organismes parce qu'elles se développent naturellement dans l'intestin humain et sont très sûrs pour une utilisation dans les aliments (Muhialdin et al., 2020), comme elles ont été largement utilisées dans les processus de fermentation. De plus, certaines bactéries lactiques possèdent des propriétés antifongiques et antibactériennes (Guimarães et al., 2018), et produisent de nombreuses enzymes protéolytiques qui jouent un rôle important dans le processus de détoxification des mycotoxines dans les denrées alimentaire (Pellan et al., 2020).

1.8 Stratégie de détoxification des mycotoxines dans les produits contaminés

1.8.1 Détoxification des aflatoxines

Synthèse bibliographique

La contamination par l'aflatoxine est un grave problème d'approvisionnement alimentaire dans le monde entier. Les méthodes physiques et chimiques se sont révélées efficaces pour détoxifier les mycotoxines. Cependant, la toxicité des produits finaux et les caractéristiques des aliments, telles que la valeur nutritive, les propriétés organoleptiques et la palatabilité restent discutables. Par conséquent, les méthodes de détoxification biologique sont devenues l'alternative la plus prometteuse pour la décontamination des aflatoxines dans les aliments pour animaux et les produits alimentaires (Kumar et al., 2021).

La désintoxication biologique par des micro-organismes peut être menée dans des conditions douces qui minimisent la perte de valeur nutritive des aliments. L'adsorption par les surfaces cellulaires microbiennes et la dégradation enzymatique, sont impliquées dans la détoxification biologique des aflatoxines. L'adsorption et la liaison simple ne détruisent pas nécessairement la structure de l'aflatoxine, mais réduisent l'absorption gastro-intestinale des aflatoxines en modifiant leur structure, réduisant ainsi les risques pour la santé. Cependant, l'adsorption et la liaison sont des processus réversibles qui peuvent libérer des aflatoxines dans certaines conditions, et la réversibilité du processus dépend des propriétés de l'adsorbant (Kumar et al., 2021).

1.8.2 Détoxification de l'ochratoxine A

La dégradation d'OTA peut être portée par les parois cellulaires de la levure. Il a été démontré que la chitine, l' γ -glucane et leurs hydrolysats pouvaient éliminer 64 à 74 % de l'OTA. Un processus similaire se produit lors de la fermentation malolactique, qui implique des bactéries lactiques (LAB). Les LAB à diminuer la concentration d'OTA entre 10 et 43%. L'élimination de l'OTA par les bactéries lactiques se ferait sous forme d'une adsorption sur des composants cellulaires tels que les polysaccharides et les peptidoglycanes (Ortiz-Villeda et al., 2021)

1.8.3 Détoxification des fumonisines

Certaines stratégies de détoxification des fumonisines ont été étudiées pour bien contrôler et éliminer leurs effets indésirables dans les industries agro-alimentaires. La plupart des méthodes physiques de réduction de FB1 telles que le broyage à sec et humide ou l'utilisation d'adsorbants nécessitent généralement non seulement des pressions et des températures élevées, mais affectent également les qualités des denrées alimentaires et des aliments pour animaux. En outre, les méthodes chimiques telles que l'ammonisation et la nixtamalisation sont également peu appliquées en raison de leur toxicité potentielle (Li et al., 2021). De plus,

Synthèse bibliographique

les bactéries lactiques ont été appliquées comme agent de lutte biologique sûr pour minimiser la croissance et la production de *F. verticillioides* et de fumonisines. Certaines études in vitro ont montré le potentiel inhibiteur de *Saccharomyces cerevisiae* et de *Lactobacillus rhamnosus* contre la croissance de *F. verticillioides* (Achar et Sreenivasa, 2021).

1.8.4 Détoxification de la zéaralénone

Actuellement, les principales méthodes utilisées pour éliminer la ZEN et ses dérivés peuvent être classées en physiques, chimiques et biologiques. Les méthodes physiques, qui utilisent un chauffage intensif, une irradiation et une adsorption pour réduire le ZEN, ont tendance à détruire les nutriments et sont incapables d'éliminer complètement le ZEN. Les méthodes chimiques, y compris l'hydrolyse alcaline, l'ozonation et l'ammonisation sont limitées aux applications dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux en raison de leur risque élevé et de leur faible efficacité. Les souches microbiennes ou leurs enzymes pertinentes sont toujours utilisées comme méthodes biologiques pour dégrader le ZEN en un composé non toxique, ce qui le rend plus sûr et plus efficace. À l'heure actuelle, trois types d'enzymes ont été proposés pour dégrader le ZEN (Rai et al., 2020)

La laccase, principalement utilisée pour éliminer l'aflatoxine, est capable de dégrader le ZEN uniquement en présence d'eugénate de méthyle, ce qui explique sa large application industrielle. La lactonase est principalement étudiée pour sa capacité élevée de dégrader la ZEN et son mécanisme de détoxification bien connu, qui a été exprimé dans *Escherichia coli*, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Lactobacillus reuteri* (Zhang et al., 2020).

Il a été rapporté que les bactéries lactiques produisent de l'acide lactique en tant que produit de la fermentation des glucides, se lient de manière extracellulaire à la zéaralénone. Ce type de liaison non covalente faible peut être associée à des poches hydrophobes sur la surface bactérienne.(McCormick, 2013).

1.8.5 Détoxification de la patuline

Les substances actives d'origine végétale telles que les flavanones et les glucosinolates peuvent réduire l'accumulation de patuline en inhibant la croissance des champignons producteurs de patuline. De plus, une série de méthodes chimiques est utilisée pour décontaminer la patuline en réagissant directement avec elle, la méthode la plus efficace pour son élimination. Cependant, l'abus de substances chimiques peut sérieusement altérer la

Synthèse bibliographique

qualité du produit et en faire perdre sa valeur nutritive car il peut produire des produits toxiques inconnus.

II. Efficacité des bactéries lactiques dans la lutte contre les champignons toxigènes et les mycotoxines

II.1 Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été décrites pour la première fois par Orla Jensen au début du XXe siècle. Ce sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimioorganotrophes. Elles sont de Gram positif, catalase négative, immobiles, non sporulées, non pathogènes en forme de Cocci ou bâtonnets (Corrieu et Luquet, 2008).

Les bactéries lactiques sont caractérisées par la production d'acide lactique en tant que produit final catabolique majeur à partir du glucose (Hervé et al., 2008). Le contenu en GC de leur ADN varie de 33 à 54%, ce qui les classe dans les bactéries à faible pourcentage en GC (Matamoros, 2008). Elles ont un métabolisme hétérofermentaire et homofermentaire. Elles sont dites homofermentaires lorsque l'acide lactique est le seul produit formé durant la fermentation, par contre elles sont hétérofermentaires lorsque d'autres composés comme l'éthanol et le CO₂ sont produits en même temps (Hervé et al., 2008). Elles sont appelées micro-aérophiles, car elles tolèrent une faible quantité d'oxygène. Elles sont isolées à partir des légumes, les surfaces végétales aériennes, les choux marins, les viandes et les produits laitiers (Corrieu et Luquet, 2008).

Les bactéries lactiques sont les bactéries les plus intéressantes par leur capacité de biopréservation. Cette capacité est due à la production de plusieurs composés antimicrobiens tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyl et les bactériocines (Milind et al., 2016). Les bactéries lactiques sont le groupe unique de bactéries qui sont généralement reconnues comme GRAS et qui ont été largement utilisées pour améliorer à la fois la saveur et le goût des aliments (Khidar et El banna, 2017).

Les bactéries lactiques sont généralement classées selon différents critères, telles que la croissance à des différentes températures et concentrations de sel, la fermentation des glucides (Kaduman et al., 2017), les caractéristiques morphologiques telle que la forme de bâtonnets et de coques et le mode de fermentation homo ou hétérofermentaire du glucose (Milind et al., 2016).

Synthèse bibliographique

Plusieurs techniques génotypiques peuvent être utilisées pour l'identification taxonomique, des bactéries lactiques telles que : l'analyse des séquences répétées, l'analyse du polymorphisme de fragment de restriction, l'électrophorèse en champ pulsé (PEGE), et l'hybridation d'ADN (Corrieu et Luquet., 2008). Ces méthodes permettent de différencier et de classer les bactéries lactiques en treize genres (Fig 6) : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* (Karaduman et al., 2017).

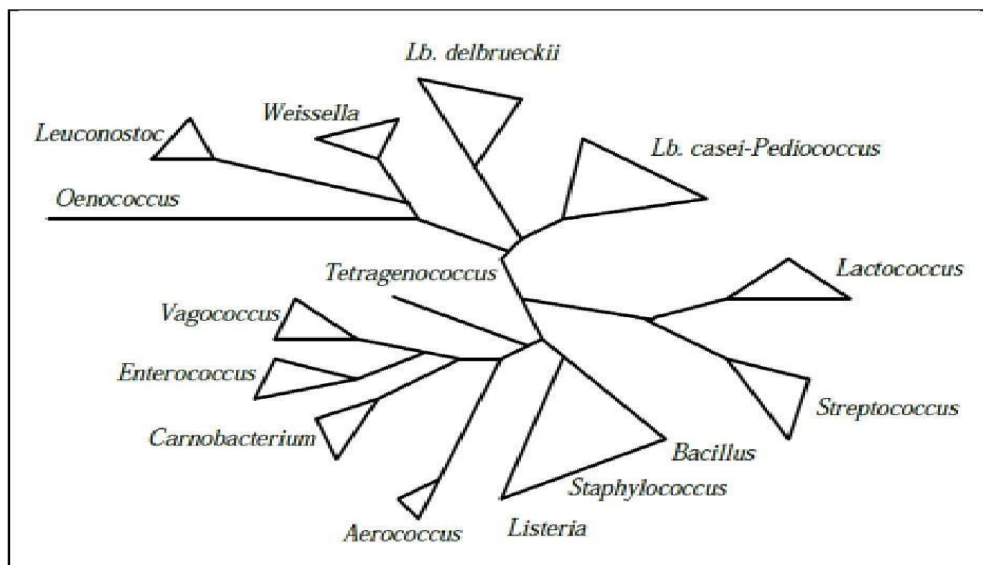


Figure 6 : Arbre phylogénétique des bactéries lactiques (Axelsson, 2004).

II.2 Les principaux genres de bactéries lactiques

II.2.1 *Lactobacillus*

Les *Lactobacillus* sont parmi les genres les plus utilisés en agroalimentaire et la nutrition humaine. C'est un genre très diversifié avec 145 espèces reconnues (Benmouna, 2012).

Elles sont anaérobies facultatives peuvent se développer de 15 °C à 45 °C. Certaines souches sont thermophiles et d'autres mésophiles, leur métabolisme est homo ou hétérofermentaire (Tableau VII). Ces habitats possibles sont le tractus gastro-intestinal (*Lb. gasseri*, *Lb. salivarius*), les plantes (*Lb. plantarum*, *Lb. bevrus*), la viande (*Lb. sakei*, *Lb. pentosaceus*) et les produits laitiers (*Lb. helveticus*, *Lb. bulgaricus*) (Hervé et al., 2008). Elles

Synthèse bibliographique

sont utilisées depuis longtemps dans la fabrication des produits laitiers (Goldstein et al., 2015).

Tableau VII : principales espèces et sous espèces de *Lactobacillus* utilisées en industrie laitière.

Espèce	Type de fermentation	Croissance à 15°C / 45°C	
<i>Lb. helveticus</i>	Homofermentaire	-	+
<i>Lb. Delbruekii subsp .bulgaricus</i>	Homofermentaire	-	+
<i>Lb. delebruekii subsp. lactic</i>	Homofermentaire	-	+
<i>Lb.acudophilus</i>	Homofermentaire	-	+
<i>Lb.casei</i>	Homofermentaire	+	-
<i>Lb.plantarum</i>	Homofermentaire	+	-
<i>Lb. kefir</i>	Hétérofermentaire	+	-
<i>Lb. brevis</i>	Hétérofermentaire	+	-
<i>Lb. ferlentum</i>	Hétérofermentaire	-	+

II.2.2 *Lactococcus*

Lactococcus est un genre de bactéries lactiques, qui est largement utilisé dans le monde entier pour la production d'une variété de produits laitiers fermentés (Ainsunorth et al., 2014). Son rôle principal au cours de la fermentation est l'acidification principalement, par la production d'acide lactique (Khelessa et al., 2020).

Lactococcus comprend des bactéries à Gram positif, non mobiles et non sporulées, anaérobies facultatives, hétérotrophes, mesurant habituellement entre 0,5 et 1,5 µm (Khelissa et al., 2020). Elles se présentent sous forme de coques et forment des chaînes de longueur variable, leur température de croissance optimale est proche de 30 °C, consomment le lactose pour produire de l'acide lactique comme principal produit final de fermentation (Guetouache, 2021).

Synthèse bibliographique

Elles se trouvent dans de nombreux environnements, sont facilement isolées à partir du matériel végétal en fermentation, de fruits et légumes tels que les germes de haricot ou le maïs (Ainsunorth et al., 2014).

Le genre *Lactococcus* comporte plusieurs espèces tels que *Lactococcus lactis* ssp .*lactis*, *Lactococcus lactis* ssp .*cremorie* et *Lactococcus lactis* ssp .*lactis biovar diacetylactic* qui sont utilisées dans la fabrication des fromages (Corrieu et Luquet, 2008).

II.2.3 *Streptococcus*

Les *streptococcus* sont des bactéries à Gram positif, homofermentaires, microaérophiles, leur température optimal de croissance est de 42 °C (Corrieu et Luquet.,2008). Elles comprennent des organismes commensaux humains et des espèces spécifiques qui ont des caractéristiques probiotiques (Wang et al., 2017). Certaines espèces du genre *streptococcus* peuvent être considérées comme pathogènes pour l'homme et les animaux. Cependant elles peuvent être bénéfiques pour l'hôte en produisant des molécules inhibitrices des espèces pathogènes (Abranches et al., 2018).

Ce genre est utilisé dans la fabrication de nombreux fromages à pâtes pressées cuites et certains laits fermentés. On trouve plusieurs espèces du *Streptococcus* telles que les groupes *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus vestibularis* et *Streptococcus thermophilus* (Corrieu et Luquet.,2008).

II.2.4 *Enterococcus*

Les *Enterococcus* sont des bactéries à Gram positif, non sporulées qui se présentent sous forme de coques isolées ou arrangées en paires ou en chaînettes et dont le génome contient un faible pourcentage en GC (37,5 à 44 %) (Hebert, 2008). Ce sont des bactéries anaérobies facultatives, chimioorganotrophes avec un métabolisme homofermentaire (Garcia et Solache et Rice, 2019).

Ce genre peut être isolé de la flore microbienne du tractus gastro-intestinal des animaux à sauf chaud, du sol, d'eau de surface et l'eau de mer, des plantes ou des aliments fermentés. Les *Enterococcus* sont utilisées dans les aliments soit comme agents antimicrobiens, soit pour leurs propriétés organoleptiques et parfois comme probiotiques (). On compte 58 espèces qui sont considéré comme des organismes commensaux du tractus gastro-intestinal humain et elles peuvent également être pathogènes en provoquant des infections des voies urinaires

Synthèse bibliographique

(Hebert, 2008). Ce genre bactérien produit une grande diversité de bactériocine et il est considéré comme agent de control biologique dans les aliments (Hervi et al.,2008).

II.2.5 *Leuconostoc*

Les *Leuconostoc* sont des bactéries à Gram positif, anaérobies facultatives, non sporulées, à oxydase et catalase négative, forment des chaines de cocci mesurant en moyenne de 0,5 à 1,5 µmet sont caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire (Bourel et al., 2001).

Ce genre peut être isolé à partir du lait, des levains, de la crème et du beurre et des produits fermentés. Il est utilisé dans l'industrie laitière pour sa capacité à produire du CO₂ et des composés d'arômes (diacétyl) grâce au métabolisme du citrate et du lactose (Hervi et al.,2008).

II.3 L'activité antifongique des bactéries lactiques

Depuis des millénaires, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fermentation des aliments dans le but d'améliorer leurs propriétés organoleptiques et nutritionnelles, et de limiter les pertes en produits frais, par l'inhibition des microorganismes pathogènes et/ou d'altération. L'effet antimicrobien de ces bactéries est attribué à plusieurs facteurs pouvant agir en synergie : compétition pour l'espace et nutriments et la production des substances antimicrobiennes, telles que les acides organiques, peroxyde d'hydrogène, diacétyl, dioxyde du carbone, reuterine, dipeptides cycliques et les bactériocines (Schnürer & Magnussonl, 2005; Dalié et al., 2010). De ce fait, plusieurs études ont montré que les bactéries lactiques pouvaient ralentir ou inhiber la croissance d'une large gamme de champignons toxinogènes ainsi que la production des mycotoxines.

La première étude évaluant l'activité antifongique des bactéries lactiques a été menée par Guillot (1958), dans laquelle il a identifié un composant actif contre *Candida albicans* synthétisé par la souche *Lactobacillus acidophilus*.

Les bactéries lactiques à forte activité antifongique appartiennent fréquemment au genre *Lactobacillus*. Parmi ces derniers, des souches de *Lactobacillus plantarum* ont montrées leur efficacité pour réduire la croissance de plusieurs moisissures toxinogènes telles que *Fusarium culmorum*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium expansum*, *Penicillium chrysogenum* et *Cladosporium* spp (Valerio et al.,2016; Luz et al., 2017; Nayyeri et al., 2017; Russo et al., 2017; Horackova et al., 2018). D'autres espèces de bactéries lactiques appartenant aux genres *Lactococcus*, *Leuconostoc*,

Synthèse bibliographique

Pediococcus, *Weissella*, *Enterococcus* et *Bifidobacterium* possèdent également des activités antifongiques.

Une étude coréenne rapporte que la souche *Leuconostoc mesenteroides* TA, isolée du Kimchi, a montré une large activité antimicrobienne contre des bactéries à Gram positif et Gram négatif ainsi que contre certaines moisissures toxigènes appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*. L'interaction synergique entre les composants antimicrobiens produits (l'acide acétique, l'acide lactique, l'acide phenyllactic et certains composés hydrophobes non identifiés) contribue à l'activité inhibitrice globale de cette souche bactérienne (Lee & Chang, 2016). Un composant bioactif appartenant à la famille des phénazines, purifié à partir d'une culture de *Lactococcus* BSN307, a montré une activité antifongique contre *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* et *Fusarium oxysporum*. Ma et al., (2019) ont montré que dix souches appartenant à trois espèces, *Lactobacillus sucicola*, *Pediococcus acidilactici* et *Weissella paramesenteroides*, isolées de différents biotopes (agrumes, feuilles d'agrumes, le sol des vergers d'agrumes et les arachides) inhibent la croissance de *Penicillium digitatum* par la sécrétion d'un composant antifongique de nature protéique. La souche *Enterococcus faecium*, isolée du blé tendre, a été considérée comme un agent de lutte biologique contre les moisissures pathogènes dans les céréales avec un taux d'inhibition de 31,18% contre *Aspergillus flavus*, 42,26% contre *Aspergillus parasiticus* et 55,53% contre *Fusarium graminearum* (Djaaboub et al., 2018). Ghazvini et al.(2016) ont montré que les souches *Lactobacillus fermentum* et *Bifidobacterium bifidum* ont réduit considérablement le taux de croissance d'*Aspergillus parasiticus* et la production des aflatoxines B1, G1, B2 et G2 de plus de 99%.

II.4 Les substances antifongiques

II.4.1 Les acides organiques

Les principaux métabolites impliqués dans l'activité antifongique des bactéries lactiques sont les acides organiques. L'acide lactique est le principal produit majoritaire issu de la fermentation homofermentaire. De plus, d'autres acides organiques tels que l'acide acétique et l'acide formique sont également produits en quantités plus significative par les souches hétérofermentaires au cours du métabolisme primaire (Delavenne, 2019).

L'acide lactique est une importante substance antifongique, car il abaisse le pH, ce qui inhibe la croissance de divers micro-organismes ou même tue les bactéries sensibles. En hétéro fermentation, les bactéries lactiques peuvent produire de l'acide acétique et des traces d'acide propionique, qui ont tous les deux une teneur plus élevée en forme non dissociée à un

Synthèse bibliographique

pH donné. L'effet inhibiteur des acides organiques est dû à leur capacité à diffuser passivement à travers la membrane plasmique de la cellule cible et à perturber et/ou inhiber certaines activités métaboliques. Dans le compartiment intracellulaire, à pH neutre, ces acides se dissocient en ions. L'accumulation des protons (H^+) contribue à la diminution du pH et l'acidification du cytoplasme, ce qui peut réduire l'activité de certaines enzymes et endommager les protéines et l'ADN (Gajbhiye et Kapadnis, 2016). En plus de leur effet sur la membrane du champignon, ils inhibent également l'absorption des acides aminés (Perczak et al., 2018). Par ailleurs, l'acide phénylacétique (PLA) est un autre acide organique, dérivés du catabolisme de la phénylalanine, bien étudié avec des propriétés antibactériennes naturelles. Le PLA possède une voie métabolique similaire à celle de l'acide lactique, il est métabolisé pendant la fermentation par l'enzyme glycolytique et la lactate déshydrogénase (Nasrollahzadeh et Mokhtar, 2022).

II.4.2 La reuterine

La reuterine (3-hydroxypropionaldéhyde), est un composant particulièrement intéressant impliqué dans l'inhibition de la croissance fongique. Elle résulte de la dégradation du glycérol dans des conditions anaérobies (Gajbhiye et Kapadnis, 2016).

II.4.3 Bactériocines

Les bactériocines sont des peptides synthétisés par les ribosomes de certaines bactéries principalement, les bactéries lactiques à la fin de la phase exponentielle de croissance et le début de la phase stationnaire (Delavenne, 2019). Elles ont un large spectre d'action contre les bactéries de Gram positive et de Gram négatif, les protozoaires, les champignons et les virus.

Les bactériocines sont composées de 20 à 60 acides aminés qui sont responsables de leurs principales propriétés. à savoir : la tolérance à l'acide, la thermo stabilité et la spécificité bactéricide (Azeredo et al., 2018).

De nombreuse études récentes ont purifiées et identifiées les bactériocines pour les appliquer en technologie alimentaire comme bio-préservateur afin de prolonger la durée de conservation de nombreux produits alimentaires (Khider et Elnanna, 2017). Klaenhammer (2020) a proposé de classer les bactériocines en quatre principales classes en se basant sur leurs structures primaires et tridimensionnelles et sur leurs modes d'action :

Synthèse bibliographique

Classe 1 : comprennent généralement 19 à 50 acides aminés contenant généralement, les peptides thermorésistants subissant des modifications post traductionnelles. Elle se subdivise en lantibiotiques, labyrinthopeptides et sactibiotiques (Taale et al., 2016).

Classe 2 : contient des petits peptides thermostables qui ne subissent pas de modifications post- traductionnelles, à l'exception de la formation de ponts disulfures (Heilbronner, 2021).

Classe 3 : ce sont l'helvéticine M produite par *Lactobacillus crispatus* et l'helvéticine J produite par *Lactobacillus helveticus* (Wang et al., 2021).

Classe 4 : ce sont les grandes bactériocines thermolabiles (Kumariya et al., 2019).

II.4.4 Diacétyle

Le diacétyle l'est un composé aromatique formé lors du métabolisme secondaire des bactéries lactiques, connu pour son arôme et goût de beurre (Hernandez-Valdes et al., 2020). Il est également utilisé comme exhausteur de goût dans les industries alimentaires (White et al., 2021).

II.4.5 Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Lors de l'absence de catalase, les bactéries lactiques produisent du H₂O₂ en présence de flavoprotéine oxydase (Gajbhiye et Kapadnis, 2016). Cette Flavoprotéine oxydase et le NADH peroxydase sont responsables de l'interaction directe des bactéries lactiques avec l'oxygène pour produire de l'eau et de peroxyde d'hydrogène dans des conditions aérobies (Condon, 1987).

II.4.6 Les acides gras

Les acides gras sont très utilisés pour inhiber la croissance fongique. Quatre acides gras 3- (R)- hydroxydécanoïque, 3- (R) - hydroxytétradécanoïque, 3-(R)-hydroxy-dodécanoïque, 3-hydroxy-5-cis-dodécenoïque ont été isolés à partir de *Lactobacillus plantarum* MILAB14. Une étude a montré que ces acides sont très actifs contre la croissance de *Fusarium* (Gajbhiye et Kapadnis, 2016).

II.4.7 Détoxification des mycotoxines par les bactéries lactiques

L'utilisation des bactéries lactiques pour l'élimination des mycotoxines est une alternative intéressante permettant la détoxification des produits alimentaires contaminés. La réduction de taux des mycotoxines par ces bactéries repose sur deux grands mécanismes (Fig 7) :

Synthèse bibliographique

Les bactéries lactiques produisent de nombreuses enzymes protéolytiques qui jouent un rôle très important dans le processus de biodégradation (Tableau VIII) et de détoxification des mycotoxines (Piotrowska & Zakowska, 2000; Chang et al., 2020).

D'autre part, l'adsorption des mycotoxines par la paroi cellulaire de bactéries lactiques est suggérée comme un autre mécanisme de détoxification des mycotoxines. De nombreuses souches du genre *Lactobacillus* et certaines espèces appartenant aux genres *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Stryptococcus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* et *Weissella* ont montré une grande efficacité dans l'adsorption de plusieurs mycotoxines plus particulièrement l'*aflatoxine B1* et l'*Ochratoxine A* in vitro et in vivo (Topcu et al., 2010; Ahlberg et al., 2015; Kavitate et al., 2020). Nazareth. (2020) a montré que la concentration de l'AFB1 a été réduite après une confrontation avec *L. plantarum* comparé au témoin. Après le temps d'incubation, la concentration finale d'AFB1 dans le groupe de traitement était de 6,9 et 20,1 ng/g, alors que la concentration d'AFB1 dans le groupe témoin a atteint des valeurs de 278,4 et 75,4 ng/g. *L. rhamnosus* a été confronté contre les AFM1 présente dans le lait contaminé. Les résultats ont montré que les souches avaient la capacité d'absorber 19% à 61% d'AFM1 et elles ont aussi la capacité de dégrader l'AFM1 en métabolites moins toxiques que les toxines d'origine (Martínez et al., 2019).

Afin de comprendre le processus d'adsorption des mycotoxines par les bactéries lactiques, des sphéroplastes et des composants de la paroi cellulaire de deux souches de bactéries lactiques, *Lactobacillus reuteri* NRRL14171 et *Lactobacillus casei* Shirota ont été utilisées pour démontrer le rôle d'importance de l'intégrité de la paroi cellulaire dans le mécanisme d'adsorption de l'Aflatoxine B1. Les principaux composants fonctionnels impliqués dans ce processus sont les peptidoglycanes et les acides lipothéicoïques (Hernandez-Mendoza et al., 2009). L'efficacité d'adsorption des mycotoxines par la paroi bactérienne dépend de plusieurs facteurs comme la concentration initiale de la mycotoxine, la viabilité, la structure et le nombre de cellules bactériennes, le pH du milieu et le temps d'incubation (Perczak et al., 2018 Muhialdin et al;2020). En fait, selon plusieurs études, les cellules bactériennes inactivées thermiquement présentent une meilleure capacité d'adsorption en comparaison avec des cellules viables, et cela est dû aux changements de la surface cellulaire et l'augmentation de la disponibilité du nombre de sites de fixation (Elsanhoty et al., 2013).

Tableau VIII : La dégradation des mycotoxines par les bactéries lactiques (Muhialdin et al., 2020).

Synthèse bibliographique

Micro-organisme	Mycotoxine cible	Dégradation(%)
Souche de bactéries lactiques	Aflatoxine B1 et B2	0%
<i>L.casael</i> LOCK0920, <i>L.brevis</i> LOCK 0944, <i>L.plantarum</i> LOCK 0945	Ochratoxine A	50%
<i>L.acidphilus</i> VM20, <i>Bifidobacterium animalis</i> VM12	Ochratoxine A Patuline	95% 50%
<i>L.rhamnosus</i> CECT 278T	Ochratoxine A	97%
<i>L .brevis</i> 20023	Patuline	0%
<i>L.plantarum</i> GT	Déoxynivalénon	56-66%
Souches de bactéries lactiques	Déoxynivalénon, fumonisines B1, fumonisines B2	55%, 82% et 100%
Bactéries lactiques	Fumonosine B1 zéaralénone	56-67% 68-75%
<i>L.rhamnosus</i> GG (ATCC 53103), <i>L.plantarum</i> A1	Zéaralénone	0%
<i>L.paracasel</i> , <i>L.lactis</i>	Zéaralénone	55%

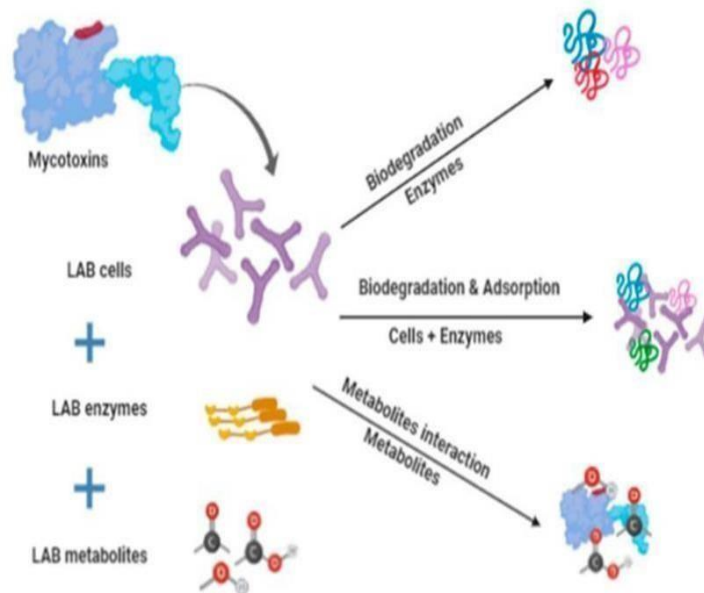


Figure 7 : Les mécanismes responsables de la détoxification des mycotoxines par les bactéries lactiques (Muhialdin et al., 2020).

Chapitre II :

Matériel et méthodes

Matériel et Méthodes

Le blé est l'un des aliments les plus consommés dans le monde et la contamination de cette céréale par des moisissures toxigènes constitue un problème majeur en raison de leurs effets néfastes sur la santé de l'homme et de l'animal. Le principal objectif de cette étude est d'évaluer l'effet antifongique des bactéries lactiques isolées de différentes matrices alimentaires vis-à-vis des champignons potentiellement toxigènes isolés à partir des grains de blé Algérie et une souche de collection d'*Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T).

I. Matériel

I.1 Matériel biologique

➤ Les souches fongiques

Trois souches fongiques productrices d'aflatoxines et d'ochratoxine A, isolés à partir de blé et des produits dérivés en Algérie (*Aspergillus flavus* et *Aspergillus alliaceus*) et une souche de collection *Aspergillus parasiticus* CBS 100926T (Tableau IX) offerte gracieusement par le laboratoire de biologie des systèmes microbiens (LBSM) ENS Kouba, Alger.

Tableau IX: Les souches fongiques.

Les souches	Origine
<i>A. Parasiticus</i> CBS 100926T	Souche de collection
<i>A. flavus</i> et <i>A. alliaceus</i>	Blé

➤ Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude nous ont été offertes par notre co-promotrice Mme BADJI Tiziri. Ces souches ont été isolées à partir de différentes matrices alimentaires (Couscous Lemzeiet, L'ben artisanal et pâte à pain qui a subi une fermentation spontanée) (Tableau X).

Tableau X : Les souches bactériennes.

Code de la souche bactérienne	Origine
Lab-L4/al et Lab-L5/al	Couscous Lemzeiet
Lab-L1 et Lab-L8	L'ben artisanal
Lab-M2/al	pâte à pain qui a subi une fermentation spontanée.

II. Méthodes

II.1 Revivification des souches bactériennes

Les souches bactériennes conservées dans des tubes sur gélose M17 inclinée ont été revivifiées pour vérifier leur pureté. Une série de boîtes de Pétri contenant environ 20 ml de gélose M17 ont été préparées auparavant pour la culture des bactéries.

Dans des conditions stériles et à l'aide d'une anse en platine, une colonie bactérienne est prélevée à partir du tube incliné pour chaque souche et ensemencée par stries sur gélose M17 en boîte de pétri. Après 48 h d'incubation à 30 °C, une identification macro et microscopique a été réalisée pour chaque souche (Djamal Eddine et al., 2018)

II.2 Identification des souches Bactériennes

II.2.1 Identification morphologique

Cette étude est basée sur des observations macroscopiques et microscopiques (x100) permettant de différencier l'aspect des colonies, le type de Gram, la forme ainsi que la disposition des cellules (Alexandre et al., 2007).

II.2.1.1 L'aspect macroscopique des colonies

L'aspect macroscopique a été observé après incubation pendant 48 h à 30 °C sur milieu M17 agar. L'observation à l'œil nu permet de se renseigner sur la forme, la taille, la couleur des colonies, le relief, aspect, surface, contour.

II.2.1.2 L'aspect microscopique des cellules bactériennes

Pour chaque souche bactérienne un fragment d'une colonie a été prélevée pour effectuer l'observation microscopique après une coloration de Gram. Cette technique nous a permis d'identifier le type de Gram, la forme et la disposition des cellules de chaque souche bactérienne (Carre et al., 2002).

➤ Coloration de Gram

- Préparation des frottis

Avant toute coloration, il faut réaliser un frottis, c'est à dire un étalement et fixation des bactéries sur une lame selon les étapes suivantes :

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile, puis prélever à l'aide d'une anse en platine une colonie de culture bactérienne.

Matériel et Méthodes

- Mélanger afin d'obtenir une suspension homogène, puis étaler en partant du centre de la lame, en décrivant avec l'anse des mouvements circulaires de façon à obtenir un étalement mince et homogène sur au moins $\frac{2}{3}$ de la lame.
- Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec Bunsen (Leyral et Joffin, 2001).

- Coloration de Gram

La coloration de Gram est une coloration classique en microbiologie. Elle permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries à Gram négatif (G-) et les bactéries à Gram positif (G+). Celles-ci diffèrent de part la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, ou la présence d'une membrane externe.

La première étape nécessite quelques gouttes de violet de gentiane sur un frottis fixé pendant une minute. Après rinçage, on ajoute du Lugol (solution aqueuse d'iode et d'iodure de potassium) pendant 30 secondes. La lame a été inondée par l'éthanol 90 % pendant 15 secondes, puis rincée avec de l'eau distillée. En fin, quelques gouttes de fuchsine sont versées sur la lame qu'on laisse agir une minute, cette étape sert à colorer les bactéries Gram négatif qui se sont décolorées lors du traitement précédent. De ce fait, les bactéries Gram négatif seront colorées en rose et celle de Gram positif en violet. La lame est lavée à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation microscopique (Singleton, 2005).

II.2.2 Identification biochimique des souches de bactéries lactiques

II.2.2.1 Test de catalase

Ce test constitue un test clé dans l'identification des bactéries lactiques. Le test a été appliqué sur toutes les souches utilisées dans cette étude. Il consiste à déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée et à dissocier directement une colonie prélevée sur milieu M17 agar.

➤ Lecture

Si la souche examinée possède une catalase, un dégagement de bulles gazeuses est observé et le contraire indique l'absence de l'enzyme (Guetouache, 2021).

II.2.2.2 Identification des souches bactériennes par galerie API 50 CHL

➤ Principe

La galerie API 50 CHL est constituée de 50 microtubes permettant l'étude de la fermentation du substrat appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyosides, acides uroniques). Le microorganisme à tester est mis en suspension dans le milieu API 50 CHL Medium puis inoculé dans chaque tube de la galerie. Durant la période d'incubation, la fermentation se traduit par un changement de couleur, due à une

Matériel et Méthodes

production d'acide en anaérobiose révélée par l'indicateur du pH du milieu. Le premier tube, sans principe actif, sert de témoin négatif. Les résultats obtenus constituent le profil biochimique permettant l'identification du microorganisme à l'aide du logiciel d'identification Apiweb™ (Boyd et al., 2005).

➤ Préparation de l'inoculum

- Inoculer environ 10 colonies, isolées d'une culture de 24 à 48h incubée à 30°C, dans une ampoule d'API 50 CHL medium
- Bien homogénéiser
- Cette solution doit être utilisée extemporanément

➤ Inoculation de la galerie

Répartir 100µl de la suspension bactérienne à l'aide d'une micropipette stérile dans les 50 tubes de la galerie en se conformant aux précautions suivantes :

- Incliner légèrement vers l'avant la boîte d'incubation
- Veiller à bien homogénéiser l'inoculum avant chaque prélèvement
- Eviter la formation des bulles en posant la pointe de la pipette sur le côté de la cupule
 - Recouvrir les tests avec de l'huile de paraffine (déposer une goutte de l'huile de paraffine dans chaque tube)
- Incuber la galerie à 30°C en aérobiose

➤ Lecture de la galerie

La lecture de la galerie est réalisée après 24 et 48h d'incubation. Chaque test a été interprété (positif (+), négatif (-) et douteux (?)) et noté sur la fiche des résultats.

II.3 Repiquage des souches fongiques

Le repiquage se fait par prélèvement, dans des conditions stériles, d'un fragment de mycélium à l'aide d'une anse de platine et le déposer au centre d'une boîte de Pétri contenant la gélose PDA. Après une incubation de 5 jours à 25°C, une identification macro et microscopique, des champignons a été réalisée.

II.3.1 Identification macroscopique des souches fongiques

Après l'incubation des champignons à 25°C pendant 5 jours, Une analyse morphologique à l'œil nu a été réalisée. Cette analyse repose sur une observation des critères macroscopiques tels que l'aspect et la couleur des colonies, de leurs revers, les exsudats, la production des sclérotés.... etc.

II.3.2 Identification microscopique des souches fongiques

Matériel et Méthodes

L'identification microscopique des souches fongiques est réalisée en utilisant un Scotch test. Une solution de bleu de coton est utilisée comme liquide de montage. Un petit morceau de scotch est appliqué par la face collante sur une culture fongique dans une boîte de Pétri puis déposé sur une lame contenant une goutte de bleu de coton. La lame est observée à l'aide d'un microscope optique avec grossissement X40.

II.4 Evaluation de l'activité antifongique des bactéries lactiques vis-à-vis des champignons toxigènes

II.4.1 Préparation des suspensions fongiques

Les trois souches fongiques (*A. flavus*, *A. alliaceus* et *A. parasiticus* CBS 100926T) utilisées dans cette étude ont été cultivées en aérobiose à 25 °C sur milieu PDA pendant 5 jours. Les spores ont été récupérées dans de l'eau distillée stérile contenant 0,1 % de tween 80. La suspension sporale a été standardisée à une concentration de 10^5 spores/ml à l'aide d'une cellule de Mallassez. La numérotation des spores est réalisée directement par comptage sous microscope optique grossissement X40. Les résultats de numérotation sont exprimés en nombre de spores par millilitre (spores/ mL).

II.4.2 Préparation de l'inoculum bactérien

Les inoculum des cinq souches bactériennes ont été préparés par l'inoculation de 20ml de bouillon M17 d'une colonie fraîche, prélevée d'une culture de 48 h sur M17 agar et incubés à 30 °C. Après 24 h d'incubation, la densité optique (DO) de chaque culture a été mesurée à une longueur d'onde de 600 nm et les concentrations bactériennes ont été standardisées à deux concentrations différentes de 10^5 et 10^{10} Cfu/mL en utilisant des courbes de calibration réalisées préalablement pour chaque souche bactérienne (Tableau XI). La valeur de la DO de chaque culture ne doit pas dépasser 1. Si besoin, les cultures des bactéries lactiques ont été diluées dans le bouillon M17 stérile pour obtenir une valeur d'absorbance inférieure à 1. Par la suite, les cultures standardisées ont été centrifugées à 6000 x g pendant 10 min et le culot bactérien de chaque culture a été remis dans 10 ml d'eau physiologique stérile pour le lavage et centrifugé dans les mêmes conditions. Le culot bactérien lavé de chaque culture a été remis dans un volume d'eau physiologique pour avoir au final une concentration de 10^5 ou 10^{10} Cfu/mL.

Tableau XI : Les équations des droites de régression utilisées pour quantifier les concentrations des souches bactériennes dans M17 bouillon.

Matériel et Méthodes

Code de la souche bactérienne	Equation de la droite de régression	La valeur de R ²
Lab-L4/al	$Y = 3.10^9x + 0.041$	0,996
Lab-L5/al	$Y = 2.10^9x + 0.049$	0,995
Lab-L1	$Y = 3.10^9x + 0.015$	0,999
Lab-L8	$Y = 3.10^9x + 0.017$	0,998
Lab-M2/al	$Y = 4.10^9x + 0.035$	0,992

II.4.3 Etude de l'activité antifongique des bactéries lactiques par méthode de double couche

Cinq souches de bactéries lactiques isolées de différentes matrices alimentaires (Lab-L4/al et Lab-L5/al isolées à partir du couscous Lemzeiet, Lab-L1 et Lab-L8 isolées à partir de L'Ben artisanal et Lab-M2/al isolée à partir d'une pâte a pain) ont été évaluées par leur capacité à inhiber ou réduire la croissance de trois souches fongiques toxigènes ; *Aspergillus flavus* , *Aspergillus alliaceus* et une souche de collection *Aspergillus parasiticus* CBS 100926T, en utilisant la technique de gélose à double couche, décrite par Aunsbjerg et al. (2015) et Freire et al. (2021). Les expériences ont été réalisées en triplicata à deux concentrations différentes en bactéries lactiques (10^5 et 10^{10} Cfu/mL) et une concentration fongique de 10^5 spores/mL.

Un millilitre de chaque inoculum bactérien de concentration 10^5 ou 10^{10} Cfu/mL a été individuellement ensemencé en masse dans 10 ml de milieu M17 agar au fond d'une boîte de Pétri. Une fois solidifié, le milieu M17 a été recouvert avec 10 ml de milieu YES agar et 100 μ l de suspension fongique de concentration 10^5 spores/mL ont été déposés individuellement au centre de la boîte de pétri sur milieu YES solidifié. Le diamètre de la croissance fongique a été mesuré après 7 jours d'incubation à 25 °C (Møller et al., 2021).

L'activité antifongique cinq des bactéries lactiques vis-à-vis des trois champignons toxigènes a été évaluée par le pourcentage de la croissance mycélienne selon l'équation suivante :

$$PI = [(M0 - Mi)/M0]*100$$

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

M0 : Mesure de la croissance mycélienne normale du champignon témoin

Mi : Mesure de la croissance mycélienne influencé par la bactérie

Matériel et Méthodes

II.5 Analyse statistique

Les expériences de cette étude ont été réalisées en triplicata pour évaluer l'effet antifongique des bactéries lactiques contre les champignons toxigènes. Les résultats des tests antifongiques ont été exprimés en moyenne \pm écart-type (SD). Les moyennes et les écarts-types ont été calculés à l'aide de Microsoft Excel 2010.

Chapitre III :

Résultats et Discussion

Résultats et discussion

I. Identification des souches bactériennes

I.1. Résultats de l'identification morphologique

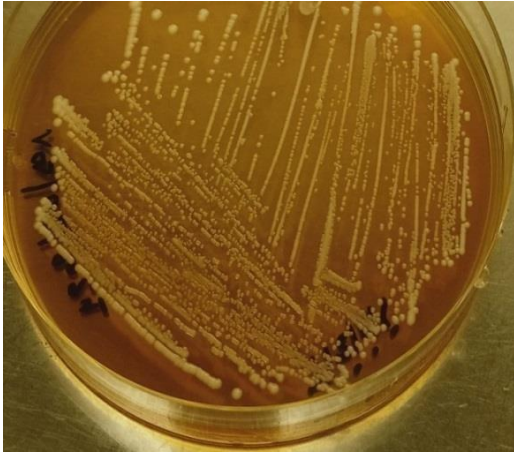
I.1.1 L'aspect macroscopique

L'observation macroscopique des souches bactériennes après 48 h d'incubation à 30 °C sur gélose M17 à permet de révéler les formes morphologiques des différentes colonies bactériennes. On a constaté des colonies de petite taille d'environ 2 mm de diamètre, de forme circulaire, couleur crème, rondes à contour régulier, lisses et légèrement bombées (Tableau XII et Figure 8).

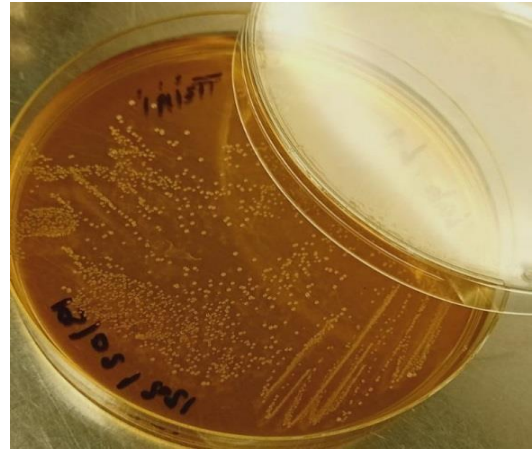
Tableau XII : Résultats de l'examen macroscopique des souches bactériennes après une culture de 48 h à 30 °C sur milieu M17 agar.

Souche bactérienne	Forme	Contour	Relief	Taille	Couleur	Surface	Opacité
Lab-L4/al	Ronde	Régulier	Convexe	2 mm	Crème	Lisse brillante	Translucide
Lab-L5/al	Ronde	Régulier	Convexe	2 mm	Crème	Lisse brillante	Translucide
Lab-L1	Ronde	Régulier	Convexe	2 mm	Crème	Lisse brillante	Translucide
Lab-L8	Ronde	Régulier	Convexe	2 mm	Crème	Lisse brillante	Translucide
Lab-M2/al	Ronde	Régulier	Convexe	1 mm	Crème	Lisse brillante	Transparente

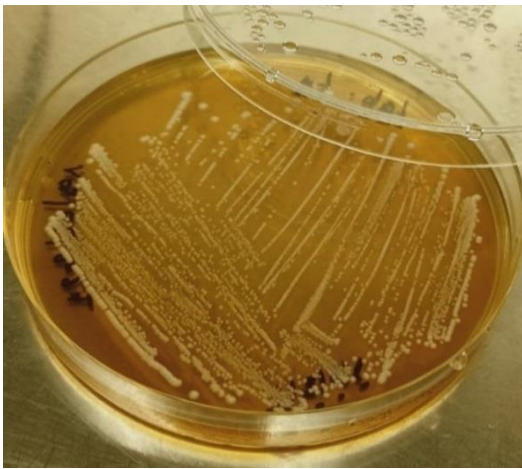
Résultats et discussion



Lab-L8



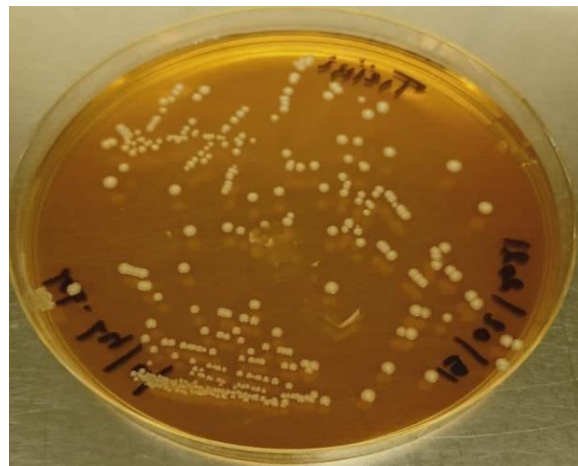
Lab-M2/al



Lab-L1



Lab-L5/al



Lab-L4/al

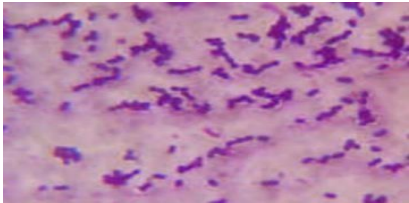
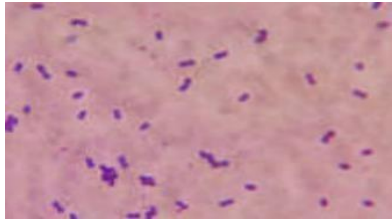
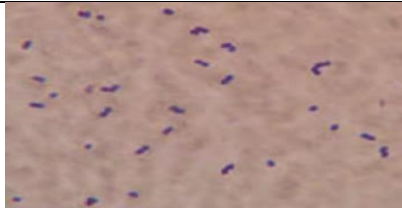
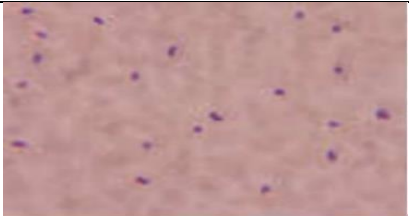
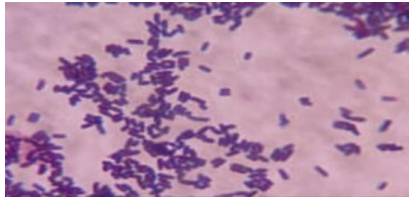
Figure 8: Aspect macroscopique des souches bactériennes après une culture de 48 h à 30 °C sur milieu M17 agar

Résultats et discussion

I.1.2. L'aspect microscopique

L'observation microscopique des frottis après coloration de Gram montre que toutes les bactéries sont à Gram positif, présentées sous forme de Cocci isolés, en diplocoques ou Cocci en courtes chainettes (tableau XIII).

Tableau XIII : Résultats de coloration de Gram des souches bactériennes.

Souche bactérienne	Forme	Gram	Agencement	Aspect microscopique
Lab-L4/al	Cocci	Positif	Cocci groupés par paires ou en courtes chainettes	
Lab-L5/al	Cocci	Positif	Diplocoque	
Lab-L1	Cocci	Positif	Diplocoque	
Lab-L8	Cocci	Positif	Cocci Isolée ou en Diplocoque	
Lab-M2/al	Cocci	Positif	Cocci en chaines Coccobacilles groupés par paires	

Résultats et discussion

I.2. Résultats d'identification biochimique

I.2.1 Test de catalase

Le test de catalase a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase négative (-)), des entérobactéries (catalase positive (+)). Les bactéries lactiques sont dites catalase négative, car elles ne possèdent pas la catalase, l'enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène.

Dans notre étude, le test de catalase révèle que toutes les souches bactériennes (Lab-L4/al, Lab-L5/al, Lab-L1, Lab-L8 et Lab-M2/al) répondent bien aux caractéristiques des bactéries lactiques comme le montre la Figure 9.

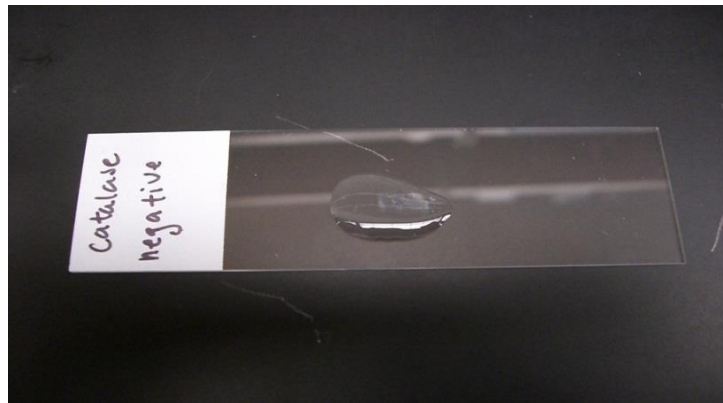


Figure 9: résultats du test catalase

I.2.2 Identification biochimique des bactéries lactiques par galerie biochimique API50 CHL.

L'utilisation de la galerie API50 CHL est une étape de confirmation de l'identification des souches bactériennes après 48h d'incubation. Les 5 souches ont été sélectionnées pour une identification approfondie avec les galeries API50 CHL. L'interprétation des résultats a été faite par l'utilisation du logiciel ApiwebTM (Tableau XIV et Fig. 10, 11, 12,13 et 14). On rapporte les profils de fermentations sur galeries API50 CHL des 5 souches isolées dans le tableau XVI.

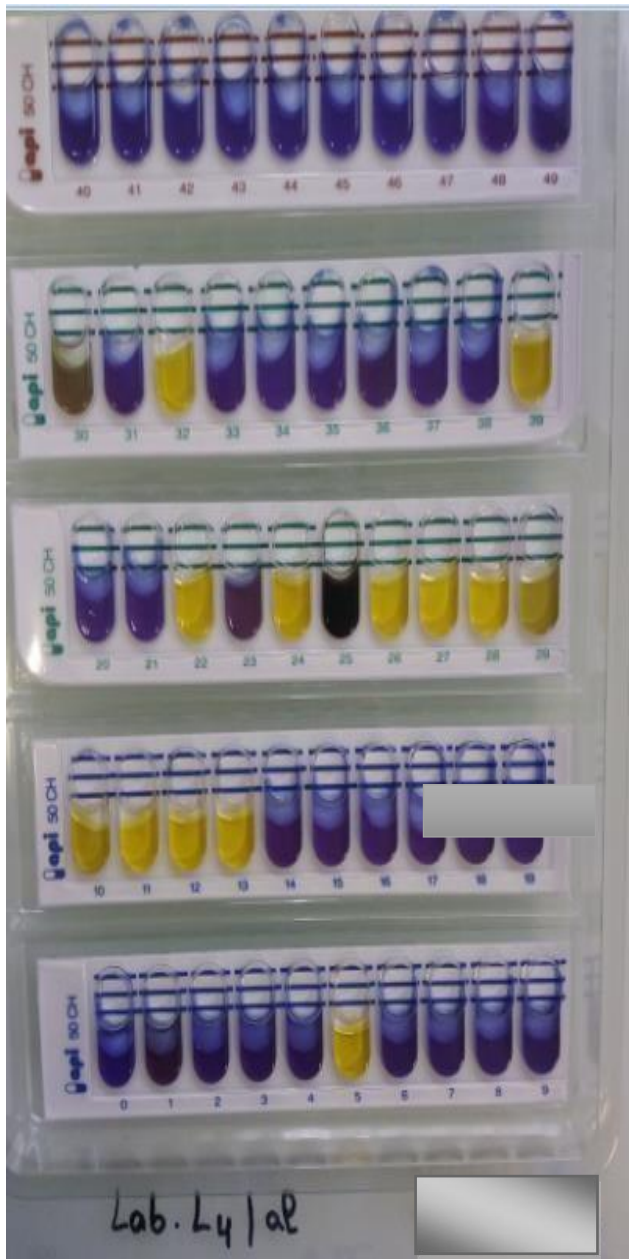
L'interprétation des résultats API50 CHL montre que les souches bactériennes ont des profils biochimiques identiques pour 7 substrats. Les 5 souches hydrolysent l'esculine et la salicine, et fermentent le fructose, mannose, surbose, celbiose et le maltose. Cependant, elles diffèrent au niveau de 11 hydrates de carbone et dérivés : ribose, D-xylose, L-xylose, glucose, sorbitol, arbutine, melibiose, saccharose, Tréhalose, amidon et le turanose.

Résultats et discussion

➤ Profil API50 CHL de la souche Lab-L4/al et l'identification par logiciel apiweb™

IDENTIFICATION ACCEPTABLE			
Galerie	API 50 CHL V5.2		
Profil	-----+-----++++-----++++++??-+-----+-----		
Note(s)	ID.NON VALIDE AVANT 48 H D'INCUBATION !		
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Lactococcus lactis ssp lactis 2	87.2	0.79	
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Pediococcus spp	8.3	0.68	RIB 22%

Figure 10 : Galerie API50 CHL de la souche Lab-L4/al après 48h d'incubation à 30 °C

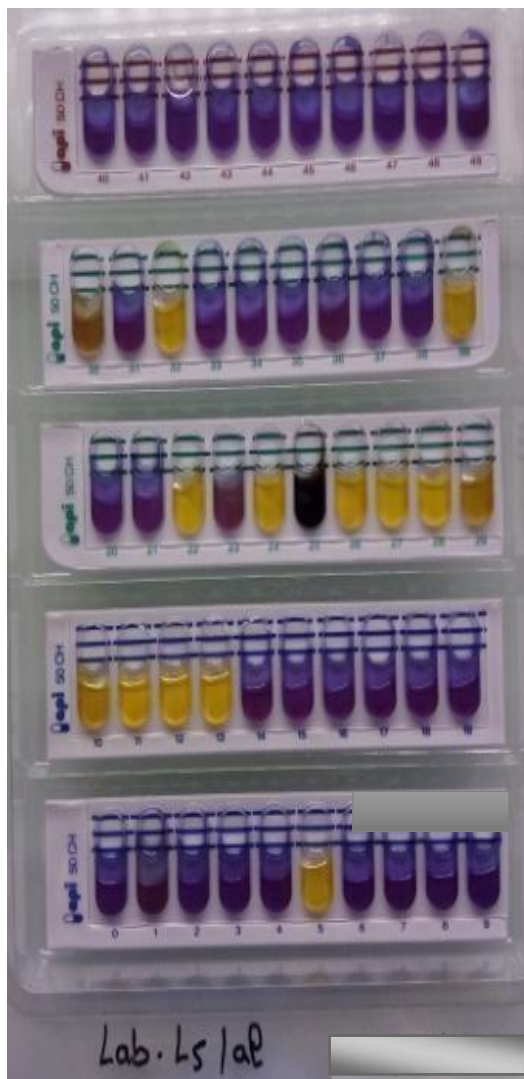


Résultats et discussion

➤ Profil API50 CHL de la souche Lab-L5/al et l'identification par logiciel apiweb™

FAIBLE DISCRIMINATION			
Galerie	API 50 CHL V5.2		
Profil	-----+-----++++-----+---+?+++++??-+-----+-----		
Note(s)	ID.NON VALIDE AVANT 48 H D'INCUBATION !		
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Lactobacillus paracasei ssp paracasei 3	39.8	0.68	
Lactococcus lactis ssp lactis 2	37.4	0.64	MAN 20%
Lactococcus lactis ssp lactis 1	14.9	0.72	
Brochothrix thermosphacta	6.6	0.58	GAL 25%
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Lactobacillus plantarum 2	0.8	0.53	TRE 1%
Test(s) complémentaire(s)	CATALASE	COCCI	
Lactococcus lactis ssp lactis	-	+	
Brochothrix thermosphacta	+	-	
Lactobacillus paracasei ssp paracasei	-	-	

Figure 11 : Galerie API50 CHL de la souche Lab-L5/al après 48h d'incubation à 30 °C

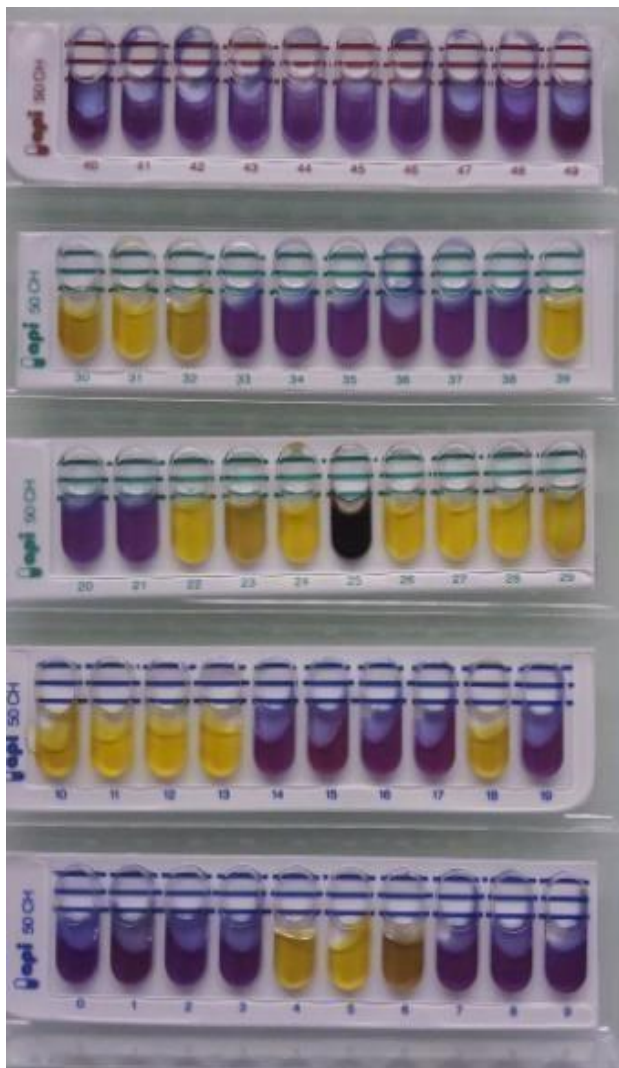


Résultats et discussion

➤ Profil API50 CHL de la souche Lab-L1 et l'identification par logiciel apiweb™

IDENTIFICATION ACCEPTABLE			
Galerie	API 50 CHL V5.2		
Profil	-----+?---++++-----+?+++++?+?-----+-----		
Note(s)			
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Lactococcus lactis ssp lactis 1	83.2	0.61	
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Lactobacillus brevis 1	10.6	0.55	GNT 85%

Figure 12 : Galerie API50 CHL de la souche Lab-L1 après 48h d'incubation à 30 °C

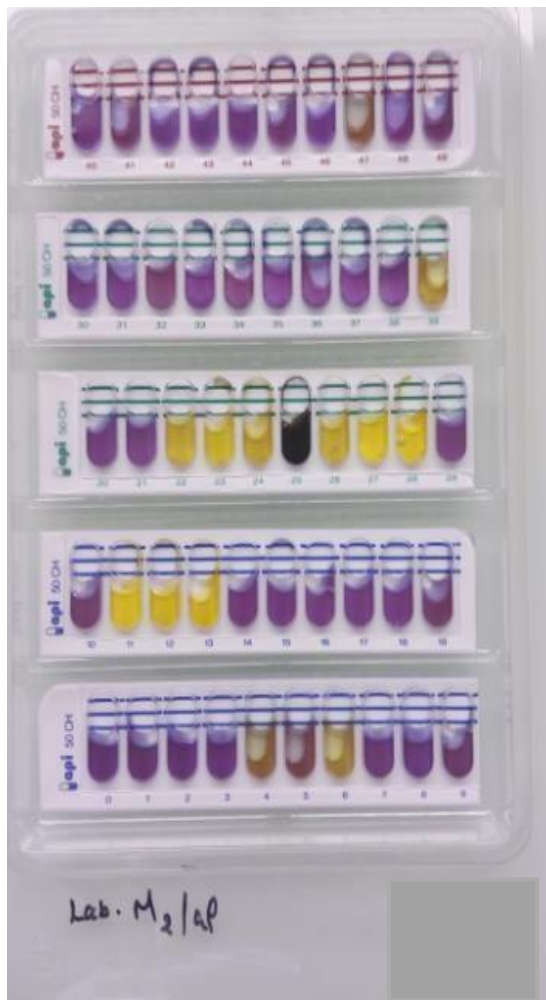


Résultats et discussion

- Profil API50 CHL de la souche Lab-M2/al et l'identification par logiciel apiweb™

PROFIL DOUTEUX						
Galerie	API 50 CHL V5.2					
Profil	---- ?? +-----+++-----+++++-----+-----?--					
Note(s)						
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
Weissella confusa	87.4	0.43	GAL 100%	SAC 90%		
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
Pediococcus pentosaceus 1	4.4	0.29	GAL 100%	TRE 99%		

Figure 14: Galerie API50 CHL de la souche Lab-M2/al après 48h d'incubation à 30 °C.



Résultats et discussion

Tableau XIV : Tableau récapitulatif des résultats d'identification de souches bactériennes par galerie API50 CHL.

	Lab-L4/al	Lab-L5/al	Lab-L1	Lab-L8	Lab-M2/al
Glycérol	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Erythritol	Négatif	Négatif	Négatif	?	Négatif
D_arabinose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
L_arabinose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
D_ribose	Négatif	Négatif	Positif	Positif	?
D_xylose	Positif	Positif	Positif	Positif	?
L_xylose	Négatif	Négatif	?	?	positif
D_adonitol	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
MDX	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
D_galactose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
D_glucose	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif
d-fructose	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
D_mannose	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
L_sorbose	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
L_rhamnose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Dulcitol	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Inositol	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
D_mannitol	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
D_sorbitol	Négatif	Positif	Positif	Positif	Négatif
DMD	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
MDG	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
NAG	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	positif
Amygdaline	Positif	Positif	?	Positif	Positif
Arbutine	Négatif	?	Positif	?	Positif
Esculine	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
Salicine	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
D_celiobiose	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
D_maltose	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
D_lactose	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif
D_melibiose	?	?	?	Positif	Négatif
D_saccharose	?	?	Positif	Positif	Négatif
D_trehaiose	Négatif	Négatif	?	Positif	Négatif
Inuline	Positif	Positif	Négatif	?	Négatif
D_mélézitose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
D_rafinoose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Amidon	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Glycogène	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Xylitol	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
Gentiobiose	Négatif	Négatif	Positif	Négatif	Positif
D_turanose	Positif	Positif	Négatif	Positif	Négatif
D_lyxose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
D_tagatose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

Résultats et discussion

D_fucose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
L_fucose	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
D_arabitol	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
L_arabitol	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
GNT	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	?
2KG	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
5KG	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

L'analyse taxonomique, révèle que les souches isolées de couscous Lemzeiet Lab-L4/al et Lab-L5/al appartiennent aux espèces *Lactococcus lactis* ssp *lactis* 2 et *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* avec un pourcentage d'identification de 87,2% et 39,8% respectivement. Les souches Lab-L1 et Lab-L8 isolées à partir de l'ben artisanal ont été identifiées comme *Lactococcus lactis* spp *lactis* 1 avec un pourcentage de 83,2% et 53,4% respectivement. La souche Lab-M2/al est identifiée comme *Weissella confusa* avec un 87,4%.

I.3. Résultats d'identification morphologique des souches fongiques.

I.3.1. L'aspect macroscopique

I.3.1.1. *Aspergillus flavus*

Les colonies d'*Aspergillus flavus* cultivées sur milieu PDA sont de couleur olive à vert lime avec un revers crème, leur texture est de laineuse à cotonneuse et peu granulaire (Fig. 15).

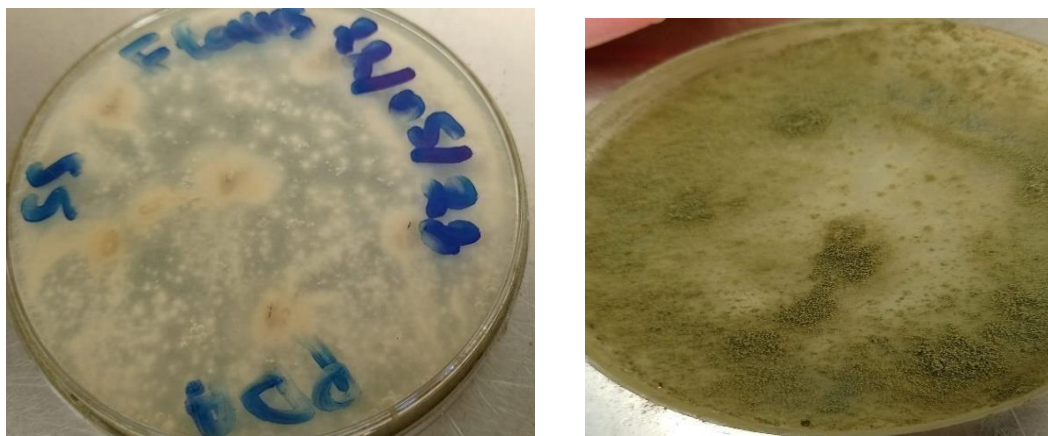


Figure 15 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus flavus*

I.3.1.2. *Aspergillus parasiticus*

La souche d'*Aspergillus parasiticus* se distingue par des colonies de couleur verte foncée avec des bordures de couleur blanche (Fig.16).

Résultats et discussion

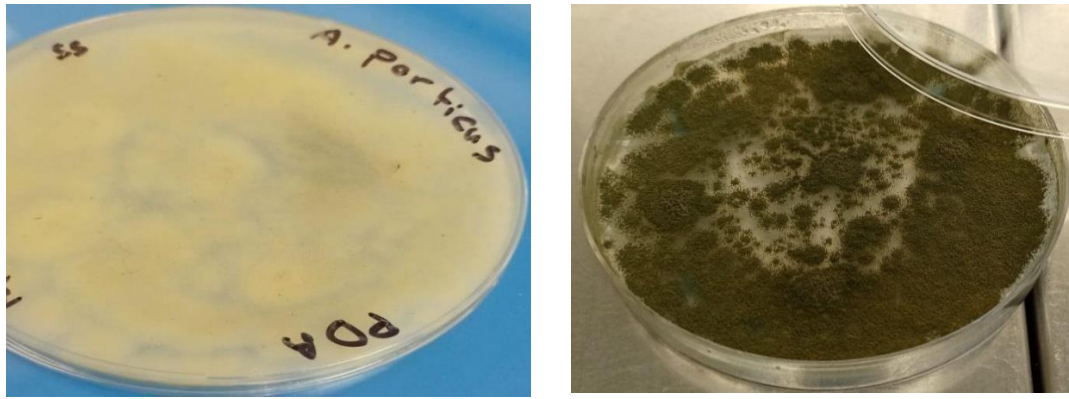


Figure 16 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus parasiticus*

I.3.1.3. *Aspergillus alliaceus*

La souche d'*Aspergillus alliaceus* se distingue par des colonies jaune sombre à brun gingembre, avec des corps sclérotés gris à noir (Fig 17).

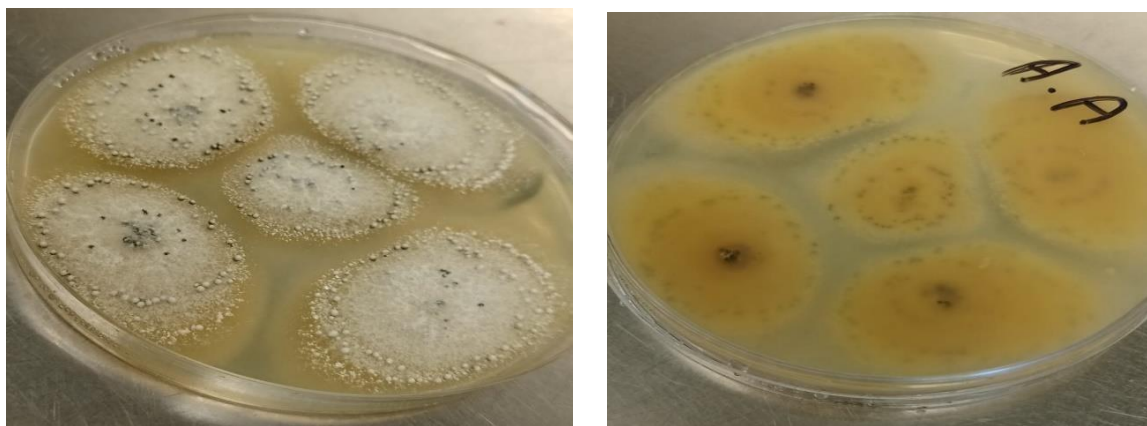


Figure 17 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus alliaceus*

I.3.2. Aspect microscopique

Les souches fongiques ont été soumises à une identification microscopique réalisée par une observation sous microscope optique au grossissement x40 et fondée essentiellement sur l'étude morphologique.

I.3.2.1. *Aspergillus flavus*

L'aspect microscopique d'*Aspergillus flavus* est présenté par une grande vésicule gonflée sphérique à légèrement allongée, fertile sur toute la surface des phialides bisériées se forment de manière vaguement rayonnée entourant la majeure partie de la vésicule. Les conidies sont globuleuses à ellipsoïdes (Fig. 18).

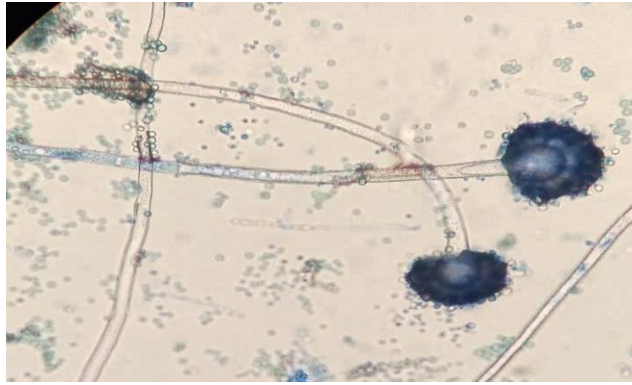


Figure 18 : Aspect microscopique d'*Aspergillus flavus*.

I.3.2.2. *Aspergillus parasiticus*

L'aspect microscopique d'*Aspergillus parasiticus* est présenté par des conidies avec des parois rugueuses et épaisses. Elles sont de forme sphérique et ont des conidiophores courts avec de petites vésicules de couleur vert foncé (Fig. 19).

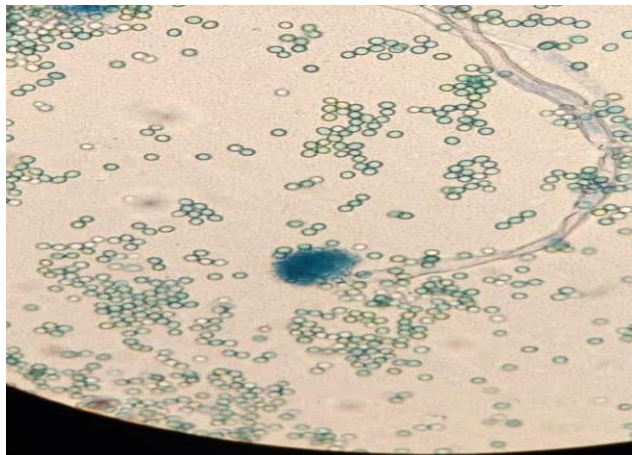


Figure 19 : Aspect microscopique d'*Aspergillus parasiticus*.

I.3.2.3. *Aspergillus alliaceus*

L'aspect microscopique d'*Aspergillus alliaceus* est présenté par des conidiophores longs, rugueux et décharnés (Fig.20).



Figure 20 : Aspect microscopique d'*Aspergillus alliaceus*.

I.4. Résultats de l'activité antifongique des bactéries lactiques vis-à-vis les des champignons toxigènes

L'activité antifongique contre les souches toxigènes du genre *Aspergillus*, *A. parasiticus*, *A. flavus* et *A. alliaceus*, a été recherchée par la méthode de double couche avec les 5 souches de bactéries lactiques (Lab-L4/al et Lab-L5/al isolées à partir de couscous Lemzeiet, Lab-L1 et Lab-L8 isolées de l'ben artisanal et la souche Lab-M2/al isolée d'une pâte à pain après une fermentation spontanée).

Après une incubation de 7 jours en culture mixte de milieu YES et M17 agar, sous une température de 25°C, l'activité antifongique des bactéries lactiques a mis en évidence une action inhibitrice des champignons toxigènes testés. Les tests antifongiques *in vitro* ont permis d'estimer le potentiel inhibiteur des 5 bactéries vis-à-vis des 3 souches fongiques. Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne varient selon la souche de bactéries lactiques et sa concentration bactérienne ainsi que souche fongique. L'activité antifongique est apparue avec une concentration bactérienne de 10^{10} Cfu/mL pour les cinq souches (Fig 21, tableau XI et XVI). Cependant, les résultats des tests antifongiques dont la concentration bactérienne est de 10^5 Cfu/mL n'ont fourni aucun effet antagoniste sur la croissance des trois souches fongiques testées.

Résultats et discussion

Tableau XV: Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des trois souches fongiques par les bactéries lactiques à (10^{10} Cfu/mL).

Souches	Taux d'inhibition (%) \pm SD		
	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. alliaceus</i>
Lab-L4/al	50 \pm 6,4	12,94 \pm 3,33	6,42 \pm 0,94
Lab-L5/al	57,99 \pm 1,12	10,39 \pm 2,9	4,42 \pm 2,1
Lab-L1	35 \pm 7,25	14,31 \pm 2,23	7,9 \pm 4,3
Lab-L8	00	14,92 \pm 3,86	10 \pm 0,9
Lab-M2/al	00	16,29 \pm 1,9	1,93 \pm 2,04



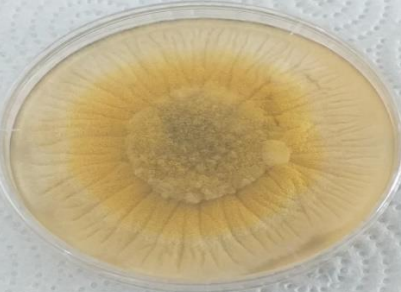












Les résultats du test antifongique, avec la concentration 10^{10} Cfu/mL des cellules bactériennes, ont montré une meilleure inhibition de 57,99 % et 50 % observée avec les souches Lab-L5/al et Lab-L4/al respectivement vis-à-vis d'*Aspergillus parasiticus* CBS 100926T. Un taux d'inhibition de 35 % a été obtenu avec la souche Lab-L1 contre la souche *A. parasiticus*. Cependant, les souches bactériennes Lab-M2/al et Lab-L8 n'ont exercé aucun effet inhibiteur contre cette souche fongique.

Le plus faible taux d'inhibition est estimé à 4,42 % est enregistré pour la souche Lab-L5/al vis-à-vis *Aspergillus alliaceus*. Le plus important pourcentage d'inhibition obtenu pour cette dernière a été enregistré avec la souche Lab-M2/al (12,93 %) suivi par Lab-L8 (10 %) puis les souches Lab-L4/al et Lab-L1 qui ont exercé un effet inhibiteur presque identique de 6,42 et 7,9 %.

Pour *A. flavus*, on a observé que les plus importants pourcentages d'inhibitions ont obtenus avec la souche Lab-M2/al avec 16,29 % suivi par les souches Lab-L8 et Lab-L1 qui ont présenté des taux d'inhibition très proches d'environ 14%. Les souches Lab-L4/al et Lab-L5/al ont exercé un effet inhibiteur de 12,94 % et 10,39 % respectivement.

Résultats et discussion

Tableau XVI : Effet antifongique des bactéries lactiques sur la croissance fongiques.

Souches	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Aspergillus alliaceus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
Témoin			
Lab-L4/al			
Lab-L5/al			
Lab-L1			
Lab-L8			

Résultats et discussion

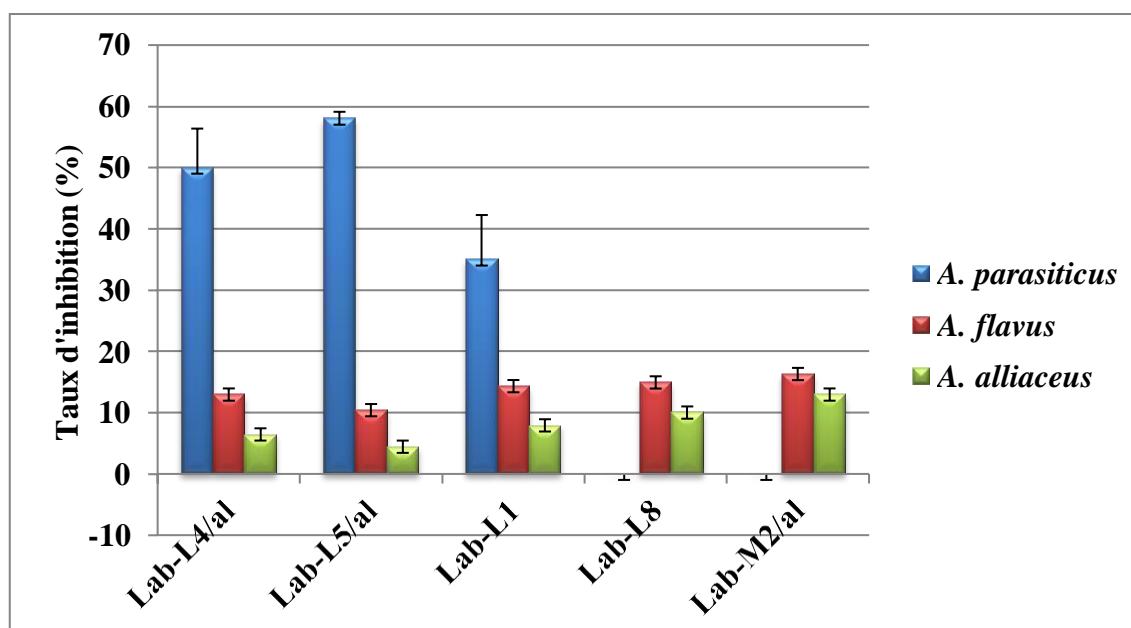
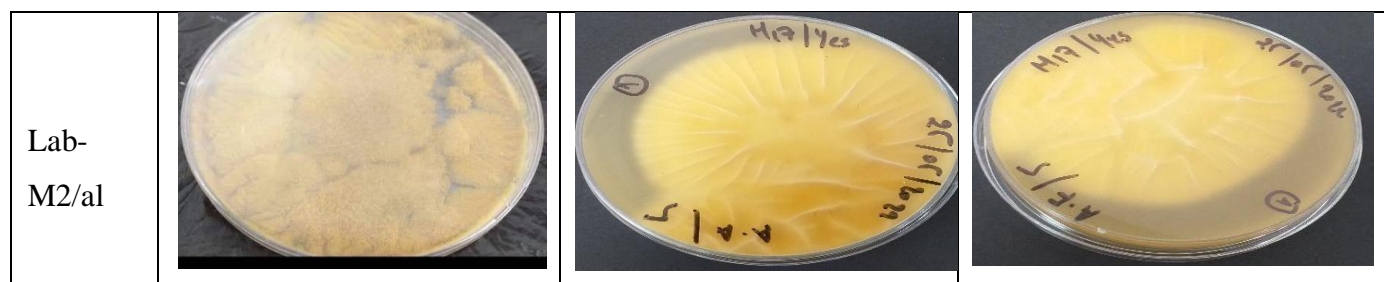


Figure 21 : Diagramme représentant les taux d'inhibition de la croissance mycélienne des trois champignons toxigènes par les bactéries lactiques à une concentration de 10^{10} Cfu/mL

II. Discussion générale

L'utilisation des bactéries lactiques comme un agents de biocontrôle est imposée comme une meilleure solution pour lutter contre la contamination des aliments par les champignons toxigènes et les mycotoxines (Perczak et al., 2018). Ces bactéries ont été sélectionnées parmi d'autres microorganismes par ce qu'elles se développent naturellement dans l'intestin humain, ce qui signifie qu'elles sont très sûrs et saines pour une utilisation dans les aliments. Wang et al. (2021) ont suggéré que les bactéries lactiques pourraient produire une variété de substances bénéfiques pour l'homme et améliorent la digestibilité des protéines dans les aliments et la valeur nutritionnelle des protéines alimentaires. Selon Nasrollahzadeh et al. (2022), l'application des bactéries lactiques dans les aliments peut réduire ou inhiber le développement des microorganismes pathogènes et/ou d'altération en améliorant ainsi la durée de conservation de l'aliment.

Résultats et discussion

Le blé est l'un des aliments les plus consommés dans le monde et en Algérie, et la contamination de cette céréale par les moisissures toxigènes constitue un problème majeur en raison de leurs effets néfastes sur la santé de l'homme et de l'animal. Au cours de cette étude, Cinq souches de bactéries lactiques isolées de différentes matrices alimentaires (Lab-L4/al et Lab-L5/al isolées à partir de couscous Lemzeiet, Lab-L1 et Lab-L8 isolées à partir de L'Ben artisanal et Lab-M2/al isolée à partir d'une pâte au levain naturel) ont été caractérisées par des propriétés morphologiques et identifiées par méthode API50 CHL, ainsi que leur capacité à inhiber ou réduire la croissance des moisissures productrices d'aflatoxines et d'ochratoxine A, isolés à partir de blé Algérien (*Aspergillus flavus* et *Aspergillus alliaceus*) et une souche de collection *Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T).

Les bactéries lactiques sont des bâtonnets ou des cocci Gram-positif, catalase négative, tolérants l'acide et non sporulées (Claesson et al., 2007). L'étude microscopique réalisée après coloration de Gram a révélé des cellules Gram positif, de forme cocci regroupées en courtes chainettes, en paires ou isolées. D'après les résultats du test de catalase, nos bactéries étant de catalase négative. On peut déduire que ce sont bien des bactéries lactiques. L'identification biochimique par galerie API50 CHL a identifié les souches isolées du l'ben artisanal Lab-L1 et Lab-L8 comme *Lactococcus lactis* spp *lactis* 1 avec un pourcentage d'identification de 83,2% et 53,4% respectivement. Nos résultats sont en concordance avec ceux des travaux de Garmasheva (2016) et Li et al. (2020) qui ont rapporté que les souches de *Lactococcus lactis* spp *lactis* ont présentes dans les produits laitiers fermentés. Les souches isolées de couscous Lemzeiet, Lab-L4/al et Lab-L5/al, appartiennent aux espèces *Lactococcus lactis* ssp *lactis* 2 et *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* avec un pourcentage d'identification de 87,2% et 39,8% respectivement. De même, Mahel et al. (2016) ont isolé des souches de *Lactococcus lactis* spp *lactis* et *Lactobacillus paracasei* spp *paracasei* de couscous Lemzeiet préparé à partir de blé fermenté en Algérie. La souche Lab-M2/al isolée à partir d'une pâte à pain fermentée spontanément, est identifiée comme *Weissella confusa* avec un pourcentage de 87,4%. Robert et al. (2009) ont identifié *Weissella confusa* comme microflore naturelle des pâtes au levain naturel.

Les résultats de l'effet antifongique ont montré que les souches bactériennes testées exercent un effet inhibiteur variable sur la croissance mycélienne des champignons utilisés. L'effet inhibiteur a été confirmé par la réduction de la taille des colonies des champignons sur le milieu de culture solide (YES). Laref (2014) a indiqué qu'après une confrontation directe entre cinq souches de *Lactobacillus* sp vis-à-vis *Aspergillus* sp, les résultats du test ont montré

Résultats et discussion

que les souches bactériennes ont inhibé la croissance des champignons avec des pourcentages d'inhibitions intéressants dont la meilleure inhibition a été de 42,55%.

Dans notre étude, la meilleure inhibition a été observée avec une concentration bactérienne de 10^{10} Cfu/mL avec les souches Lab-L5/al et Lab-L4/al (57,99 % et 50 % respectivement) suivi d'une inhibition de 35% exercée par la souche Lab-L1 contre *Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T). Par contre, 16,29 % et 12,93 % sont les pourcentages maximums d'inhibition obtenus avec *A. Flavus* et *A. alliaceus* respectivement enregistrés chez la souche Lab-M2/al. Merabti et al. (2019) ont signalé qu'au cours des différentes étapes de processus de fermentation du blé, les bactéries lactiques responsables de cette fermentation permettent la disparition de la flore fongique. Ainsi, Ouadghiri et al. (2009) ont souligné que les espèces bactériennes présentes dans le l'ben au cours de la fermentation augment l'acidité du lait et inhibent la croissance de plusieurs espèces microbiennes tels que les champignons toxigènes. Une étude similaire réalisée par Ben Taheur et al. (2019) a montré que *Lactobacillus kefir* FR7 exerce une inhibition de 51,67 % et 45,56 % sur la croissance de *A. flavus* et *A. carbonarius*.

Dans le but de connaître le mécanisme d'action par lequel les bactéries lactiques agissent sur les champignons toxigènes, Bulgasem et al. (2017) ont mené une étude sur les propriétés antifongiques des métabolites bioactifs produits par *Lactobacillus plantarum* et *Lactobacillus curvatus* isolées à partir des échantillons de miel vis-à-vis de certains champignons pathogènes. Les résultats de cette étude ont montrés que les bactéries lactiques produisent des métabolites secondaires qui peuvent inhiber la croissance fongique. Guimarães et al. (2017) ont suggéré que l'activité antifongique des bactéries lactiques pourrait résulter de l'action des acides organiques. En particulier, ces acides diffusent à travers la membrane des champignons toxigènes, libèrent des ions hydrogènes et provoquent une diminution du pH intracellulaire ce qui induit par la suite la mort cellulaire. Nasrollahzadeh et Mokhtar (2022) ont signalé que l'acide lactique est le principal métabolite antifongique associé au faible pH par ce qu'il est sécrété à concentration importante pendant l'activité antifongique des bactéries lactiques. En plus des acides organiques, d'autres composés antifongiques tels que les acides gras, sont décrits par plusieurs études comme les principaux métabolites antifongiques s'introduisant dans les membranes fongiques grâce à leurs propriétés lipophiles, sont déterminés.

Conclusion et perspective

Conclusion et perspective

Les bactéries lactiques ont présenté un potentiel en tant qu'agent de biocontrôle pour réduire ou inhiber la prolifération des champignons toxigènes et la production des mycotoxines dans les aliments. L'utilisation de ces bactéries dans la préservation et la détoxification des aliments contaminés semblait être une solution parfaite qui remplace l'utilisation des agents chimiques et physiques qui peuvent être dangereux pour la santé humaine.

La présente étude a pour objectif d'encourager l'utilisation des approches biologiques basée sur l'application des bactéries lactiques pour réduire la contamination des aliments et de pallier aux insuffisances de la lutte chimique et physique. Cinq souches de bactéries lactiques isolées de différentes matrices alimentaires ont été évaluées par leur capacité à réduire la croissance des moisissures productrices d'aflatoxines et d'ochratoxine A : *Aspergillus flavus* et *Aspergillus alliaceus* et une souche de collection *Aspergillus parasiticus* (CBS 100926T), par confrontation directe en utilisant la technique de double couche. Les résultats obtenus par cette étude suggèrent que les souches bactériennes testées peuvent être exploitées dans des approches biologiques pour réduire la prolifération des champignons toxigènes ainsi que la production des mycotoxines dans les produits alimentaires.

En perspective, et pour avoir des résultats plus réalistes, il serait intéressant :

- D'étudier l'influence des LAB en synergie sur les champignons toxigènes.
- Le développement de produits biofongicides basés sur des bactéries lactiques pour lutter contre les souches toxigènes.
- Le développements de biopesticides formés à partir de métabolites à potentiel antifongicides produits a partir des bactéries.
- Identification moléculaire des bactéries lactiques.

Références bibliographiques

Abranches, J., Zeng, L., Kajfasz, J. K., Palmer, S. R., Chakraborty, B., Wen, Z. T., & Lemos, J. A. (2018). Biology of oral streptococci. *Microbiology spectrum*, 6(5) : 6-5.
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0042-2018>

Achar, PN, & Sreenivasa, MY (2021). Perspectives actuelles des agents de lutte biologique pour la gestion de *Fusarium verticillioides* et de sa fumonisine dans les céréales - Une revue. *Journal des champignons*, 7 (9) :77-86. <https://doi.org/10.3390/jof7090776>

Adeyeye, S. A. (2016). Fungal mycotoxins in foods: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), 1213127. <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1213127>

Agriopoulou, S., Eygenia, S et Theodoros, V. (2020). Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. *Foods* 9 (2): 137. <https://doi.org/10.3390/foods9020137>

Agriopoulou, S., Koliadima, A ; Karaiskakis, G et Kapolos J. (2016). Kinetic Study of Aflatoxins' Degradation in the Presence of Ozone. *Food Control* 61: 221-226. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.013>

Ainsworth, S., Stockdale, S., Bottacini, F., Mahony, J., & van Sinderen, D. (2014). The *Lactococcus lactis* plasmidome: much learnt, yet still lots to discover. *FEMS microbiology reviews*, 38(5) : 1066-1088. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12074>

Alberts Willem, H., Johanna, F., H. Van, Z et Wentzel C. A. G. (2016). Biologically Based Methods for Control of Fumonisin-Producing *Fusarium* Species and Reduction of the Fumonisin. *Frontiers in Microbiology* 7 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00548>

Alshannaq, A ; et Jae-Hyuk, Y. (2017). Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(6): 632. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060632>

Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker*, 139 : 1-66.

Azevedo, P. O. D. S., Converti, A., Gierus, M., & Oliveira, R. P. D. S. (2019). Antimicrobial activity of bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Pediococcus pentosaceus*: from shakeflasks to bioreactor. *Molecular biology reports*, 46(1) : 461-469. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4495-y>

Battilani, P., Palumbo, R., Giorni, P., Dall'Asta, C., Dellafiora, L., Gkrillas, A., Toscano, P., Crisci, A., Brera, C., De Santis, B., Rosanna Cammarano, R., Della Seta, M., Campbell, K., Elliot, C., Venancio, A., Lima, N., Gonçalves, A., Terziolo, C., & Oswald, P. (2020). Mycotoxin mixtures in food and feed: holistic, innovative, flexible risk assessment modelling approach: *EFSA Supporting Publications*, 17(1). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2020.EN-1757>

Références bibliographiques

- Ben Taheur, F., Chalbi, M., Bochra, K., et Kamel, C. (2019). Use of lactic acid bacteria for the inhibition of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus carbonarius* growth and mycotoxin production. *Toxicon* 166 (août): 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.05.004>.
- Benkerroum, N. (2020). Toxicités chroniques et aiguës des aflatoxines : mécanismes d'action. *Revue internationale de recherche environnementale et de santé publique* , 17 (2) : 423. <https://doi.org/10.3390/ijerph17020423>
- Benakriche, B.M ; Benabdelmoumene, D; Mortet, A. (2016). Lactic acid bacteria diversity in the fermented wheat hamoum in west algeria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 15(7), 639–648 Benkerroum, Noreddine. 2020. Chronic and Acute Toxicities of Aflatoxins: Mechanisms of Action. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (2): 423 [.https://doi.org/10.3390/ijerph1702042](https://doi.org/10.3390/ijerph1702042)
- Benmouna, Z. (2012). Bactériocines des bactéries lactiques: Etude biochimique et génétique. Thèse de doctorat. Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella. Algérie.
- Bhatnagar-Mathur, P., Sunkara, S., Bhatnagar-Panwar, M., Waliyar, F., & Sharma, K.(2015). Biotechnological advances for combating *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in crops. *Plant Science*, 234 : 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.02.009>
- Bourel, B., Fleurisse, L., Hédouin, V., Cailliez, J. C., Creusy, C., Gosset, D., & Goff, M.(2001). Immunohistochemical contribution to the study of morphine metabolism in Calliphoridae larvae and implications in forensic entomotoxicology. *Journal of Forensic Science*, 46(3) : 596-59. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.02.009>
- Bulgasem Y.B., Mohd Nizam., L, Zaiton, H., Wan Mohtar, W Y et Sumaya, G. Fnaish. (2016). Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Natural Honey against Pathogenic *Candida Species*. *Mycobiology* 44 (4): 302-9. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2016.44.4.302>
- Carre, F J ,Chill D, Maida , N , (2002). The lactic acid bacteria : a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology* (28) :281-370.
- Chakraborty, S., & Newton, A. C. (2011). Climate change, plant diseases and food security: An overview. *Plant Pathology*, 60(1) : 2–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02411.x>
- Chang, J., Wang, T., Wang, P., Yin, Q., Liu, C., Zhu, Q., Lu, F., & Gao, T. (2020). Compound probiotics alleviating aflatoxin B1 and zearalenone toxic effects on broiler production performance and gut microbiota. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, (194) : 110-420. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110420>
- Chulze, S. N. (2010). Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: A review. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 27(5) : 651–657. <https://doi.org/10.1080/19440040903573032>
- Claesson, M.J., Sinderen, D.V et O'Toole, P.W. (2007). The genus *Lactobacillus* a genomic basis for understanding its diversity. *FEMS Microbiology Letters* 269 (1): 22-28. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00596.x>

Références bibliographiques

- Condon, S. (1987). Réactions des bactéries lactiques à l'oxygène, 22. *FEMS Microbiology Reviews*, 46 : 269-280.
- Djaaboub, S., Moussaoui, A., Meddah, B., Makhloufi, S., Gouri, S., & El Khatib, R. (2018). Antifungal activity of some indigenous lactic acid bacteria isolated from soft wheat. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(1) : 111–118. <https://doi.org/10.22207/JPAM.12.1.14>
- Dalié, D. K. D., Deschamps, A. M., & Richard-Forget, F. (2010). Lactic acid bacteria—Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food control*, 21(4) : 370-380. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.011>
- Delavenne, E. (2019). Propriétés antifongiques de bactéries lactiques isolées de laits crus. Microbiologie et Parasitologie .thèse doctorat Université de Bretagne occidentale. Brest. France.
- Demjanová, S., Jevinová, P., Pipová, M et Regecová, I. (2020). Identification of *Penicillium verrucosum*, *Penicillium commune*, and *Penicillium crustosum* Isolated from Chicken Eggs. *Processes* 9 (1): 53. <https://doi.org/10.3390/pr9010053>
- Edah, L., Ezin, C., Belco, A.L., Adda, C., Vissienon, C et Vissienon, Z. (2021). *Mycotoxines : Effets Sur La Santé Humaine* 24(2): 24. 512-530.
- Eddine, SD, Yasmine, S., Fatima, G., Amina, Z., Battache, G., & Mebrouk, K. (2021). Activité antifongique et antibactérienne de quelques lactobacilles isolés du biotope du lait de chamelle dans le sud de l'Algérie. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021 :871-877. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018-19.8.3.871-877>
- Edel-Hermann, V., et Lecomte, C. (2019). Current Status of *Fusarium oxysporum* *Formae Speciales* and Races. *Phytopathology*® 109 (4): 512-530. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0320-RVW>
- Elise, M. (2015). Aspergillose aviaire : Développement d'un modèle d'aspergillose chez la dinde (*Meleagris gallopavo*) et évaluation de l'efficacité de l'énilconazole. Thèse de doctorat. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement de Paris. France.
- Elsanhoty, R. M., Ramadan, M. F., El-Gohery, S. S., Abol-Ela, M. F., & Azeke, M. A. (2013). Ability of selected microorganisms for removing aflatoxins invitro and fate of aflatoxins in contaminated wheat during baladi bread baking. *Food Control*, 33(1) : 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.002>
- Gandía, M., Anant, K., Moisés, Giner, L., Jeanett H., Martínez-Culebras, P., Florentine, M., Jose, F., et Paloma, M. (2021). Potential of Antifungal Proteins (AFPs) to Control *Penicillium*. <https://doi.org/10.3390/jof7060449>
- García-Solache, M., & Rice, L. B. (2019). The Enterococcus: a model of adaptability to its environment. *Clinical microbiology reviews*, 32(2) : 58-68. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-18>

Références bibliographiques

- Garmasheva, I. (2016). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Ukrainian traditional dairy products. *AIMS Microbiology*, 2(3) : 372–387.
- Ghazvini, R. D., Kouhsari, E., Zibafar, E., Hashemi, S. J., Amini, A., & Niknejad, F. (2016). Antifungal Activity and Aflatoxin Degradation of *Bifidobacterium Bifidum* and *Lactobacillus Fermentum* Against Toxicogenic *Aspergillus Parasiticus*. *The Open Microbiology Journal*, 10(1) : 197–201. <https://doi.org/10.2174%2F1874285801610010197>
- Goldstein, E. J., Tyrrell, K. L., & Citron, D. M. (2015). *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, (60) : 98-107. <https://doi.org/10.1093/cid/civ072>
- Gonçalves, A., Gkrillas, A., Dorne, J. L., Dall'Asta, C., Palumbo, R., Lima, N., Battilani, P., Venâncio, A., & Giorni, P. (2019). Pre- and Postharvest Strategies to Minimize Mycotoxin Contamination in the Rice Food Chain. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2) : 441–454. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12420>
- Guathier, A. (2016). Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé .Thèse de doctorat. Sciences pharmaceutiques. Université de Bordeaux. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12420>
- Guetouache, M. (2021). Ecologie des bactéries lactiques des produits laitiers fermentés traditionnels et leur caractérisation biotechnologique. Thèse doctorat. Microbiologie fondamentale et appliquée. Université d'Oran .Algérie
- Guezlane, N., Noureddine, B., & Didi, O. (2016). Les mycotoxines: un danger de santé public. *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"* : 6(1).
- Guillot, N. (1958). Production by *Lactobacillus acidophilus* of a Substance active against *Candida albicans*. *Ann. Inst. Pasteur*, 95(2) : 194–207. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12420>
- Guimarães, A., Venancio, A., & Abrunhosa, L. (2018). Effet antifongique des acides organiques des bactéries lactiques sur *Penicillium nordicum*. *Additifs alimentaires et contaminants : partie A* , 35 (9) : 1803-1818. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1500718>
- Harlé, O. (2020). Identification des interactions positives entre bactéries lactiques en fermentation de jus de soja. Thèse doctorat. Géosciences Agronomies Alimentaires .INSTITUT AGRO|AGROCAMPUS OUEST, France.
- Hassan, Z. U., AlThani, R., Balmas, V., Migheli, Q., & Jaoua, S. (2019). Prevalence of *Fusarium* fungi and their toxins in marketed feed. *Food Control*, 104 : 224-230. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.04.045>
- Heilbronner, S., Bernhard, K., Brötz, O., & Andréas, P. (2021). Les rôles des bactériocines dans la formation du microbiome. *Institut interfacultaire de microbiologie et de médecine infectieuse* ,14.

Références bibliographiques

- Hernandez-Mendoza, A., Guzman-de-Peña, D., & Garcia, HS. (2009). Rôle clé des acides teichoïques sur la liaison de l'aflatoxine B1 par les bactéries probiotiques. *Tourillon de microbiologie appliquée*, 107 (2) : 395-403. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04217.x>
- Hernandez-Valdes, J. A., Solopova, A., & Kuipers, O. P. (2020). Development of *Lactococcus lactis* biosensors for detection of diacetyl. *Frontiers in microbiology*, 11 :10-32. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01032>
- Hervé, A., Cosette, G., Michèle, G., Fabienne, B., & Raphaëlle, M. (2008). Les bactéries lactiques en œnologie. Lavoisier.
- Heussner, A., et Lewis, B. (2015). Comparative Ochratoxin Toxicity: A Review of the Available Data. *Toxins* 7 (10): 4253-82. <https://doi.org/10.3390/toxins7104253>
- Horackova, S., Novakova, T., Slukova, M., Bialasova, K., Kumherova, M., & Plockova, K. (2018). Antifungal activity of selected lactobacilli intended for sourdough production. *Applied Food Biotechnology*, 5(4) : 213–220.
- IARC. (2012). Mycotoxins and human health. *IARC Scientific Publications*, 158 : 87–104. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1357003>
- Ismail, A., Gonçalves, B. L., de Neeff, D. V., Ponzilacqua, B., Coppa, C. F. S. C., Hintzsche, H., Sajid, M., Cruz, A. G., Corassin, C. H., & Oliveira, C. A. F. (2018). Aflatoxin in foodstuffs: Occurrence and recent advances in decontamination. *Food Research International*, 113(July) : 74–85. <https://doi.org/10.3920/WMJ2017.2290>
- Jampílek, J., & Králová, K. (2020). Impact des nanoparticules sur les champignons toxigènes. Dans *Nanomycotoxicologie* (pp : 309-348). Presse académique. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817998-7.00014-8>
- Kavitake, D., Singh, S. P., Kandasamy, S., Devi, P. B., & Shetty, P. H. (2020). Report on aflatoxin-binding activity of galactan exopolysaccharide produced by *Weissella confusa* KR780676. *3 Biotech*, 10(4) : 3–6.
- Khelissa, S., Chihib, N. E., & Gharsallaoui, A. (2021). Conditions of nisin production by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* and its main uses as a food preservative. *Archives of Microbiology*, 203(2) : 465-480.
- Khider, M., & Elbanna, K. (2017). Extending the shelf life of Camembert cheese via controlling over-ripening by bacteriocin of newly lactic acid bacterial isolate LAB100. *Int.J.Nutr. and Food Sci*, 6 : 88-98. <http://10.11648/j.ijnfs.20170602.15>
- Kleerebezem, M., Bachmann, H., van Pelt-KleinJan, E., Douwenga, S., Smid, E. J., Teusink, B., & van Mastrigt, O. (2020). Lifestyle, metabolism and environmental adaptation in *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(6) : 804-820. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa033>
- Kostic, A., Danijel, D., Tanja, S., Vesna, S., Sladjana, P., S., et Mirosljub, B. (2019). Mycotoxines et champignons producteurs de mycotoxines dans Pollenÿ: *examen*, 20.

Références bibliographiques

- Kumar, V., Bahuguna, A., Ramalingam, S., Dhakal, G., Shim, JJ et Kim, M. (2022). Progrès technologiques récents dans le mécanisme, la toxicité et les perspectives alimentaires de la dégradation de l'aflatoxine à médiation enzymatique. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* , 62 (20), 5395-5412. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2010647>
- Kumariya, R., Garsa, AK, Rajput, YS, Sood, SK, Akhtar, N. et Patel, S. (2019). Bactériocines : classification, synthèse, mécanisme d'action et développement de la résistance chez les bactéries responsables de la détérioration des aliments. *Pathogénèse microbienne*, 128 : 171-177. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.002>
- Lahouar, A. (2016). Mycotoxines et champignons mucotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie : incidence et profils écophysiologiques. Thèse de doctorat. Sciences biologiques et biotechnologie. Institut supérieur de biotechnologie de Monastir.
- Leyral G et Joffin J.N. (2001). Microbiologie technique. Tome 2. Document technique 2^{ème} édition. CRDP De Bordeaux.
- Karaduman, A., Ozaslan, M. O., Kilic, I. H., Bayil-Oguzkan, S., Kurt, B. S., & Erdogan, N. (2017). Identification by using MALDI-TOF mass spectrometry of lactic acid bacteria isolated from non-commercial yogurts in southern Anatolia, Turkey. *International Microbiology*, 20(1) :25-30.
- Laref, N.(2014). L'étude de l'activité antifongique des lactobacilles et leurs effets sur la croissance d'*Aspergillus* sp. Thèse de doctorat, contrôle microbiologique et hygiène alimentaire. Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.
- Lee, S. H., & Chang, H. C. (2016). Isolation of antifungal activity of *Leuconostoc mesenteroides* TA from kimchi and characterization of its antifungal compounds. *Food Science and Biotechnology*, 25(1) : 213–219. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0032-8>
- Li, L., Yang, B., Humza, M., Geng, H., Wang, G., Zhang, C., ... & Liu, Y. (2021). Une nouvelle souche *Lactobacillus brevis* 8-2B inhibant la croissance d'*Aspergillus carbonarius* et la production d'ochratoxine A. *LWT*, 136 : 110-308. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110308>
- Luz, C., Saladino, F., Luciano, F. B., Mañes, J., & Meca, G. (2017). In vitro antifungal activity of bioactive peptides produced by *Lactobacillus plantarum* against *Aspergillus parasiticus* and *Penicillium expansum*. *LWT - Food Science and Technology*, 81 : 128– 135. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.053>
- Ma, LJ., Geiser, DM., Proctor, RH., Rooney, AP., O'Donnell, K., Trail, F., et Kazan, K.(2013). Pathogénie du *Fusarium*. *Revue annuelle de microbiologie*, 67 : (399)- 416. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650>
- Mahato, DK, Lee, KE, Kamle, M., Devi, S., Dewangan, KN, Kumar, P. et Kang, SG (2019). Aflatoxines dans l'alimentation humaine et animale : un aperçu des stratégies de prévalence, de détection et de contrôle. *Frontières en microbiologie*, (10) : 22-66. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02266>

Références bibliographiques

Martinez, député, Magnoli, AP, Pereyra, MG et Cavaglieri, L. (2019). Les bactéries probiotiques et les levures adsorbent l'aflatoxine M1 dans le lait et la dégradent en métabolites AFM1 moins toxiques. *Toxicon* , 172 : 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.10.001>

MATAMOROS, S.(2008). Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments. Étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid. Thèse doctorat. Sciences alimentaire Université de Nantes. France.

Mazumder, PM, & Sasmal, D. (2001). Mycotoxines – limites et réglementations. *Ancienne science de la vie* , 20 : 3-11.

McCormick, S. P. (2013). Microbial detoxification of mycotoxins. *Journal of chemical ecology*, 39(7) : 907-918. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0321-0>

Merabti, R., Madec, MN, Chuat, V., Becila, FZ, Boussekine, R., Bekhouche, F., & Valence, F. (2019). Premier aperçu des caractéristiques technologiques des bactéries lactiques isolées du lemzeiet de blé fermenté algérien. *Microbiologie actuelle* , 76 (10): 1095-1104.

Miklós, G., Angeli, C., Ambrus, Á., Nagy, A., Kardos, V., Zentai, A., ... & Bartók, T. (2020). Détection des aflatoxines dans différentes matrices et positions de la chaîne alimentaire. *Frontières en microbiologie*, 11 : 19-16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01916>

Milind, H , Gajbhiye et Balu, P. K. (2016) . Antifungal-activity-producing lactic acid bacteria as biocontrol agents in plants. *Biocontrol Science and Technology* 26 (11): 1451-1470.
<https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1213793>

Møller, CODA, Freire, L., Rosim, RE, Margalho, LP, Balthazar, CF, Franco, LT, ... & Oliveira, CAFD (2021). Effet des souches de bactéries lactiques sur le potentiel de croissance et de production d'aflatoxines d'*Aspergillus parasiticus*, et leur capacité à lier l'aflatoxine B1, l'ochratoxine A et la zéaralénone in vitro. *Frontières en microbiologie*, 12 : 255-386. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.655386>

Moss, M. O. (1996). Mycotoxins. *Mycological Research*, 100(5), 513–523.
Muhialdin, Belal J., Nazamid Saari, et Anis Shobirin Meor Hussin. 2020. Review on the Biological Detoxification of Mycotoxins Using Lactic Acid Bacteria to Enhance the Sustainability of Foods Supply . *Molecules* 25 (11): 2655
<https://doi.org/10.3390/molecules25112655>

Muhialdin, BJ, Saari, N., & Meor Hussin, AS (2020). Examen de la détoxification biologique des mycotoxines à l'aide de bactéries lactiques pour améliorer la durabilité de l'approvisionnement Alimentaire. *Molécules*, 25 (11) : 2655. <https://doi.org/10.3390/molecules25112655>

Nasrollahzadeh, A., et Mokhtar, S . (2022). Conservation antifongique des aliments par les bactéries lactiques- une revue. *Nourriture*, 18.

Références bibliographiques

- Nayyeri, N., Edalatian Dovom, M. R., Habibi Najafi, M. B., & Bahreini, M. (2017). A Preliminary study on antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from different production stages of Lighvan cheese on *Penicillium expansum* and *Rhodotorula mucilaginosa*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4) : 1734–1744.
<https://doi.org/10.1007/s11694-017-9554-x>
- Nazareth, T., Luz, C., Torrijos, R., Quiles, J., Bittencourt, F., Manes, J., et Meca, G. (2020). Application potentielle des bactéries lactiques à Réduire laprésence d'aflatoxine B1 et de fumonisine B1 sur Grains de maïs et épis de maïs, 16.
- Ortiz, V., Olga, L. (2021) . Ochratoxins in Wines: A Review of Their Occurrence in the Last Decade, Toxicity, and Exposure Risk in Humans. Une revue .*Toxines* 2021, 13 : 47-48 .
- Ouadghiri, M., Vancanneyt, M., Vandamme, P., Naser, S., Gevers, D., Lefebvre, K., & Amar, M. (2009). Identification des bactéries lactiques dans le lait cru marocain et le lait écrémé traditionnellement fermenté "lben". *Tourillon de microbiologie appliquée* , 106 (2) : 486-495.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.04016.x>
- Pankaj, S. K., Shi, H., & Keener, K. M. (2018). A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food. *Trends in Food Science and Technology*, 71(January 2017) : 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.007>
- Park, H. S., Jun, S. C., Han, K. H., Hong, S. B., & Yu, J. H. (2017). Diversity, application, and synthetic biology of industrially important *Aspergillus* fungi. *Advances in applied microbiology*, 100 :161-202.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.007>
- Pellan, L., Noël, D., Véronique, M., Angélique, F., et Sabine, S. (2020). Les agents de biocontrôle commerciaux révèlent des contrastes Comportements contre deux champignons mycotoxigènes dans Céréales : *Fusarium Graminearum* et *Fusarium Verticillioides*, 22
- Perczak, A., Goliński, P., Bryła, M. et Waśkiewicz, A. (2018). L'efficacité des bactéries lactiques contre les champignons pathogènes et les mycotoxines. *Arhiv za higijenu radai toksikologiju*, 69 (1),32-44.
<https://doi.org/10.2478/aiht-2018-69-3051>
- Perrone, G., et Antonia S. (2017). *Penicillium Species and Their Associated Mycotoxins* ». In *Mycotoxigenic Fungi*, édité par Antonio Moretti et Antonia Susca, 1542:107-19. *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York.
- Pimenta, RS, dos S. (2020). *Aspergillus*. Dans *Microbes bénéfiques en agro-écologie* (pp : 611-624). Presse académique.
- Piotrowska, M., & Zakowska, Z. (2000). The biodegradation of ochratoxin A in food products by lactic acid bacteria and baker's yeast. *Progress in Biotechnology*, 17(C) :307–310.
[https://doi.org/10.1016/S0921-0423\(00\)80085-4](https://doi.org/10.1016/S0921-0423(00)80085-4)
- Pleadina, J., Jadranka, F., et Ksenija, M. (2019). Mycotoxines dans l'alimentation humaine et animale, 49.
- Demjanová, S., Jevinová, P., Pipová, M., & Regecová, I. (2020). Identification de *Penicillium verrucosum*, *Penicillium commune* et *Penicillium crustosum* isolés d'œufs de poule. *Processus*, 9 (1) : 53.
<https://doi.org/10.3390/pr9010053>

Références bibliographiques

- Puel, O., Galtier, P., & Oswald, IP (2010). Biosynthèse et effets toxicologiques de la patuline. *Toxines* (2) : 613–631. <https://doi.org/10.3390/toxins2040613>
- Qu, L., Wang, L., Ji, H., Fang, Y., Lei, P., Zhang, X., ... & Dong, H. (2022). Mécanisme toxique et détoxification biologique des fumonisines. *Toxines*, 14 (3) : 182. <https://doi.org/10.3390/toxins14030182>
- Rai, A., Das, M., & Tripathi, A. (2020). Présence et toxicité d'une mycotoxine fusarienne, la zéaralénone. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (16) : 2710-2729. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1655388>
- Riba, A., Bouras, N., Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2010). Aspergillus section Flavi et aflatoxines dans le blé algérien et les produits dérivés. *Toxicologie alimentaire et chimique* , 48 (10) :2772-2777. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.005>
- Riba, A., Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2008). Mycoflore et ochratoxine A productrices de souches d'Aspergillus dans le blé algérien. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 122 (1-2) : 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.057>
- Robert, H., Gabriel, V., & Fontagné-faucher, C. (2009). Biodiversity of lactic acid bacteria in French wheat sourdough as determined by molecular characterization using species- specific PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 135 :53–59. <https://doi.org/10.1021/jf902068t>
- Rodríguez-Bencomo, JJ, Sanchis, V., Viñas, I., Martín-Belloso, O., & Soliva-Fortuny, R. (2020). Formation de conjugués patuline-glutathion induite par la lumière pulsée : une stratégie provisoire pour la dégradation de la patuline dans les jus de pomme. *Chimie alimentaire*, 315 :126-283. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126283>
- Rogowska, A., Pomastowski, P., Sagandykova, G., & Buszewski, B. (2019). Zearalenone and its metabolites: Effect on human health, metabolism and neutralisation methods. *Toxicon*, 162 : 46-56.. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.03.004>
- Russo, P., Arena, M. P., Fiocco, D., Capozzi, V., Drider, D., & Spano, G. (2017). *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. *International Journal of Food Microbiology*, 247 : 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.027>
- Saladino, F., Luz, C., Manyes, L., Fernández-Franzón, M. et Meca, G. (2016). Activité antifongique in vitro des bactéries lactiques contre les champignons mycotoxigènes et leur application dans l'amélioration de la durée de conservation du pain de mie. *Contrôle alimentaire*, 67 :273-277. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.012>
- Schnürer, J., & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3) : 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>
- Schubert, M., Spiegel, H., Schillberg, S. et Nölke, G. (2018). Anticorps spécifiques d'Aspergillus - cibles et applications. *Progrès de la biotechnologie*, 36 (4) :1167-1184. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.016>
- Shanakhat, H., Sorrentino, A., Raiola, A., Romano, A., Masi, P. et Cavella, S. (2018). Méthodes actuelles d'analyse des mycotoxines et stratégies innovantes pour leur réduction dans les céréales : un aperçu. *Journal des sciences de l'alimentation et de l'agriculture*, 98 (11) : 4003-4013. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8933>

Références bibliographiques

Sheikh-Zeinoddin, M., & Khalesi, M. (2019). Biological detoxification of ochratoxin A in plants and plant products. *Toxin Reviews*, 38(3) : 187–199.

<https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1452264>

Singleton P. (2005). Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et la bactériologie. 6^{ème} édition. Dunod-Paris : 480-490.

Simões, D., Aranha Caetano, L., Veríssimo, C., Viegas, C., & Sabino, R. (2021). Aspergillus collectés dans des environnements intérieurs spécifiques : leur identification moléculaire et leur profil de sensibilité. *Journal international de recherche en santé environnementale*, 31 (3) : 257. <https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1650903>

Srinivasan, R., Prabhu, G., Prasad, M., Mishra, M., Chaudhary, M. et Srivastava, R. (2020). Pénicillium. Dans *Microbes bénéfiques en agro-écologie* (pp. 651-667). Presse académique

Taale, E., Savadogo, A., Zongo, C., Tapsoba, F., Karou, S. D., & Traore, A. S. (2016). Les peptides antimicrobiens d'origine microbienne: cas des bactériocines. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(1) : 384-399. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v10i1.29>

Taniwaki, M. H., Pitt, J. I., Copetti, M. V., Teixeira, A. A., & Iamanaka, B. T. (2019). Understanding mycotoxin contamination across the food chain in Brazil: Challenges and opportunities. *Toxins*, 11(7) : 411. <https://doi.org/10.1128/9781555819972.ch22>

Tantaoui-Elaraki, A., Riba, A., Oueslati, S., & Zinedine, A. (2018). Toxigenic fungi and mycotoxin occurrence and prevention in food and feed in northern Africa – A review. *World Mycotoxin Journal*, 11(3) : 385–400. <https://doi.org/10.3920/WMJ2017.2290>

Tao, Y., Xie, S., Xu, F., Liu, A., Wang, Y., Chen, D., ... & Yuan, Z. (2018). Ochratoxine A : Toxicité, stress oxydatif et métabolisme. *Toxicologie alimentaire et chimique*, 112 :320-331. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.002>

Terzi, V., Tumino, G., Stanca, A. M., & Morcia, C. (2014). Reducing the incidence of cereal head infection and mycotoxins in small grain cereal species. *Journal of Cereal Science*, 59(3) : 284–293. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.10.005>

Tirado, M. C., Clarke, R., Jaykus, L. A., McQuatters-Gollop, A., & Frank, J. M. (2010). Climate change and food safety: A review. *Food Research International*, 43(7) :1745– 1765. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.006>

Topcu, A., Bulat, T., Wishah, R., & Boyacı, I. H. (2010). Detoxification of aflatoxin B1 and patulin by *Enterococcus faecium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 139(3) : 202–205. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.006>

Valerio, F., Di Biase, M., Lattanzio, V. M. T., & Lavermicocca, P. (2016). Improvement of the antifungal activity of lactic acid bacteria by addition to the growth medium of phenylpyruvic acid, a precursor of phenyllactic acid. *International Journal of Food Microbiology*, 222 : 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.01.011>

Références bibliographiques

Varsha, K. K., Nishant, G., Sneha, S. M., Shilpa, G., Devendra, L., Priya, S., & Nampoothiri, K. M. (2016). Antifungal, Anticancer and Aminopeptidase Inhibitory Potential of a Phenazine Compound Produced by *Lactococcus* BSN307. *Indian Journal of Microbiology*, 56(4) :411–416.

Von Hertwig, AM, Iamanaka, BT, Neto, DPA, de Rezende, JB, Martins, LM, Taniwaki, MH et Nascimento, MS (2020). Interaction d'*Aspergillus flavus* et d'*A. parasiticus* avec *Salmonella* spp. isolé des cacahuètes. *Tourillon international de microbiologie alimentaire* , 328 : 108-666. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108666>.

Wan, J., Chen, B., & Rao, J. (2020). Occurrence and preventive strategies to control mycotoxins in cereal-based food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(3) : 928-953. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12546>

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., & Geng, W. (2021). Caractéristiques du métabolisme des bactéries lactiques et applications en expansion dans l'industrie alimentaire. *Frontières en bioingénierie et biotechnologie*, 378.

White, AV, Wambui, DW et Pokhrel, LR (2021). Évaluation des risques du diacétyl inhalé lié à l'utilisation de la cigarette électronique chez les adolescents et les adultes. *Science de l'environnement total* ,772 :145-486. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145486>

Wu, Q., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V., and Kuca, K. (2009). Biological Degradation of aflatoxins. *Drug Metab. Rev.* 41 : 1–7. <https://doi.org/10.1080/03602530802563850>

Zebiri, S., Mokrane, S., Verheecke-Vaessen, C., Choque, E., Reghioui, H., Sabaou, N., Mathieu, F., & Riba, A. (2019). Occurrence of ochratoxin A in Algerian wheat and its milling Derivatives. *Toxin Reviews*, 38(3) : 206–211. <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1438472>

Zhang, Z., Xu, W., Wu, H., Zhang, W. et Mu, W. (2019). Identification d'une enzyme puissante pour la détoxification de la zéaralénone. *Journal de chimie agricole et alimentaire* , 68 (1) : 376-383. <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00089-2>

Zheng, X., Wei, W., Zhou, W., Li, H., Rao, S., Gao, L. et Yang, Z. (2021). Prévention et détoxification de la patuline dans la pomme et ses dérivés : un bilan. *Recherche alimentaire internationale*, 140 : 110-134. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110034>

Annexe

Annexe 1

Milieu PDA

Laver et couper la pomme de terre en petit morceau, les mettre dans 700 ml de l'eau et porter à l'ébullition, ensuite filtrer et compléter avec :

Composition	Quantité
agar	10g
glucose	15g
Eau distillée	1L

Autoclavage 115°C pendant 20min

Annexe 2

Milieu YES agar

Composition	Quantité
Extrait de levure	20g
Sucre	150g
MgSO ₄	0,5g
agar	20g
Eau distillée	1L

Autoclavage 115°C pendant 20min

Annexe 3

Milieu M17 agar

Composition	Quantité
Tryptone	2,5g
Peptone pepsique de viande	2,5g
Peptone papainique de soja	5g
Extrait de viande	5g
Lactose	5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Sulfate de magnésium	0,25
Acide ascorbique	0,5g
Agar bactériologique	15g
L'eau distillée	1L

Autoclavage 115°C pendant 20min

Annexe

Annexe 4

Milieu M17 bouillon

Composition	Quantité
Tryptone	2,5g
Peptone pepsique de viande	2,5g
Peptone papainique de soja	5g
Extrait de levure	2,5g
Extrait de viande	5g
Lactose	5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Sulfate de magnésium	0,25g
Acide ascorbique	0,5g
L'eau distillée	1L

Autoclavage 115°C pendant 20min

Annexe 5

Eau physiologique

Composition	Quantité
NaCl	9g
Eau distillée	1L

Annexe 6

Eau distillée avec tween 80

Composition	Quantité
Tween 80	1ml
Eau distillée	1L

Autoclavage 115°C pendant 20min

Annexe 7

Solutions et réactifs

- Eau distillée
- Violet de gentiane
- Solution de lugol
- La fuchsine
- Huile à immersion
- Tween 80
- NaCl

Annexe

- Bleu de coton
- Gélose M17 (Biokar, BK088HA, France)

- Bouillon M17 (Biokar, BK012HA France)
- Milieu PDA (annexe 1)
- Milieu YES (annexe 2)

Annexe 7

Appareillage

Appareil	source
Agitateur avec plaque chauffante	Nahita model NO 690/1, France
balance	Nahita, 5022, France
Etuve	Mammert, Model 30-1060, Allemagne
Centrifugeuse	Mini spin plus, Model 4255, Allemagne
Spectrophotomètre	Zuzi model 4255/50, Allemagne
Microscope	Primo star, Allemagne
Autoclave	Raypa, Model 28, France
Bain marie	Digital water bath, Model 703082 , Canada
Réfrigérateur	Condor, Algérie