



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريبيج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département des Sciences Biologiques

قسم العلوم البيولوجية

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé

Activité antifongique des bactéries lactiques

Présenté par : TIKOUDANE Ouissem

YAHIA AISSA Ikram

Soutenu le : / /

Devant le jury :

Président : M^r SADRATI Nouari MAA (Université de BBA)

Encadrant : M^{me} BOUGUERRA Asma MAA (Université de BBA)

Examineur : M^{me} ZERROUG Amina MAA (Université de BBA)

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Au début et avant tout, nous remercions Allah le tout puissant qui nous a donné le courage et la santé pour finaliser ce travail.

Nous remercions notre promotrice Mme BOUGUERRA Asma, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience durant la réalisation de ce mémoire.

Nos remerciements les plus chaleureux et fraternels aux membres de jury :

- Mr. SADRATI Nouari de nous faire l'honneur de présider le jury.

-M^{me} ZERROUG Amina d'avoir accepté d'examiner et de juger ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce travail à

Mes parents, Que ce travail soit pour vous le témoignage de mon infinie reconnaissance pour votre aide précieuse et toutes ces années de compréhension

A mes sœurs : Wafa et Hania

A mon frère : Yacine

A ma belle sœur : Ahlam

A mon binome Ouissem et sa famille

A la famille YAHIA AISSA ,IACHE

Ikram

Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce travail à :

Mes très chers parents pour leur amour, leur soutien et leur stimulante fierté

Mon très cher frère : Mouhamed

Ma très chère sœur : Iman

*Mon binôme, à mes amis ainsi qu'à tous les étudiants de la
promotion Microbiologie appliquée 2019/2020*

Ouissem

Résumé

La contamination des denrées alimentaires par des moisissures est un problème grave et difficile à gérer car il conduit à d'énormes pertes économiques.

Les mycotoxines ont été reconnues comme l'un des polluants les plus dangereux dans l'alimentation. Actuellement, il existe un intérêt majeur pour l'amélioration de la qualité et de la sécurité alimentaire par des méthodes de préservation et de protection naturelle qui impliquent l'utilisation des microorganismes ; tels que les bactéries lactiques avec des propriétés inhibitrices des champignons.

Pour cela, plusieurs recherches ont été réalisées pour tester l'activité antifongique de plusieurs souches des bactéries lactiques utilisées seules ou en combinaisons.

Les résultats de ces travaux ont montrés que les espèces des genres *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*) et *Pediococcus* (*Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus*) sont très actives contre les *Candida* spp.

En outre, la souche *Lactobacillus rhamnosus* utilisée seule ou en combinaison avec *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* A026 est très efficace dans la bio conservation du fromage frais. Il a été démontré également que l'utilisation des cultures lactiques mixtes augmente l'effet antifongique, le cas des combinaisons composées de *L. plantarum* avec *L. harbinensis* soit avec *L. rhamnosus* qui ont montré une amélioration importante de leur activité dans les produits laitiers.

Les mots clés: activité antifongique, bactéries lactiques, inhibition, moisissures.

Abstract

Mould contamination of food is a serious and difficult problem to manage as it leads to huge economic losses.

Mycotoxins have been recognized as one of the most dangerous pollutants in food. Currently, there is a major interest in improving food quality and safety through natural preservation and protection methods that involve the use of microorganisms; such as lactic acid bacteria with fungal inhibitory properties.

To this end, several researches have been carried out to test the antifungal activity of several strains of lactic acid bacteria used alone or in combination.

The results of this work showed that species of the genera *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*) and *Pediococcus* (*Pediococcus acidilactici* and *Pediococcus pentosaceus*) are very active against *Candida* spp.

In addition, the *Lactobacillus rhamnosus* strain used alone or in combination with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* A026 is very effective in the biopreservation of fresh cheese. It has also been shown that the use of mixed lactic cultures increases the antifungal effect, the case of combinations composed of *L. plantarum* with *L. harbinensis* or with *L. rhamnosus* which have shown a significant improvement of their activity in dairy products.

Keywords: antifungal activity, inhibition, lactic acid bacteria, mould.

الملخص

يعد تلوث الأغذية بالعضن و الفطريات السامة مشكلة خطيرة وصعبة التحكم فيها لأنها تؤدي إلى خسائر اقتصادية هائلة. تعد السموم الفطرية واحدة من أخطر الملوثات. حيث يوجد حاليًا اهتمام كبير بتحسين جودة الأغذية وسلامتها من خلال طرق الحفظ والحماية الطبيعية التي تنطوي على استخدام الكائنات الحية الدقيقة : مثل بكتيريا اللبن التي تتميز بإنتاجها لمواد تثبط نمو للفطريات. لهذا ، اهتمت عدة دراسات باختبار النشاط المضاد للفطريات للعديد من سلالات بكتيريا اللبن باستخدام عزلة واحدة أو عدة عزلات مع بعض. أظهرت نتائج هذا العمل أن الأنواع من جنس *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum* ، *Lactobacillus curvatus*) و *Pediococcus* (*Pediococcus acidilactici* و *Pediococcus pentosaceus*) فعاليتها ضد *Candida spp.* بالإضافة إلى ذلك، أثبتت البكتيريا *Lactobacillus rhamnosus* عند استخدامها وحدها أو بالاشتراك مع *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* A026 فعاليتها في حفظ الجبن الطازج. وقد ثبت أيضًا أن استخدام مزارع اللاكتيك المختلطة يزيد من التأثير المضاد للفطريات ، حالة الأنواع المكونة من *L. plantarum* مع *L. harbinensis* أو *L. rhamnosus* والتي أظهرت تحسّنًا ملحوظًا في نشاطها في حفظ منتجات الألبان.

الكلمات المفتاحية : بكتيريا اللبن، تثبيط، نشاط مضاد للفطريات، العضن الفطري

Table des matières

Introduction	1
Synthèse bibliographique.....	1
1 Les bactéries lactiques	2
1.1 Généralités	2
1.2 Habitat.....	3
1.3 Classification.....	3
1.3.1 Classification phénotypique	3
1.4 Classification génotypique.....	4
1.5 Genres lactiques associés aux aliments.....	4
1.5.1 <i>Enterococcus, Lactococcus, Streptococcus</i> et <i>Vagococcus</i>	4
1.5.1.1 <i>Enterococcus</i>	5
1.5.1.2 <i>Lactococcus</i>	5
1.5.1.3 <i>Streptococcus</i>	6
1.5.1.4 <i>Vagococcus</i>	6
1.5.2 <i>Aerococcus, Pediococcus</i> et <i>Tetragenococcus</i>	6
1.5.2.1 <i>Aerococcus</i>	6
1.5.2.2 <i>Pediococcus</i>	7
1.5.2.3 <i>Tetragenococcus</i>	7
1.5.3 <i>Leuconostoc, Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	7
1.5.3.1 <i>Leuconostoc</i>	7
1.5.3.2 <i>Oenococcus</i>	8
1.5.3.3 <i>Weissella</i>	8
1.5.4 <i>Lactobacillus</i> et <i>Carnobacterium</i>	8
1.5.4.1 <i>Lactobacillus</i>	8
1.5.4.2 <i>Carnobacterium</i>	10
2 Les moisissures.....	11
2.1 Définition	11
2.2 Exemples de quelques espèces fongiques contaminantes	11
2.2.1 <i>Mucor</i> spp.....	11
2.2.2 <i>Penicillium</i> spp.	13
2.2.3 <i>Aspergillus</i> spp.....	14
2.3 Les mycotoxines	16
2.3.1 Généralités.....	16
2.3.2 Principales mycotoxines.....	19
2.3.2.1 Aflatoxines	19

2.3.2.2	Ochratoxines	19
2.3.2.3	Fumonisines	19
2.3.3	Mycotoxinogénèse	20
2.3.3.1	Facteurs influençant la croissance fongique	20
2.3.3.1.1	Facteurs physiques	20
2.3.3.1.2	Facteurs biologiques.....	20
2.3.3.1.3	Facteurs chimiques.....	21
2.3.4	Moisissures et l'industrie agro alimentaire.....	21
2.3.4.1	Produits laitiers	21
2.3.4.2	Viande et charcuteries	22
2.3.4.3	Céréales	22
2.3.4.4	Fruits et légumes	22
2.3.4.5	Autres produits.....	22
2.3.5	Mycotoxines recherchées en contrôle alimentaire	22
3	Etude de l'activité antifongique des bactéries lactiques	24
3.1	Les méthodes utilisées pour détecter l'activité antifongique des bactéries lactiques	24
3.1.1	Méthode de confrontation	24
3.1.2	Méthode des stries	24
3.1.3	Méthode des puits	24
3.2	Les substances antifongiques secrétées par les LAB	25
3.3	Résultats de l'activité antifongique des LAB d'après quelques travaux de recherche	26
	Conclusion.....	

Références bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau I .Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques au stade genre (Salminen et *al.* ,2004). 3

Tableau II.Les principales mycotoxines et les limites imposées par les États-Unis et l'Union européenne aux niveaux des denrées alimentaires et des aliments pour animaux (Alshannaq et Yu, 2017)..... 18

Liste des figures

Figure 1. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des « <i>Lactobacillales</i> » au sein de la classe « <i>Bacilli</i> » (De Vos et al., 2009).	4
Figure 2. <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> sous forme de cellules ovoïdes par paire et en chaînette selon la souche (Teuber et Geis, 2006).	6
Figure 3. Contraste de phase (A-E) et d'électrons (F) des micrographies montrant la différence de morphologie des cellules de Lactobacilles (De Vos et al, 2009).	9
Figure 4. Caractéristiques morphologiques des principales espèces du genre <i>Mucor</i> (Desfleurs, 1980).	12
Figure 5. Aspect macro et microscopique de <i>Mucor racemosus</i>	12
Figure 6. (a) <i>Penicillium expansum</i> , barre = 10 µm ; (b) pourriture typique de <i>P. expansum</i> sur la poire (Hocking, 2014).	14
Figure 7. (a) <i>Aspergillus fumigatus</i> , (b) pourriture typique de <i>Aspergillus fumigatus</i> sur une orange.	15
Figure 8. Structures chimiques des principales mycotoxines (Agriopoulou et al., 2020).	17
Figure 9. Les principales mycotoxines incriminées en agro-alimentaire et les champignons responsables de leur production (Guezlane-tebibel et al., 2016).	23

Abréviations

A. : *Aspergillus*

CO₂ : Dioxyde de carbone

GC% : Coefficient de Chargaff

L. : *Lactobacillus*

LAB : bactéries lactiques

Lb. : *Lactobacillus*

Ln. : *Leuconostoc*

M. : *Mucor*

NaCl : Chlorure de sodium

OTA : Ochratoxine A

P. : *Penicillium*

rpm : rotation par minutes

spp. : plusieurs espèces

Introduction

Les moisissures et les levures représentent les organismes d'altération les plus courants des denrées alimentaires. Ces microorganismes sont plaide coupable pour les différentes altérations alimentaires qui peuvent causer par la suite des intoxications dues aux différents mycotoxines secrétées qui peuvent au fil de temps nuire à la santé du consommateur et ceci sans parler des grandes pertes économiques dans le monde entier car un aliment détérioré est un aliment bon a jeter (Coffey et Arendt, 2012).

L'être humain a cherché pendant des années un moyen de lutter contre ce fléau et de pouvoir s'en débarrasser une bonne fois pour toute, malgré l'avancement technologique et les découvertes effectués dans le domaine de la science ça reste un grand défi pour les industries alimentaires. De nombreuses méthodes physiques et chimiques ont été développées dans le but d'inhiber la prolifération fongique dans les aliments et après moult essais il a été conclu que la clé du mystère repose entre les mains des bactéries lactiques qui s'avère être une arme efficace dans la lutte contre la croissance de ces champignons (Oranusi et *al.*, 2013).

Les bactéries lactiques ont l'habilité de prolonger la durée de conservation des produits alimentaires par la sécrétion des de nombreux composé antifongiques, c'est ce qu'on appelle la bioconservation; cette dernière désigne la prolongation de la durée de conservation et l'amélioration de la sécurité alimentaire. L'utilisation de ces espèces bactériennes présente une très bonne alternative (Hassan et *al.*, 2005)

L'effet de conservation des bactéries lactique est lié à plusieurs facteurs comme la formation d'acides organiques et de peroxyde d'hydrogène, la compétition pour les nutriments et la production de substances antimicrobiennes. L'application de cette méthode a été réclamé par les consommateurs depuis son apparition, ceci est due à la volonté de réduire l'utilisation des conservateurs chimiques en raison de leur dangerosité (Carr et *al.*, 2002).

Tout ceci nous a conduit à réaliser ce travail afin de définir l'importance des bactéries lactique et leurs applications en tant que bioconservateurs ainsi que de valoriser leurs utilisation dans la conservation des denrées alimentaires et leurs attribuer le titre d'alternative aux conservateurs chimiques.

1 Les bactéries lactiques

1.1 Généralités

Les bactéries lactiques est un groupe hétérogène des microorganismes qui a été défini en 1919 par Orla Jensen. Elles produisent toutes l'acide lactique comme un produit final à partir de la fermentation de glucose. Toutefois, il existe d'autres bactéries qui produisent de l'acide lactique mais elles ne sont pas considérées comme des LAB le cas de *Bacillus* et de *Sporolactobacillus* (Axelsson, 2004).

Le terme « bactéries lactiques » a été toujours lié aux bactéries qui sont impliquées dans la fermentation des aliments. La première culture pure a été obtenue en 1873 par Listen définie comme *Bacterium lactis* probablement réfère à l'espèce *Lactococcus lactis*.

Les premiers genres décrits sont : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* (Limsowtin et al., 2004).

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif, immobiles, aéro-anaérobie facultatives, asporulées, la majorité de ces bactéries sont des bactéries non pathogènes mais elles renferment certains genres qui sont pathogènes opportunistes le cas de *Streptococcus* et d'*Enterococcus* (Aguirre et Collins, 1993).

Elles sont auxotrophes vis-à-vis les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Hogg, 2005). Elles peuvent croître à un pH allant jusqu'à 4,5 et à une température comprise entre 10°C et 45°C (Pringsulaka et al., 2011).

Les bactéries lactiques se divisent en deux groupes différents selon les voies métaboliques utilisées pour fermenter le glucose.

1/ Homofermentaires : Elles produisent de l'acide lactique comme un produit majeur de la fermentation de glucose.

2/ Hétérofermentaires : Elles produisent de l'éthanol et /ou de l'acide acétique en plus de l'acide lactique.

1.2 Habitat

Les bactéries lactiques sont des bactéries ubiquistes. Elles font partie de la flore intestinale et vaginale humaine et animale comme elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, les végétaux, la viande et les céréales (Dortu et Thonart, 2009).

1.3 Classification

1.3.1 Classification phénotypique

La classification phénotypique des bactéries lactiques est basée essentiellement sur la morphologie, la croissance à des différentes températures, le mode de fermentation de glucose, les constituants de la paroi cellulaire, la tolérance à de hautes concentrations de sel et la capacité de croître aux pH acide ou alcalin (Konig et Frohlich, 2009).

Tableau I. Caractéristiques différentielles des bactéries lactiques au stade genre (Salminen et al., 2004).

Bâtonnets

Cocci

caractère	<i>Carnob.</i>	<i>Lactob.</i>	<i>Aeroc.</i>	<i>Enteroc.</i>	<i>Lactoc. vagoc.</i>	<i>Leucono. Oenoc.</i>	<i>Pedioc.</i>	<i>Streptoc.</i>	<i>Tetrahenoc.</i>	Weisse. ^a
formation des tétrades	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
CO ₂ a partir de glucose ^b	- ^c	±	-	-	-	+	-	-	-	+
Croissance a 10°C	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
Croissance a 45°C	-	±	-	+	-	-	±	-	+	±
Croissance a 6,5 % d'NaCl	ND ^d	±	+	+	-	-	±	-	+	±
Croissance a 18 % d'NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Croissance a pH 4,4	ND	±	-	+	±	±	+	-	-	±
Croissance a pH 9,6	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Configuration d'acide lactique ^e	L	D,L, DL ^f	L	L	L	D	L, DL ^f	L	L	D, DL ^f

+ : positif ; - : négatif ; ± : réponse variables selon les espèces ; ND : nom déterminé ;

weisse^a : souches peuvent être bâtonnets. ^b : - : Homofermentaires, + : Hétérofermentaires. ^c : petite quantité de CO₂ produite qui dépend du milieu. ^d : Absence de croissance à 8 % de NaCl. ^e : configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose. ^f : Production de D-,L- ou DL-acide lactique varie selon les espèces.

1.4 Classification génotypique

L'analyse comparative des séquences d'ARN ribosomal 16s a entraînée des changements importants dans la taxonomie des bactéries lactiques (Salminen *et al.*, 2004). Selon *Bergey's manual of Systematic Bacteriology* (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacillales* qui renferme six familles avec 35 genres.

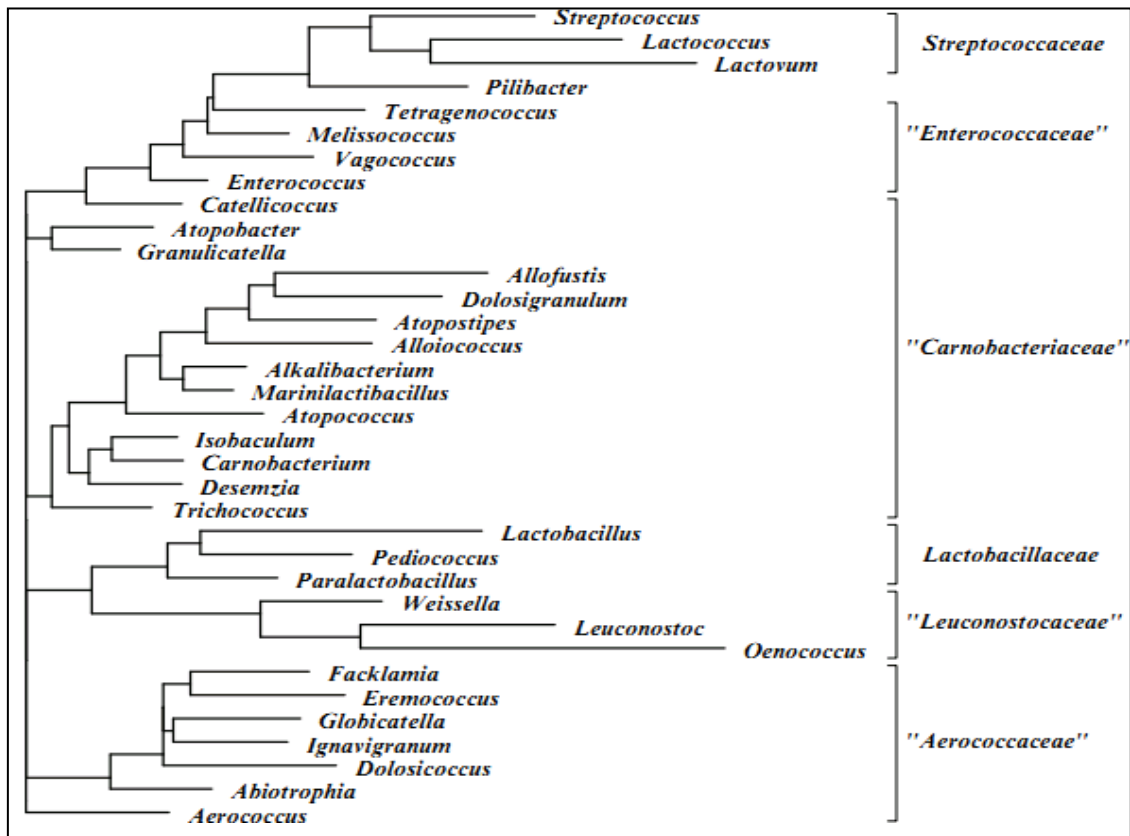


Figure 1. Dendrogramme consensus reflétant les relations phylogénétiques de l'ordre des «*Lactobacillales*» au sein de la classe «*Bacilli*» (De Vos *et al.*, 2009).

1.5 Genres lactiques associés aux aliments

1.5.1 *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Vagococcus*

Enterococcus, *Lactococcus* et *Streptococcus* étaient regroupés en un seul genre qui est *Streptococcus*. Ils sont très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminants et surtout comme agents de fermentation homolactique (Salminen *et al.*, 2004).

1.5.1.1 *Enterococcus*

C'est l'un des genres les plus importants des bactéries lactiques vu sa large distribution environnementale et la grande variété des niches écologiques qu'il occupe, depuis les divers aliments fermentés jusqu'au tractus intestinal humain et animal dans lesquels il joue un rôle bénéfique. En étant membres habituels de la microflore intestinale, les entérocoques peuvent servir comme indicateurs de contamination fécale (Shepard et Gilmore, 2002).

En 1987 Schleifer et Kilpper-Bälz ont proposé une nouvelle classification dont ils ont transféré certaines espèces du genre *Streptococcus* dans le nouveau genre : *Enterococcus*. Il s'agit de : *Streptococcus faecalis* et *Streptococcus faecium* qui sont devenues ainsi : *Enterococcus faecalis* « espèce type » *Enterococcus faecium* (Leclerc et al., 1996).

Les membres de ce genre sont des homofermentaires, facilement différenciables en se basant sur leurs capacités de croître à 10 et à 45°C, en présence de 6,5% de NaCl, à pH 9,6 et en présence de 40% de bile, 0.04% d'azide de sodium ou dans du lait avec 0,1% de bleu de méthylène, en plus de leur survie après un chauffage à 60°C pendant 30 min (Hardie et Whiley, 1997).

Diverses souches d'*Enterococcus* sont employées comme probiotiques et beaucoup d'autres sont impliquées dans des fermentations naturelles, comme des olives de table, des produits carnés, et des produits laitiers, en particulier des fromages (Franz et al., 2003).

1.5.1.2 *Lactococcus*

Les membres de ce genre se présentent sous forme de cocci en paire ou en chaînes de longueur variable (Fig. 2). Ils sont des homofermentaires qui ne produisent que l'acide lactique L(+). Leur température optimale de croissance est proche de 30°C. Ils peuvent se développer à 10°C mais pas à 45°C. Comme ils croissent à 4% de NaCl (Desmazeaud, 1992).

En dehors des cinq espèces actuellement reconnues, seule l'espèce *Lactococcus lactis* est utilisée en industrie laitière. En effet pour l'espèce *Lactococcus lactis* trois sous espèces ont été attribuées : *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. Seules les deux premières ; *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* et *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* sont importantes dans l'industrie laitière (Axelsson, 1998).

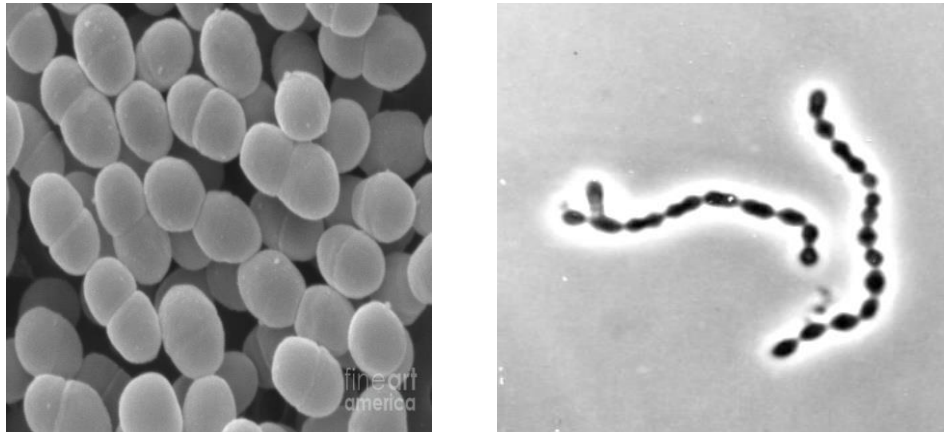


Figure 2. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* sous forme de cellules ovoïdes par paire et en chaînette selon la souche (Teuber et Geis, 2006).

1.5.1.3 *Streptococcus*

1.5.1.4 *Vagococcus*

Les souches mobiles de *Vagococcus* spp. se différencient des enterococci mobiles (*Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus flavescens*, *Enterococcus gallinarum*) par leur incapacité à acidifier le L-arabinose et le raffinose. Les espèces de ce genre récemment décrites se confondent facilement des lactococci et se distinguent principalement par leur composition en acides gras et leur mobilité (Collins et *al.*, 1990).

1.5.2 *Aerococcus*, *Pediococcus* et *Tetragenococcus*

Aerococcus, *Pediococcus* et *Tetragenococcus* ont tous la capacité de se regrouper en tétrade.

1.5.2.1 *Aerococcus*

Le genre *Aerococcus* se différencie de *Streptococcus* par son mode de regroupement en tétrades ou en amas. *Aerococcus viridans* est souvent considérée comme un simple contaminant de l'air et cette bactérie est également présente dans divers prélèvements : eau douce et eau de mer, sol, sédiments marins, végétaux, produits d'origine animale.

1.5.2.2 *Pediococcus*

Les *Pediococcus* sont formés de cellules regroupées en paires ou en tétrades. Il s'agit des bactéries microaérophiles, leur métabolisme homofermentaire produit principalement de l'acide lactique DL, bien que l'acide lactique L (+) prédomine (Garvie, 1986 ; Holt et al., 1994).

D'autre part la nature du peptidoglycane constitue un critère important qui distingue le genre *Pediococcus* du genre *Streptococcus*. Actuellement, les tests immunologiques sont d'une grande importance, ils sont utilisés pour trancher entre les différentes espèces des deux genres. Les espèces se différencient par leur tolérance à la température, à NaCl, au pH et par leur spectre fermentaire. Les différentes espèces du genre *Pediococcus* sont présentes dans les végétaux en décomposition, parfois dans les boissons : bière, cidre et vin.

P. pentasaceus avec *P. acidilactici* prédominent les matières végétales mais elles peuvent aussi être trouvées dans le lait et les produits laitiers (Simpson et Taguchi, 1995).

1.5.2.3 *Tetragenococcus*

Le genre *Tetragenococcus* regroupe des souches étroitement apparentées à l'espèce *Pediococcus halophilus*. Une seule espèce a été récemment reconnue, il s'agit de *Tetragenococcus halophilus* (Collins et al., 1990). Il a été démontré, qu'en plus de leur tolérance extrême au sel (>18% de NaCl), qui le distingue des autres genres des LAB; *Tetragenococcus* a besoin de sel pour sa croissance, généralement 5% de NaCl, c'est la raison pour laquelle cette espèce s'est avérée très importante dans la fabrication des produits fermentés, surtout ceux contenant une concentration élevée en sel (Garvie, 1986).

1.5.3 *Leuconostoc, Oenococcus* et *Weissella*

Leuconostoc, Oenococcus et *Weissella* forment un groupe des genres apparentés des LAB. Ils sont tous hétérofermentaires (Bjorkroth et Holzapfel, 2006).

1.5.3.1 *Leuconostoc*

Le terme *Leuconostoc* vient du mot « *Nostoc* » qui est une algue bleue mucilagineuse et « *Leuco* » veut dire blanc. La première description du genre *Leuconostoc* a été rapportée par Van Tieghem en 1878 (Zhanget Cai, 2014).

Les cellules de *Leuconostoc* sont des cocci en paires ou en chaînes comme les streptocoques mais les *Leuconostoc* sont des bactéries hétérofermentaires produisant de l'acide D (-)

lactique, de l'éthanol et du CO₂.

Les leuconostocs principalement *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* et *Ln. Lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acidelactique et du CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétone à partir des citrates du lait (Hadeif, 2012).

1.5.3.2 *Oenococcus*

Les membres de ce genre sont non hémolytiques et généralement non protéolytiques. Leur température optimale est de 20°C à 30°C, acidophiles qui se développent à un pH initial de 4,8. Elles ont pour habitat le vin et par conséquent, elles tolèrent l'éthanol et se développent dans des milieux contenant 10% d'éthanol (Bjorkroth et Holzapfel, 2006 ; Zhang et Cai, 2014).

1.5.3.3 *Weissella*

Les cellules de ce genre sont ovoïdes ou de courts bâtonnets à extrémités rondes qui s'associent en paires ou en courtes chaînes. Elles sont des hétérofermentaires et sont généralement immobiles. Cependant, une nouvelle espèce mobile avec des flagelles péritriches, *Weissella beninensis*, a récemment été décrite par Padonou *et al.* en 2010.

1.5.4 *Lactobacillus* et *Carnobacterium*

Les lactobacilles et les *Carnobacteria* sont des bactéries à Gram+, polymorphe, asporogènes, non pigmentées, immobiles (sauf *Lb. agilis*), catalase-, nitrate réductase -, gélatinase -, leur morphologie diffère de cocci plus ou moins allongés à des formes longues, ce qui les rend parfois difficile à les distinguer des *leuconostocs*. Leur GC% varie de 32 à 53% (Axelsson, 1998).

1.5.4.1 *Lactobacillus*

En 1896, le genre *Lactobacillus* a été décrit pour la première fois par Beijerinck, et l'espèce type était *Lactobacillus delbrueckii*. Le genre *Lactobacillus* est le genre principal et le plus diversifié de la famille des *Lactobacillaceae*. Il comprend actuellement 158 espèces, sept de ces espèces sont constituées de 18 sous-espèces (Zhang et Cai, 2014).

On rencontre chez les lactobacilles une variabilité de forme (fins, incurvés, coccobacilles ...etc) (Fig.3). La longueur des bacilles et le degré de courbure dépend de l'âge

Synthèse bibliographique

de la culture, la composition du milieu (par exemple, la disponibilité des esters d'acide oléique) et le taux d'oxygène.

Certaines espèces de lactobacilles produisent du gaz (Ex : *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus brevis*) (De Vos et al,2009).

Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, vitamines, acides gras, nucléotides, glucides et en sels minéraux. La température de croissance est comprise entre 2 et 53 ° C, avec un optimum entre 30 et 40 ° C (De Vos et al., 2009).

Le pH de croissance est compris entre 3 et 8 avec un optimum habituellement allant de 5,5 à 6,2 (Zhang et Cai, 2014).

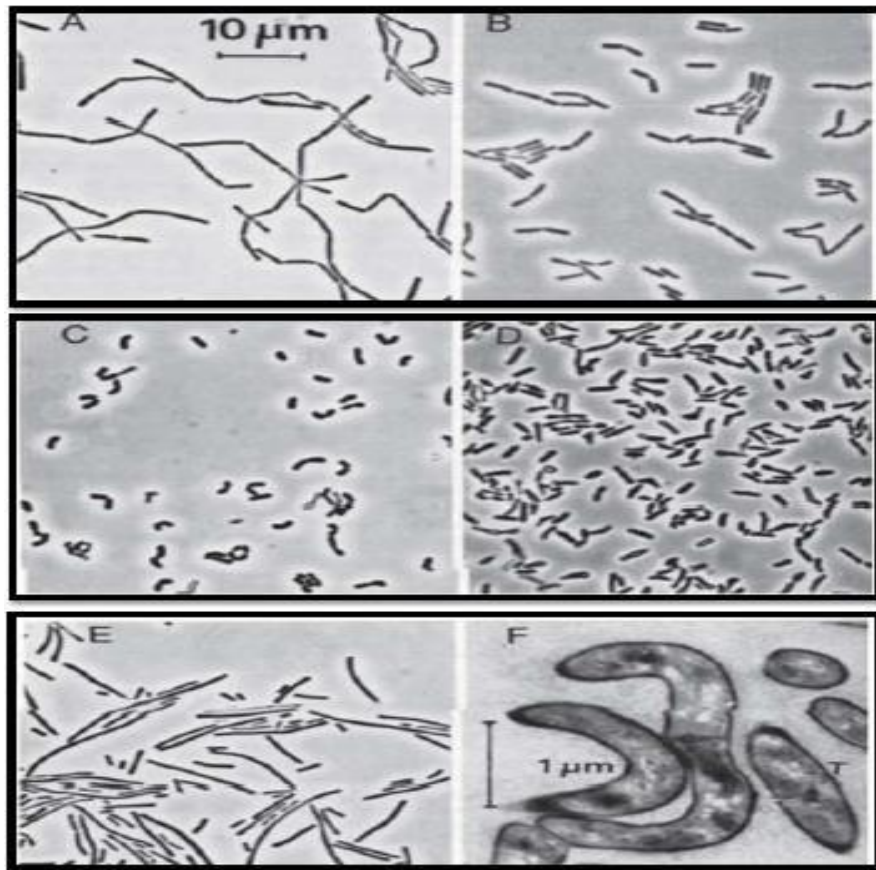


Figure3.Contraste de phase(A-E) et d'électrons (F) des micrographies montrant la différence de morphologie des cellules de Lactobacilles (De Vos et al, 2009).

A : *Lactobacillusgasseri*;B:*Lactobacillusagilis*;C:*Lactobacilluscurvartus*;D :*Lactobacillus mineur*; E : *Lactobacillus fermentum*; et F : la forme de l'involution de lactobacilles dans une lame mince d'un grain de kéfir

1.5.4.2 *Carnobacterium*

Le genre *Carnobacterium* est constitué des bacilles minces, droits ou légèrement incurvés. Leurs cellules se présentent de manière isolée ou regroupée par deux ou parfois en courtes chaînes. Elles sont incapables de croître sur des milieux à base d'acétate et ne peuvent croître ni en présence de 8 % NaCl ni à 45°C. Toutefois, elles peuvent croître à 10°C et parfois à 0°C.

Il est difficile de distinguer le genre *Carnobacterium* du genre *Lactobacillus*. Toutefois, on peut noter que les *Carnobacterium* ssp. ne se développent pas sur les milieux à l'acétate de Rogosa et sont capables de se développer à des pH plus élevés que ceux des *Lactobacillus* ssp. (croissance possible jusqu'à pH 9,1) (Collins et *al.*, 1987).

2 Les moisissures

2.1 Définition

Les moisissures représentent un groupe hétérogène de microorganismes pluricellulaires ubiquistes pouvant se développer à l'état saprophyte ou parasite sur de nombreux substrats (Bennett et *al.*, 2003).

Le développement des moisissures sur les denrées alimentaires peut avoir plusieurs conséquences. Cela peut être bénéfiques et prendre part à la transformation des matières premières alimentaires (notamment lors de la fermentation), dans la production d'enzymes, des protéines, ou encore d'agents aromatiques. Ils peuvent aussi être utilisés dans la production des médicaments comme les antibiotiques (ex: amoxicilline), les immunosuppresseurs (ex : ciclosporine) ou les anticorps monoclonaux.

Dans certains cas leur présence est nuisible car ils peuvent entraîner l'altération des denrées alimentaires ainsi l'accumulation de composés toxiques, les mycotoxines (Dupuy, 1994).

2.2 Exemples de quelques espèces fongiques contaminantes

2.2.1 *Mucor* spp.

Les espèces les plus impliquées du genre *Mucor* sont: *Mucor racemosus* (l'espèce la plus répandue), *M. plumbeus*, *M. hiemalis*, *M. globosus*, *M. fuscus*, *M. mucedo*, *Rhizopus stolonifer* et même *R. nigricans*.

Les principales caractéristiques morphologiques de ces espèces sont regroupées dans la figure (4) (Desfleurs, 1980).

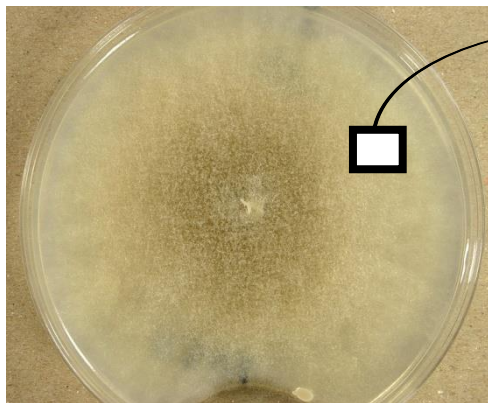
La figure (5) représente l'aspect macroscopique et microscopique de l'espèce (*Mucor racemosus*).

Les aliments contaminés par *Mucor* constituent un risque potentiel limité pour la santé des consommateurs en bonne santé. Aucune mycotoxine spécifique n'a été isolée et caractérisée. Les résultats de tests biologiques ont indiqué que des toxines sont présentes dans des extraits de certaines espèces de *Mucor* (ex : Les extraits aqueux de champignons de *Mucor mucedo* étaient faiblement toxiques pour les crevettes en saumure).

Synthèse bibliographique

	<i>Mucor racemosus</i>	<i>Mucor plumbeus</i>	<i>Mucor hiemalis</i>	<i>Mucor globosus</i>	<i>Mucor fuscus</i>	<i>Mucor mucedo</i>
Colonie						
Couleur	blanc-gris, brun-jaunâtre	gris-bleu, presque noir	blanc grisâtre, jaunâtre	brun-grisâtre, feutre	gris +/- foncé	blanc-jaunâtre, grisâtre
Hauteur (cm)	0,5-4 (souvent 1 cm)	0,2-1	1-2	1-2		1,5-2
Sporange:		sec,	hygroscopique,			hygroscopique,
Forme	globuleux	épineux x	sphérique	globuleux,		gris (cristaux
Couleur	hialin à jaunâtre	gris	jaune à gris-brun	gris-brun, brun-noir	brun-grisâtre foncé	d'oxalate)
Dimensions (µm)	20-70	85-100	33-50-80	75-120		75-80
Columelle:		épinées	paroi lisse	paroi lisse	denticulée parfois	sphérique
Forme	régulière, ovale ou sphérique	ovale ou piriforme	sphérique ou ovale	ovale ou piriforme	au sommet,	cylindrique
Couleur	incolore	brun-jaunâtre	incolore		piriforme	contenu jaune
Dimensions (µm)	17-60 x 9-24	36-50 x 17-38	14-45-50	20-40 x 14-32	80-50	70-82-140 x 50-93
Spores:		asperulées,	lisses,	lisses,	asperulées,	cylindriques ou
Forme	lisses elliptiques	rondes	elliptiques	'enfumées'	globuleuses	elliptiques
Couleur	jaune clair	brunâtres	incolores	noirâtres	brun-grisâtre pâle	
Dimensions (µm)	6-10 x 5-8	5x8,7	3-8 x 2-6	4-8	8-11	6-15 x 3-8
Zygote		(+)				
Chlamydo-spores	Abondantes, lisses				Peu abondantes	

Figure 4. Caractéristiques morphologiques des principales espèces du genre *Mucor* (Desfleurs, 1980).



Culture de *Mucor racemosus* (UAMH 8346) sur PDA



Aspect microscopique de *Mucor racemosus*

Figure 5. Aspect macro et microscopique de *Mucor racemosus*

(<https://mycoportal.org/portal/taxa/index.php?taxon=185898>)

2.2.2 *Penicillium* spp.

Le genre *Penicillium* est l'un des champignons les plus répandus dans le monde entier, présent dans une grande variété d'habitats, du sol à la végétation, en passant par l'air, les environnements intérieurs et divers produits alimentaires. Ses espèces jouent des rôles importants et variés, tels que la production des fromages, du camembert ou du roquefort, des saucisses fermentées.

En outre, elles sont incriminées dans la décomposition des matières organiques, provoquant des pourritures dévastatrices en tant qu'agents pathogènes avant et après récolte sur les cultures agricoles et peuvent produire de diverses mycotoxines (Moretti, 2017).

Les espèces de *Penicillium* sont considérées comme des saprophytes ubiquistes et opportunistes, la plupart d'entre elles se trouvent principalement dans le sol et la végétation en décomposition, mais également associées à l'alimentation humaine. En général, les espèces de *Penicillium* sont strictement aérobies, peu exigeantes sur le plan nutritionnel et elles sont capables de se développer sur une large gamme d'environnements physico-chimiques, mais certaines d'entre elles sont très spécialisées, comme les pathogènes des fruits (*P. expansum*, sur les pommes, *P. digitatum* et *P. italicum* sur les agrumes), les aliments à faible teneur en eau (*P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. implicatum*), et à faible tension d'oxygène (*P. roqueforti*).

Ce sont des champignons à croissance rapide, produisant un grand nombre de spores exogènes à paroi sèche qui sont facilement disséminées par l'air. La plupart des espèces de *Penicillium* d'origine alimentaire sont des psychrotolérantes, certaines sont à peine capables de se développer à 37 °C, mais elles sont principalement mésophile avec une température optimale autour de 25 °C. La plupart des espèces de *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines. La connaissance actuelle des espèces de *Penicillium* d'origine alimentaire permet de prévoir quels champignons et mycotoxines pourraient être présents sur un certain produit alimentaire stocké dans des conditions connues (Moretti, 2017).

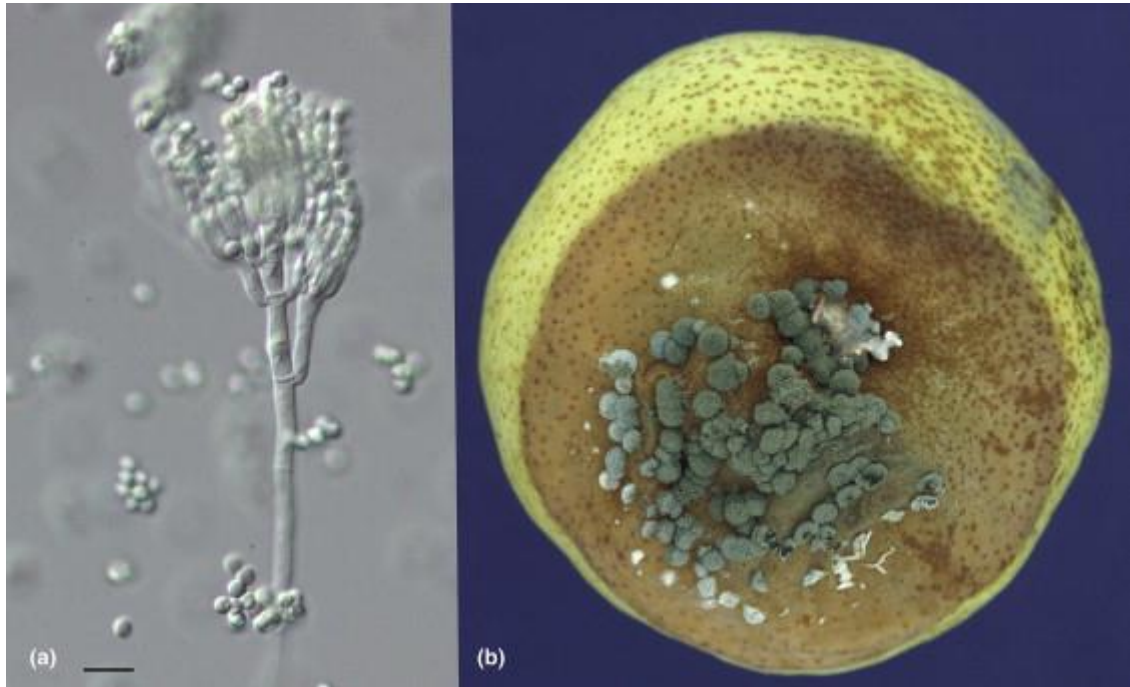


Figure 6. (a) *Penicillium expansum*, barre = 10 μm ; (b) pourriture typique de *P. expansum* sur la poire (Hocking, 2014).

2.2.3 *Aspergillus* spp.

Aspergillus est un genre de moisissures très important, très répandu, avec des espèces impliquées dans l'altération des aliments, la production de mycotoxines et les fermentations. Le groupe *A. flavus-oryzae* contient les espèces *A. flavus* et *A. parasiticus*, qui peuvent produire des aflatoxines. Ce groupe contient également *A. oryzae*, qui est non toxique et elle est utilisée dans les fermentations alimentaires orientales (ex : production de sauce soja et le miso).

Le groupe *A. ochraceus* comprend *A. ochraceus* et d'autres espèces qui sont capables de produire des ochratoxines et de l'acide pénicillique.

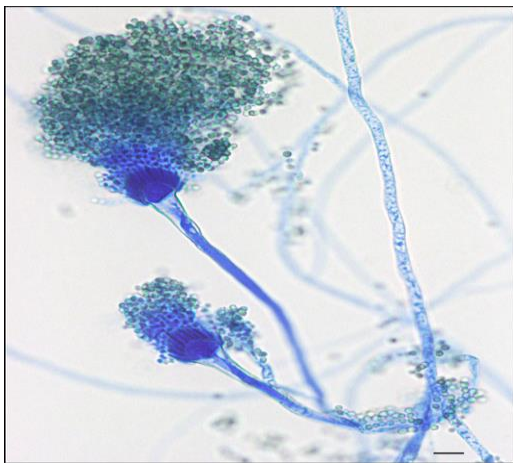
Le groupe *A. niger* est très répandu, et souvent impliqué dans l'altération des aliments. *A. niger* est maintenant connu pour être également un producteur d'ochratoxines. Ce qui était autrefois appelé le groupe *A. glaucus* est maintenant connu comme l'anamorphe du genre *Eurotium*, qui comprend *E. glaucus* et *E. repens* (Bullerman, 2003).

Ce sont des moisissures xérotolérantes qui peuvent se développer sur des aliments très secs ou

Synthèse bibliographique

contenant de fortes concentrations de sucre ou de sel. Les aspergilli se reproduisent en produisant des conidies, qui sont produites sur un conidiophore issu d'une cellule spéciale du mycélium appelée cellule du pied (figure 1). Le conidiophore entier semble être une cellule unique qui se développe à la verticale et se termine par un gonflement globulaire, elliptique ou de clavicule appelé vésicule. De la vésicule naissent des structures en forme de bouteille appelées sterigma (phialides) dans lesquelles les conidies sont produites.

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* produisent également des sclérotes, qui sont des masses macroscopiques, dures et denses d'hyphes qui apparaissent comme de petites masses de couleur foncée dans le mycélium. Les espèces d'*Aspergillus* sont souvent présentes dans les céréales, les noix, les graines oléagineuses et sur certains types de viande séchée (Bullerman, 2003).



a



b

Figure 7.(a) *Aspergillus fumigatus*, (b) pourriture typique de *Aspergillus fumigatus* sur une orange.

<https://www.27avril.com/blog/culture-societe/sante/aspergillus-fumigatus-un-champignon-mortel-et-resistant-aux-traitements>

2.3 Les mycotoxines

2.3.1 Généralités

Le terme « mycotoxine » provient du mot grec « *Mycos* », qui signifie un champignon et du mot latin « *Toxicum* » signifiant poison.

Les mycotoxines appartiennent à la catégorie des métabolites secondaires toxiques, et elles ont un faible poids moléculaire. Elles sont produites par des champignons filamenteux appartenant au phylum *Ascomycota* ou par des moisissures.

Les mycotoxines sont actives à de faibles concentrations et elles ont une grande importance pour la santé des humains et des animaux, étant la cause des maladies aiguës et chroniques (Tola et Kebede, 2016 ; Mousavi Khaneghah et *al.*, 2019).

En effet, après consommation des aliments contaminés, des effets cancérigènes, génotoxiques, tératogènes, néphrotoxiques et hépatotoxiques peuvent avoir lieu.

Les principales classes de mycotoxines qui revêtent la plus grande importance agroéconomique sont les aflatoxines, les ochratoxines, les fumonisines, les trichothécènes, les mycotoxines émergentes de *Fusarium*, les enniatines, les alcaloïdes de l'ergot, les toxines d'*alternaria* et la patuline, dont certaines structures sont montrées dans la figure (8) (Agriopoulou et *al.*, 2020).

La contamination par les mycotoxines peut se produire avant la récolte lorsque le végétal est en croissance ou après la récolte pendant la transformation, le conditionnement, la distribution et le stockage des produits alimentaires (Pereira et *al.*, 2014).

En général, toutes les cultures et céréales qui sont mal conservées à des températures élevées et dans un environnement humide pendant une période prolongée peuvent être sujettes au développement de moisissures et à la contamination par les mycotoxines (Bennett et Klich, 2003).

Le maïs est considéré comme la culture la plus sensible à la contamination par les mycotoxines, tandis que le riz est la moins (Chulze, 2010).

La plupart des mycotoxines sont chimiquement et thermiquement stables pendant la transformation des aliments, y compris la cuisson, l'ébullition, la cuisson au four, la friture, le rôtissage et la pasteurisation. Les mycotoxines peuvent également arriver dans l'assiette humaine par le biais de produits animaux tels que la viande, les œufs, le lait, à la suite de la consommation d'aliments contaminés par l'animal (Marin et *al.*, 2013 ; Kaushik, 2015).

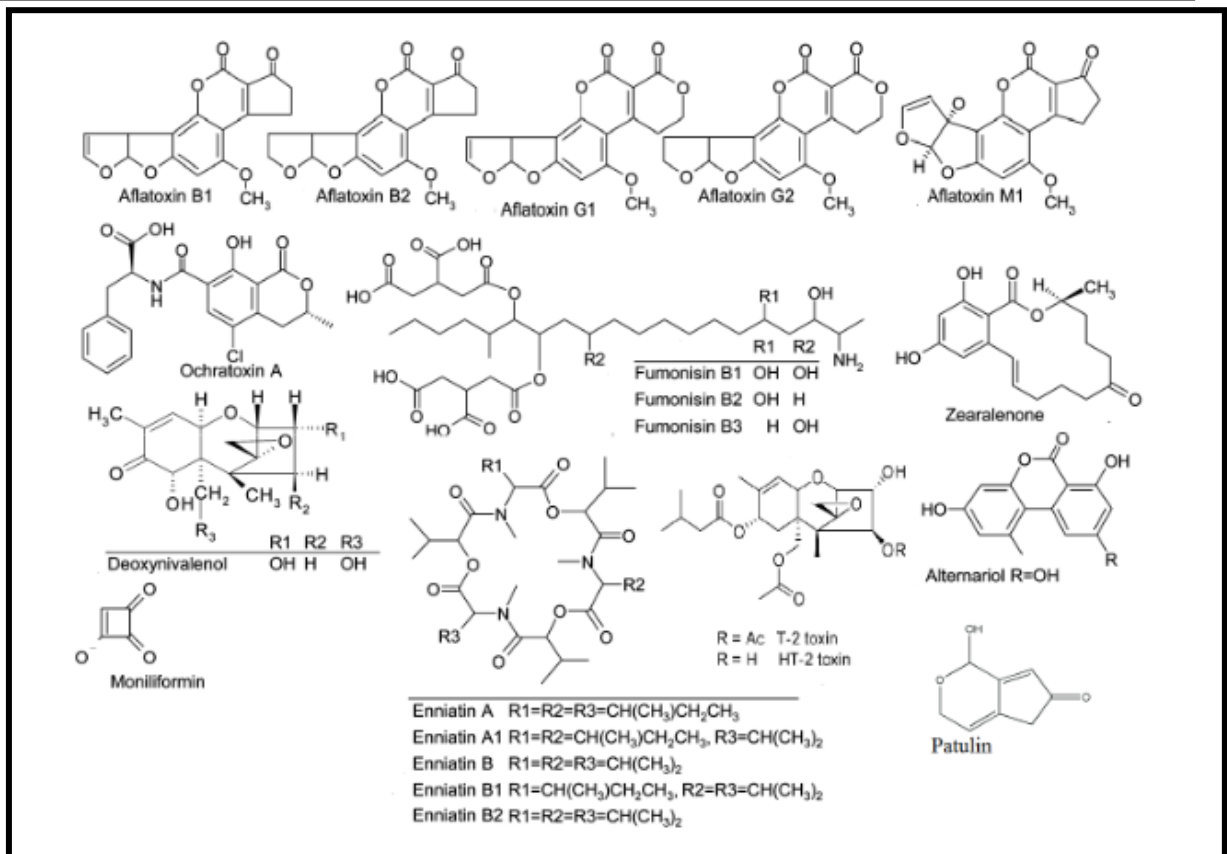


Figure 8. Structures chimiques des principales mycotoxines (Agriopoulou et al., 2020).

Actuellement, une centaine de pays ont fixé des limites à la présence des principales mycotoxines dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (Lee et Ryu, 2017 ; Moretti et al., 2017).

Le tableau (2) énumère les principales toxines, les principaux producteurs et certains produits alimentaires couramment contaminés, ainsi que les limites réglementaires fixées par la FDA américaine et l'UE pour les niveaux de mycotoxines dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (Alshannaq et Yu, 2017).

Synthèse bibliographique

Tableau II. Les principales mycotoxines et les limites imposées par les États-Unis et l'Union européenne aux niveaux des denrées alimentaires et des aliments pour animaux (Alshannaq et Yu, 2017).

Mycotoxines	Espèces fongiques	Produits alimentaires	US FDA (µg/kg)	EU (EC 2006) (µg/kg)
Aflatoxins B1, B2, G1, G2	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Maïs, blé, riz, arachide, sorgho, pistache, amande, arachides, noix, figues, graines de coton, épices	20 for total	2–12 pour B1 4–15 pour le total
Aflatoxine M1	Métabolite de l'aflatoxine B1	Le lait, le lait Produits	0.5	0.05 dans le lait 0.025 dans les préparations pour nourrissons et le lait pour nourrissons
Ochratoxine A	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus carbonarius</i>	Céréales, fruits secs de la vigne, vin, raisins, café, cacao, fromage	Non fixé	2–10
Fumonisines B1, B2, B3	<i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	Maïs, maïs, produits, sorgho, asperges	2000–4000	200–1000
Zéaralenone	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i>	Céréales, produits céréaliers, maïs, blé, orge	Non fixé	20–100
Déoxynivalénol	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium culmorum</i>	Céréales, produits céréaliers	1000	200–50
Patuline	<i>Penicillium expansum</i>	Pommes, jus de pomme et concentré	50	10–50

2.3.2 Principales mycotoxines

2.3.2.1 Aflatoxines

Les aflatoxines sont constituées d'un cycle coumarinique et de deux furanes auxquels peuvent être accolés un cycle pentone (Aflatoxines B et M) ou un cycle lactone hexagonal (Aflatoxines G). Les structures diffèrent entre elles par la position de leurs radicaux sur le squelette de base (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

Les champignons responsables de la production des aflatoxines sont : *Aspergillus flavus*, et à un moindre degré, *Aspergillus parasiticus* et *Penicillium frequentans*. Ces espèces peuvent provoquer des intoxications mortelles massives chez l'animal de ferme (dinde, truie, caneton, porc, bovin). L'homme aussi peut être victime de ces intoxications.

Les signes cliniques chez l'animal sont sévères ; représentées par des lésions hépatiques souvent accompagnées de cirrhoses et de cancers primitifs du foie.

L'effet cumulatif de faibles doses d'aflatoxines ingérées quotidiennement semble provoquer des lésions encore plus graves que celles décrites lors d'une administration massive de denrées alimentaires (Eaton et Gallagher, 1994).

2.3.2.2 Ochratoxines

Les ochratoxines sont des dérivés de la phénylalanine, un acide aminé cyclique.

De nombreuses espèces fongiques (*Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius*, *Penicillium veridicatum*, *P. xerucosum*, *P. cyclopium*) sécrètent l'ochratoxine A sur divers substrats (céréales, café, cacao). Cette substance est dotée d'un pouvoir tératogène et cancérigène important et d'une néphrotoxicité reconnue (Lusky et al., 2001 ; Bennett et Klich, 2003 ; Kimura et al., 2005).

2.3.2.3 Fumonisines

La structure de base des fumonisines est très proche de celle des sphingosines. Elle est constituée d'une longue chaîne carbonée, hydroxylée, portant des groupements méthyles (-CH₃) et amines primaires (-R-NH₂). À cette structure viennent de s'ajouter des groupements méthyles, amines, acétylamines et pyridines, permettant la distinction entre les différentes fumonisines (Pfohl-Leszkowicz A, 1999).

Les fusariotoxicoses sont des intoxications causées par le genre *Fusarium* qui parasite les denrées alimentaires dont les signes cliniques diffèrent en fonction des mycotoxines sécrétées

(Eskola et *al.*, 2001 ; Bennett et Klich, 2003).

A côté de ces mycotoxines, il existe d'autres qui sont : zéaralénone, alcaloïdes de l'ergot du seigle, trichothécènes, patuline, citrinine et mycotoxines trémorgènes (Gauthier, 2016).

2.3.3 Mycotoxinogénèse

La mycotoxinogénèse correspond à l'ensemble des conditions nécessaires au processus de synthèse et de sécrétion des toxines fongiques dans l'environnement. La synthèse des toxines fongiques et la croissance fongique sont donc conditionnées par divers facteurs d'ordre physiques, chimiques et biologiques (Moreau, 1994).

2.3.3.1 Facteurs influençant la croissance fongique

2.3.3.1.1 Facteurs physiques

➤ Température

Elle joue évidemment un rôle prépondérant sur la croissance mycélienne. Si les moisissures les plus courantes se développent entre 15 °C et 30 °C (optimum à 20-25 °C), certaines espèces peuvent être très résistantes au froid et même à des températures très hautes (Chapland-Leclerc et *al.*, 2005).

➤ Activité de l'eau

La croissance de la moisissure est ralentie si l'humidité relative baisse et s'arrête aux environs de 30 % d'humidité relative, mais elle ne meurt pas et entre en phase de dormance. Lorsque les conditions redeviennent favorables, les moisissures germinent (Basset et Laffont, 2011).

➤ Lumière

Elle joue également un rôle dans la dissémination fongique.

2.3.3.1.2 Facteurs biologiques

Beaucoup d'autres facteurs influencent également la prolifération des moisissures toxigènes.

➤ Facteurs physiologiques

La vitesse de croissance mycélienne d'une espèce, l'intensité de sa sporulation et la longévité des conidies sont évidemment des conditions optimales à une intense prolifération ; *Rhizopus nigricans* en est un exemple connu (Chapland-Leclerc, 2005).

- **Des facteurs génétiques** : toutes les souches d'une même espèce ne sont pas toxigènes, même sur un substrat identique. Il en est de même de certaines espèces « inféodées » à des substrats végétaux particuliers (Chapeland-Leclerc, 2005).

2.3.3.1.3 Facteurs chimiques

- **La composition de substrat**

La composition qualitative et quantitative du substrat peut influencer l'expression du pouvoir de sécrétion des toxines. En effet un taux élevé de sucres et/ ou de lipides est favorable à la toxinogénèse. En effet, les céréales et les oléagineux, plus riches en sucres et en lipides sont généralement plus favorables à la production de mycotoxines que les substrats à forte teneur en protéines. La production des aflatoxines par *Aspergillus flavus* est favorisée par certains sucres comme le glucose, le mannose, le fructose et le saccharose. Le fer, le zinc et le cuivre ont été testés pour la production d'aflatoxines et d'ochratoxines. Ils favorisent la production de ces deux toxines à des concentrations inférieures à 10 mg/L du milieu mais le zinc a le plus d'effet sur la croissance et la production d'aflatoxines. L'effet du fer et du cuivre peut être dû à leur rôles de catalyseurs de la peroxydation des lipides (Aziz et al., 1997).

Les méthodes modernes de préparation des aliments entraînent souvent une élévation des teneurs en pesticides, fongicides et conservateurs qui limitent la prolifération mycélienne (Chapeland-Leclerc, 2005).

2.3.4 Moisissures et l'industrie agro alimentaire

Du champ jusqu'à l'assiette, de nombreuses espèces de moisissures sont susceptibles de se développer et de sécréter des toxines si les conditions environnementales sont favorables (Pfohl-Leszkowicz A, 1999).

2.3.4.1 Produits laitiers

De nombreux moisissures ont été ajoutés délibérément dans les fromages on parle de la contamination endogène (*Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*...). Dans le cas contraire, plusieurs souches de micromycètes sont responsables d'une contamination exogène des produits laitiers, les membres du genre *Penicillium* étant les plus fréquents.

Le lait en poudre et les yaourts sont également concernés par la contamination des moisissures appartenant aux genres *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*,

Geotrichum et *Rhizopus* (Pfohl-Leskowicz, 1999).

2.3.4.2 Viande et charcuteries

La contamination des viandes résulte de la transmission des toxines par le biais de la chaîne alimentaire. L'Ochratoxine A est ainsi couramment retrouvée dans les muscles du porc et des volailles, et dans les abats. Par contre, les charcuteries ne sont pas des substrats naturels favorables aux champignons toxigènes mais cela n'empêche pas la multiplication de certaines moisissures, comme *Wallemia sebi*, qui produit le Walleminol A (Pfohl-Leskowicz, 1999).

2.3.4.3 Céréales

Les céréales sont des vecteurs importants de dissémination des toxines fongiques, car elles sont universellement consommées par les animaux et les hommes.

Elles sont contaminées soit au champ soit au moment du stockage, principalement par l'intermédiaire des insectes.

2.3.4.4 Fruits et légumes

Les fruits et légumes sont recouverts d'une multitude de moisissures à l'état de spores, capables de proliférer facilement si les conditions de stockage sont mauvaises.

2.3.4.5 Autres produits

Les vins et jus de raisin sont considérés comme source de contamination importante. Cette contamination s'explique par la présence, au vignoble, de nombreux champignons producteurs d'ochratoxines. La concentration d'OTA croît de plus en plus avec les étapes de la maturation du raisin (Cabanès et *al.*, 2002).

2.3.5 Mycotoxines recherchées en contrôle alimentaire

Uniquement six groupes sont les plus surveillés et considérés comme des contaminants majeurs des aliments: l'aflatoxine, l'ochratoxine A, les fumonisines, les trichothécènes, la zéaralénone et la patuline. Les procédés de conservation (stérilisation, pasteurisation, lyophilisation, séchage, salage, congélation, etc.) peuvent agir sur les moisissures mais ne détruisent pas ou très peu la plupart des mycotoxines (Figure 9) (Guezlane-tebibel et

al.,2016).

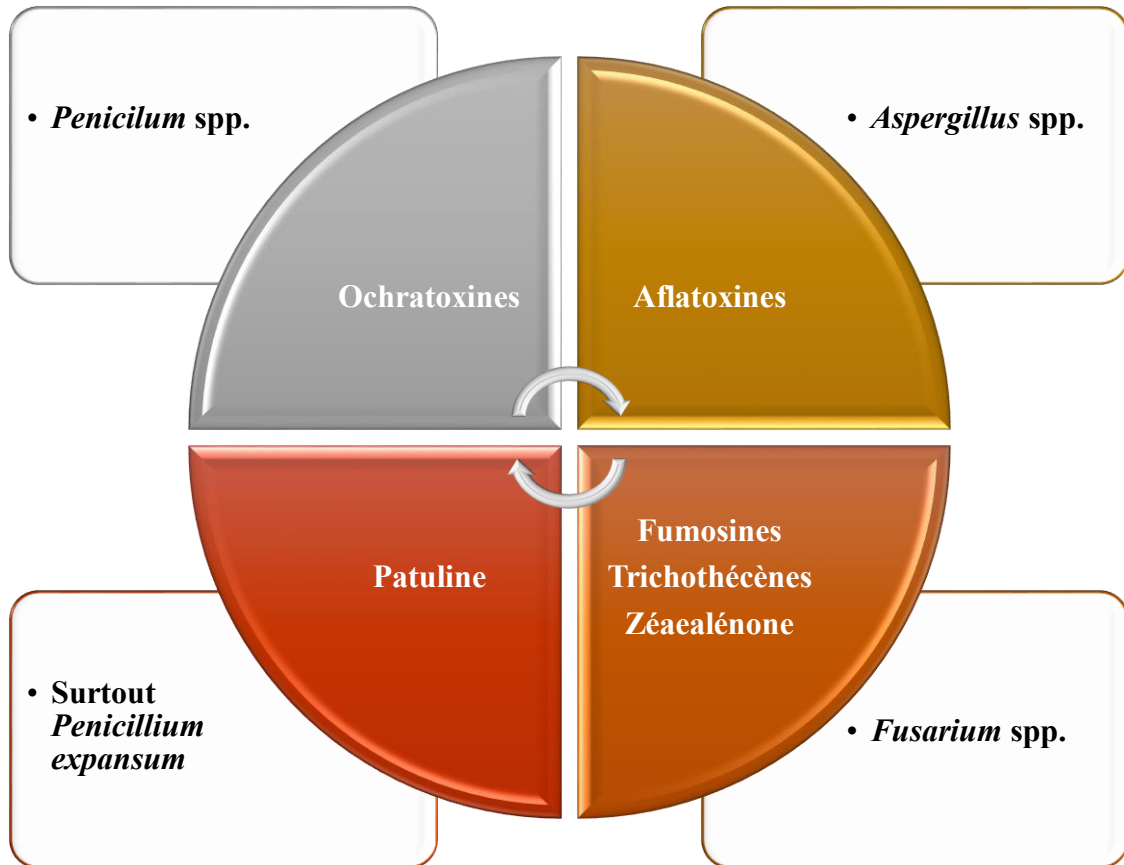


Figure9. Les principales mycotoxines incriminées en agro-alimentaire et les champignons responsables de leur production (Guezlane-tebibel et al.,2016).

3 Etude de l'activité antifongique des bactéries lactiques

Afin de les utiliser dans le biocontrôle, les LAB isolées à partir de n'importe quelle source sont testées pour leur activité antifongique après application des méthodes appropriées.

3.1 Les méthodes utilisées pour détecter l'activité antifongique des bactéries lactiques

Différentes méthodes sont utilisées pour détecter l'activité antifongique des LAB :

3.1.1 Méthode de confrontation

Tout d'abord un strie de chaque culture lactique est déposée sur des boîtes de Pétri contenant le milieu MRS puis incubées à 30°C pendant 48h. Ensuite un disque de 5mm de champignon est déposé dans la même boîte qui est incubée une autre fois à 30°C pendant trois jours. Après incubation, le diamètre de croissance du champignon est mesuré (Gerbaldo et *al.*, 2012).

3.1.2 Méthode des stries

La souche lactique est ensemencée en un strie dans une boîte de Pétri contenant le milieu MRS, puis incubée à 30°C pendant 48h. Les colonies obtenues seront ensuite recouvertes par 10 ml de milieu d'extrait de malt agar (0.7 % d'agar) contenant 0,1 ml de suspension monosporale (10^3 spores/ml). Après 72h d'incubation à 30°C, les zones d'inhibition seront évaluées autour des stries de bactéries selon les critères suivants : (-) : absence de zone d'inhibition ; (+) : Zone d'inhibition comprise entre 0,1 à 3 % de la surface de la boîte de Pétri ; (++) : Zone d'inhibition comprise entre 3 à 8 % de la surface de la boîte de Pétri ; (+++) : Zone d'inhibition supérieure à 8 % de la surface de la boîte de Pétri (Magnusson et *al.* 2003).

3.1.3 Méthode des puits

Tout d'abord les surnageants de chaque souche lactique cultivée dans un bouillon MRS (30°C-18h) sont préparés après centrifugation à 8000 rpm pendant 10 min. La filtration du surnageant est faite en utilisant un filtre Millipore de 0.22 μ est nécessaire prévenir la croissance des cellules bactériennes.

Sur la surface gélosée d'une boîte de Pétri, contenant 10 ml de MRS agar recouvert par 10 ml de milieu d'extrait de malt agar contenant la suspension monosporale (10^3 spores/ml), des puits sont creusés en utilisant l'emporte pièce. Ensuite, 100 μ l des surnageants de chaque culture ont été déposés dans les puits.

Le témoin négatif correspond au milieu de culture non inoculé. Après 72h d'incubation à

30°C, les zones d'inhibition sont calculées autour de chaque puit (Laref, 2014).

3.2 Les substances antifongiques secrétées par les LAB

LAB produisent de nombreux métabolites antifongiques tels que les acides organiques, le diacétyl, les antimycotiques bioactifs, peptides, acides gras, acides carboxyliques, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, lactones, alcools, CO₂ et la reutérine qui ont la capacité d'inhiber la croissance fongique (Crowley et al., 2013b). Elles peuvent aussi dégrader les mycotoxines telles que ; les ochratoxines, les aflatoxines et les toxines de *Fusarium* (Sadiq et al., 2019).

La tendance de l'exploitation des souches de LAB comme agents antifongiques est plus fréquente dans presque tous les secteurs dont la boulangerie et des produits laitiers sont les plus courants.

Les acides organiques sont considérés comme les principaux métabolites des LAB qui affectent considérablement les champignons par l'inhibition de la croissance mycélienne.

Parmi ces acides organiques, l'acide lactique présentant une activité inhibitrice moindre contre les champignons par rapport à d'autres acides organiques tels que l'acide acétique et l'acide propionique.

De plus, il a été déterminé que les acides lactique, acétique et propionique ont un effet sur le retard de croissance (λ) d'*A. niger*, *Penicillium corylophilum* et *Eurotium repens*. La combinaison de l'acide acétique avec les deux conservateurs propionate et sorbate a montré des effets antifongiques additifs contre *A. niger* et *P. roqueforti* dans les pains.

Ces acides, agissent au niveau de la membrane cytoplasmique en perturbant le maintien du potentiel de membrane et inhibent les systèmes membranaires de transport actif (Sadiq et al., 2019).

3.3 Résultats de l'activité antifongique des LAB d'après quelques travaux de recherche

Certains champignons sont responsables de la détérioration des produits alimentaires et ils présentent un véritable danger pour la santé humaine en raison de leur capacité à produire de nombreuses substances toxiques le cas des mycotoxines.

Actuellement la méthode la plus couramment utilisée pour la conservation des aliments est l'utilisation des produits chimiques qui peuvent avoir des conséquences indésirables sur la santé de consommateur (Leyva-Salas et *al.*, 2017). A cet effet, les scientifiques sont toujours à la recherche des alternatives naturelles comme le cas de l'emploi des bactéries lactiques ou de leurs métabolites.

Guo et *al.* (2012) ont étudié l'activité antifongique de 220 souches de *Lactobacillus*, isolées à partir de plusieurs sources (porcs, nourrissons, souris, vache, fromage et céréales), contre trois champignons dermatophytes : *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum* et *Epidermophyton floccosum*. Leur activité a été criblée d'abord contre *A. fumigatus* et *A.niger*. Les résultats obtenus montrent que seulement 8 souches ont une forte activité antifongique : *Lactobacillus brevis* JJ2P, *Lactobacillus brevis* L1105, *Lactobacillus arizonensis* R13, *Lactobacillus arizonensis* R14, *Lactobacillus casei* R4, *Lactobacillus casei* R21, *Lactobacillus reuteri* ee1p et *Lactobacillus reuteri* M13.

Ensuite l'activité antifongique de ces 8 souches ont été testée contre *M.canis* DSM10708, *M. gypseum* DSM3824 et *E.flocage* DSM10709. Les résultats ont montré qu'à peu près 77% des isolats sélectionnés inhibent pour au moins un champignon cible et que *L. reutri* ee1p était la souche qui possède l'activité antifongique la plus élevée en raison de la variété de leurs substances antifongiques : la reutérine, le peroxyde d'hydrogène, les acides gras hydroxylés et des composés phénoliques.

En 2016, un groupe de microbiologiste dirigé par Bulgasem .Y Bulgasem a testé l'activité antifongique des bactéries lactiques isolées du miel naturel contre certains champignons de détérioration. Les résultats ont indiqué que *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus* produisaient des composés pouvant être utilisés pour inhiber la croissance fongique de *Candida* spp .

Synthèse bibliographique

Saladino et *al.* (2016) ont étudié l'amélioration de la durée de conservation du pain de mie. Pour cela, l'activité antifongique de 16 souches des bactéries lactiques (*Bifidobacterium longum* CECT 4551, *B. bifidum* CECT 870T, *B. breve* CECT 4839T, *Lactobacillus adolescentis* CECT 5781T, *L. rhamnosus* CECT 278T, *L. ruminis* CECT 1324, *L. casei* CECT 4647, *L. rhamnosus* CECT 288, *L. johnsoni* CECT 289, *L. casei* CECT 475, *L. plantarum* CECT 749, *L. reuteri* CECT 725, *L. bulgaricus* CECT 4005, *L. paracasei* CECT 4022, *L. salivarius* CECT 4062, *L. salivarius* CECT 4305) a été testée contre deux souches fongiques : *Aspergillus parasiticus* CECT 2681 et *Penicillium expansum* CECT 2268.

La méthode appliquée (disc-diffusion) pour évaluer l'activité antifongique consiste à utiliser le surnageant des cultures lactiques.

LAB sont considérées comme productrices des composés antifongiques si la zone d'inhibition est de diamètre ≥ 8 mm.

Les composants présents dans les milieux de fermentation des bactéries probiotiques ont été testés contre ces deux champignons mycotoxigènes *A. parasiticus* et *P. expansum*.

Les résultats ont montrés que les composants obtenus par la fermentation de *B. bifidum*, *L. ruminis*, *L. rhamnosus* (CECT 288), *L. johnsoni*, *L. plantarum* et *L. bulgaricus* in en milieu MRS inhibent efficacement la croissance de *P. expansum*.

Les mêmes composants, à l'exclusion d'un seul milieu obtenu par la fermentation de *L. bulgaricus*, se sont révélés efficaces également contre *A. parasiticus*, probablement en raison des propriétés antifongiques des produits de fermentation (composés phénoliques et protéines et peptides bioactifs) des LAB présents dans le milieu.

Dans la même étude, une autre expérience a été faite afin de tester l'effet de *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. johnsoni*, *L. rhamnosus* (CECT 288), *L. ruminis* et *B. bifidum* sur l'amélioration de la durée de conservation du pain.

Les résultats ont montrés que les souches mentionnées précédemment ont prolongé la durée de conservation du pain contaminé et elles ont diminué les aflatoxines donc l'utilisation des LAB comme cultures de démarrage avec la levure dans la fabrication du pain prolonge la durée de sa conservation, minimise sa contamination par différents champignons et provoque la réduction des aflatoxines.

Une année après, Fernandez et ses collaborateurs ont établis une étude dans le but de sélectionner une nouvelle culture protectrice et de valider son efficacité en tant qu'inhibitrice de la prolifération fongique dans le fromage de type cottage. L'activité antifongique a été testée contre quatre moisissures d'altération communément isolées du fromage. Il a été

Synthèse bibliographique

démontré que les souches de *Propionibacterium* et de *Lactobacillus* ont été les plus actives et que la souche *Lactobacillus rhamnosus* A238, utilisé seul ou en combinaison avec *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* A026 est le meilleur candidat bioconservateur du fromage frais.

Leyva salas et al. (2018) ont étudié l'effet des combinaisons entre différentes bactéries lactiques ayant une forte activité antifongique, un large spectre d'action et qui sont compatibles à la technologie laitière.

Ces combinaisons ont été configurées en se basant sur 5 différentes souches de lactobacilles, 3 combinaisons ternaires et 10 combinaisons binaires. Les combinaisons ternaires composés de *L. harbinensis*, *L. brevis*, *L. plantarum* avec un des deux souches de *L. rhamnosus* ont été configurées afin de tester leur effet contre *Geotrichum candidum*, *Yarrowia lipolytica*, mais les résultats ont montré aucune amélioration de l'activité antifongique.

Par contre 4 combinaisons binaires A1, A2, A3, A4 composés de 4 souches en particulier *L. Plantarum* utilisé dans 3 combinaisons et *L. harbinensis*, *L brevis* utilisés dans 2 combinaisons ont montré des activités antifongiques élevées.

Après une évaluation de leur sécurité, deux combinaisons A2 et A4 ont été exclues en raison du risque de production d'amines biogéniques par *L. brevis* donc seules A1 et A3 ont été acceptées.

Les combinaisons A1 et A3 composées de *L. plantarum* L244 combiné avec soit *L. harbinensis*. L172(A1) soit avec *L. rhamnosus* CIRM Bia 113(A3) ont montré une amélioration de l'activité antifongique. Cette dernière est due à la grande quantité et la diversité des composés antifongiques produits par rapport aux souches uniques car les composés antifongiques agissent en synergie.

A la fin de cette expérience il a été démontré que les deux combinaisons binaires A1 et A3 sont les meilleures bioprotectrices antifongiques des produits laitiers.

Dans le but de tester l'activité antifongique des souches cliniques de *Lactobacillus* contre les biofilms (un attribut de virulence important) de *Candida albicans* et de s'assurer de leur utilisation en tant que probiotique pour prévenir la candidose buccale, une étude a été réalisée par Rodnei Dennis Rossoni et ses collaborateurs (2018).

D'abord les souches de *Lactobacillus* ont été isolées à partir des sujets exempts de caries, leur activité antifongique a été testée contre trois souches de *C. albicans*, deux souches cliniques (*C. albicans* 60 (CA60) et *C. albicans* 230S (CA230S)) et une souche de référence

(*C. albicans* ATCC 18804).

Trente souches de *Lactobacillus* ont été isolées et évaluées pour leur activité contre les biofilms de *C. albicans* *in vitro*.

Les résultats montrent que *L. fermentum* 20,4, *L. paracasei* 28,4, et *L. rhamnosus* 5.2 ont diminué la formation du biofilm de *C. albicans* en réduisant le nombre de leurs cellules et en inhibant la formation des hyphes. De plus, il a été conclu que les effets inhibiteurs de *Lactobacillus* sur les biofilms de *C. albicans* dans cette étude sont associés à la régulation et à la baisse des niveaux d'expression des gènes ALS3, HWP1, CPH1 et EFG1 donc *L. fermentum* 20,4, *L. paracasei* 28,4 et *L. rhamnosus* 5,2 peuvent être utilisés comme probiotiques dans la cavité buccale pour prévenir le développement de la candidose buccale.

Ouiddir et al. (2019) ont testé l'activité antifongique des différents LAB et leur efficacité en tant que cultures bioprotectrices utilisées dans les produits laitiers et les produits de boulangerie. L'activité antifongique des 30 isolats appartenait au genre *Lactobacillus* et *Leuconostoc* dont 17 *Lactobacillus paracasei*, 2 *Lactobacillus plantarum* et 11 *leuconostoc mesenteroides* à été testée *in vitro* sur milieu MRS puis sur 2 modèles : hydrolysate de la farine de blé (WFH) (produit imitant les produits de boulangerie) et le yaourt miniaturisé (produit imitant les produits laitiers) contre respectivement (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Paecilomyces formosus*) et (*M. ramosus*, *Penicillium commune*, *Yarrowia lipolytica*).

Après elle a été testée *in situ* afin de valider leur efficacité sur des produits réels (crème sure, pain au levain). Dans cette étape la biomasse fongique a été mesurée en quantifiant l'ergostérol, et les composés antifongiques ont été quantifiés à l'aide de l'HPLC et LC-QTOF. Et comme ces produits ont été destinés à la consommation humaine un test de durabilité et des tests sensoriels ont été réalisés.

D'après les résultats obtenus des tests réalisés, il a été démontré que les bactéries lactiques du genre *Lactobacillus* spp. présentaient une activité antifongique plus élevée que celle de *Leuconostoc* spp. et que les genres *Lactobacillus plantarum* (CH1) et *Lactococcus plantarum* (CH2) étaient les plus actifs.

En se basant sur les résultats obtenus par la quantification de l'ergostérol, il s'est avéré que *L. plantarum* (CH1) était la souche la plus active. Ainsi l'analyse HPLC et LC-QTOF ont montré que *L. plantarum* (CH1) produisait des composés antifongiques spécifiques ce qui explique leur efficacité et concernant les tests de durabilité, même dans les conditions les plus favorables (humidité, température...etc.), il a été démontré que *L. plantarum* ralentit la croissance fongique. A la fin de cette étude, il a été constaté que *L. plantarum* est un bon

Synthèse bibliographique

candidat pour des applications industrielles dans les produits laitiers et les produits de boulangerie bien que sa sécurité (résistance aux antibiotiques, synthèse d'amines biogéniques) reste à évaluer.

En 2020 une étude a été réalisée par Lusine et ses collaborateurs dans le but de tester l'activité antifongique des isolats de bactéries lactiques et de leurs associations, ainsi révéler l'effet des cations bivalents Ca^{2+} et Mg^{2+} . Les souches des LAB ont été purifiées à partir de produits laitiers villageois. Pour l'étude de l'activité antifongique, les souches LAB (6 souches) ayant l'activité antagoniste la plus élevée (*L. rhamnosus* MDC 9661, *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* RIN-2003-Ls, *L. delbrueckii* sub sp. *Lactis* MDC 9632, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* MDC 9633, *S. thermophilus* VKPM B-3386, *E. faecium* INR-2010-Tsov-G-S) ont été choisies pour la création de 13 mélanges différents. L'activité antagoniste des associations LAB a été analysée par les méthodes de diffusion totale et de puits. Toutes les expériences ont été réalisées par culture de LAB ou de leurs combinaisons dans un milieu de MRSmod, car il était courant pour les champignons (moisissures) et les LAB. Les moisissures appartenant à différents genres ont été utilisées comme organismes de test : *Mucor plumbeus*, *Geotrichum candidum*, *Fusarium oxysporum*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium aurantioviolaceum*, *Penicillium* sp. et *Trichoderma viride*. La présence d'une activité antifongique a été déterminée en cas d'absence de croissance fongique. Il est intéressant de noter que l'ajout des ions de Ca^{2+} et Mg^{2+} au milieu de croissance des LAB a non seulement induit mais aussi supprimé des effets, et révélé une influence significative sur l'activité antifongique des isolats de LAB et de leurs mélanges cela revenant à leur inclusion dans la composition de la molécule en raison de la modification post-traductionnelle du ou des composants antifongiques. Les 13 différentes associations de LAB ont été démontré une forte activité contre tous les souches fongique dans des périodes différentes. Cela nous permet de considérer que les souches des LAB incluses dans les associations de novo, synthétisent de nouvelles substances douées d'une activité antifongique. Dans la même année, Nebia Zebboudjet ses collaborateurs ont établis une étude pour tester l'activité antifongique des bactéries lactiques isolées du lait de chamelle: *Lactobacillus delbrueckii* sub sp. *bulgaricus* (Ldb), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (Lmd) et *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* (Lld) contre l'espèces de *Fusarium*, agents de la pourriture du collet et des racines de la tomate, la maladie la plus destructrice de la tomate en Algérie (*Solanum lycopersicum*). Les LAB a testé de manière significative contre neuf souches de *Fusarium* spp. sur la gélose au dextrose de la pomme de terre (PDA) et la gélose

Synthèse bibliographique

De Man, Rogosa, Sharpe (MRSa).Après les essais *in vitro* (essai par superposition , test de confrontation directe)et *in vivo*(tests de pathogénicité fongique , essais antagonistes),la détection morphologique et moléculaire des souches des *Fusarium* montrées que Les espèces : *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. redolens*, *F. commune*, *Fusarium rolfsii* et *Fusarium incarnatumequiseti* ont été notées comme espèces très virulentes de champignons pathogènes qui infectent souvent les plants de tomate .Les résultats ont montré que tous les LAB utilisés peuvent réduire de manière significative la croissance de diverses espèces de *Fusarium* phytopathogènes, à la fois par les cultures cellulaires et par leurs métabolites secondaires.L'activité anti-fusarium exercée par la LAB était plus élevée sur le milieu MRS que sur le milieu PDA. Cette étude a également montré que l'effet du (Lmd) était significativement plus important que ceux (Lld) et (Ldb) sur PDA. Cependant, les *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* ont un effet significativement plus important que les autres LAB utilisés sur le milieu MRS. Les résultats *in vivo* antagonistes ont confirmé que Le (Lmd) était significativement plus efficace que le (Ldb) et le (Lld) ,et ont également montré un bon développement des racines des plantes en présence de LAB. Nous suggérons que il est possible d'utiliser les cultures de cellules LAB et leurs métabolites pour réduire l'incidence de la croissance des *Fusarium* *in vitro* et *in vivo* (Nebia Zebboudj et al., 2020).

Conclusion

Les bactéries lactiques sont douées d'une activité antifongique contre différents champignons d'altération des denrées alimentaires, ces bioprotectrices représentent un intérêt croissant comme alternative aux conservateurs chimiques. Après l'analyse des travaux il s'est avéré que les espèces *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus* sont très actifs contre *Candida* spp et que la souche *Lactobacillus rhamnosus* utilisée seule ou en combinaison avec *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* A026 est la meilleure candidate en bioconservation du fromage frais. Il a été démontré également que l'utilisation des bactéries lactiques en combinaison ou culture mixte augmente leur activité antifongique le cas des combinaisons de *L. plantarum* avec soit *L. harbinensis* ou *L. rhamnosus* qui ont montré une amélioration importante de leur activité dans les produits laitiers.

Références bibliographiques

- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., & Varzakas, T. (2020).** Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. *Foods*, 9, 137, 1-48
- Aguirre, M. et Collins M.D. (1993).** Lactic acid bacteria and human clinical infection. *J Appl. Bacteriol.*, 75 :95-107.
- Alshannaq, A. et Yu, J. H. (2017).** Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *International journal of environmental research and public health*, 14(6), 632.
- Axelsson, L. (1998).** Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In: Lactic acid bacteria. Ed. S. Salminen and A. von Wright. Ed., Marcel Dekker. pp. 1-72.
- Axelsson, L. (2004).** Classification and physiology. In :lactic acid bacteria :Microbiological and functional aspects. Salsinen S. ,Wright A.V.,Ouwehand A.3e ed.Newyork, Marcel Dekker ,Inc ,vol.633 ,1-66.
- Aziz, N. H , Fouly, M.Z.El, Abu-Shady, M.R., Moussaal, L.A.A. (1997).** Effect of gamma radiation on the survival of fungal and actinomycetal flora contaminating medicinal plants. *J. Applied Radiation and Isotopes*. p , 71-76.
- Basset, T. et Laffont, C. (2011)** .les contaminations antifongiques. *la lettre de l OCIM*,138 ,p 48-54.
- Bennett, J.W. et Klich, M. (2003).** Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev.* Jul; 16(3):497-516.
- Bennett, R., Mellon, F., Foild, N., Pratt, J., Dupont, M., Perkins, L., Kroon, P.(2003).** Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose tree *Moringa oleifera*. *J. Agric. Food Chem.*, 51 (12): 3546-3553.
- Bjorkroth, J. et Holzapfel, W. (2006)** .*Genres leuconostoc, Oenococcus et Weissella .les procaryotes 4*, p267-319.
- Bulgasem Y.Bulgasem, Mohd Nizam Lani,Zaiton Hassan,Wan Mohtar Wan Yusoff &Sumaya G. Fnaish.(2016).** Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Natural Honey against Pathogenic *Candida* Species. *Mycobiology* p44,302-309.DOI: 10.5941/MYCO.2016.44.4.302
- Bullerman, L. B. (2003).** *Fungi in Food – An Overview*. Elsevier Science Ltd , 5511–5522
- Cabanes, F.J, Accensi, F, Bragulat M . (2002)** .What is the source of ochratoxin A in wine ? *Inter. J. of FoodMicrobiol.* P 79,213-215.
- Chapeland-Leclerc, Papon, N., Noël, T., Villard, J. (2005).** Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoles) .
- Chulze, S.N. (2010).** Strategies to reduce mycotoxins levels in maize during storage : review. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* May; 27(5):651-7.
- Collins, M.D., Farroc, J.A.E., Phillips, B.A., Fergus, S. et Jones, D. (1987).** Classification of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola*, and some catalase-negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus *Carnobacterium*. *Int. J.Syst. bacteriol.*, p37:310-316.
- Collins, M. D., Williams, A. M. et Wallbanks, S. (1990).** The phylogeny of *Aerococcus* and *Pediococcus* as determined by 16sr RNA sequence analysis: description of *Tetragenococcus*, gen. nov., EFMS. *Microbiol.*

Références bibliographiques

Lett., P70: 255-262.

- Crowley S., Bottacini F., Mahony J., van Sinderen D. (2013).** Complete Genome Sequence of *Lactobacillus plantarum* Strain 16, a Broad-Spectrum Antifungal-Producing Lactic Acid Bacterium. *Department of Microbiology*, doi: 10.1128/genomeA.00533-13
- Crowley S., Mahony J., & van Sinderen . (2013).** Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, P33(2), 93–109
- D'Mello, J. P. F.; Macdonald, A. M. C . (1997) .** Mycotoxins . *Feed Sci. Technol.*, P 69 (1-3): 155-166
- DESFLEURS M .(1980).** Accidents de fabrication des fromages a pate molle. *Brochure Lactolabo.*
- DesmazeaudMJ.(1992) .** Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. *A review. Le Lait, INRA Editions*, pp.1-34 .
- De Roissart, H. et Luquet, F.M. (1994).** Les bactéries lactiques. *Uriage, Lorica, France*, 1 :1-286.
- De Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H. and Whitman W. B. (2009).** The Firmicute. Springer. New York. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2 ed.*, P. 63-67
- Dortu, C. et Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* P13 143-154.
- Eaton .David L. and Evan P. Gallagher (1994).** MECHANISMS OF AFLATOXIN CARCINOGENESIS *Pharmacol. Toxicol.* P34
- Eskola J, Kilpi T, Palmu A, Jokinen J, Haapakoski J, Herva E, Takala A, Käyhty H, Karma P, Kohberger R, Siber G, Mäkelä PH .(2001).** Finnish Otitis Media Study Group. Efficacy of a pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media. *N Engl J Med*; 344(6):403-9.
- Fernandez, B., Vimont, A., Foucault, E.D., Daga, M., Arora, G. et Fliss, I.(2017) .** Antifungal activity of lactic and propionic acid bacteria and their potential as protective culture in cottage cheese. *Food Control*, 350-356.
- Franz C.M.A.P., M.E. Stiles, K.H. Schleifer, W.H.(2003).** Holzapfel Enterococci in foods - A conundrum for food safety. *Int. J. Food Microbiol.* p. 105-122
- Gauthier, A. (2016).** Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. *Sciences pharmaceutiques.*
- Garvie, E.I. (1986).** Genus *Leuconostoc*. In: P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.G. Holt (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams & Wilkins, Baltimore, MD*, pp. 1071-1075.
- Gerbaldo G.A, Barberisa C, Pascuala L, Dalceroa A, Barberisa L. (2012).** Antifungal activity of two *Lactobacillus* strains with potential probiotic properties. *Microbiology Letter*, P332, 27-33.
- GUEZLANE-TEBIBEL Nadjet, BOURAS Nouredine , OULD EL HADJ Mohamed Didi (2016) .** LESMYCOTOXINES: UN DANGER DE SANTÉ PUBLIC. *Algerian journal of arid environment* 35 vol 6 n°1 :32-46.
- Guo, J., Brid Brosnan, Ambrose Furey, Elke K. Arendt, Pdraigin Murphy et Aidan Coffey.(2012).** Antifungal activity of *Lactobacillus* against *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* and *Epidermophyton floccosum* , *Bioengineered*, 3 :2,104-113.
- HADEF, S. (2012).** Évaluation des aptitudes technologique et probiotiques des bactéries lactiques locales, *Kasdi merbah-ouargla. Magister*: 135.
- Hogg T.(2005).** Essential microbiology. *JohnWiley and Sons*, p188-190.

Références bibliographiques

- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Stanley, J. T., Williams, S. T. (1994).** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed.* Williams & Wilkins, Co., Baltimore
- Hocking, A. D. (2014).** Spoilage Problems: Problems Caused by Fungi. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (Second Edition, Vol. 3).
- J.M. Hardie R.A. Whiley (1997).** Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *J. Applied Microbiology*. V83
- Kaushik, G. (2015).** Effect of processing on mycotoxin content in grains. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*;55:1672–1683.
- Kimura, K.I., Ote, M., Tazawa, T., Yamamoto, D. (2005).** Fruitless specifies sexually dimorphic neural circuitry in the *Drosophila* brain. *Nature* 438(7065): 229--233.
- Konig H., Frohlich J. (2009)** .Biology of microorganisms on grapes in must and in wine. ed springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 109p .
- Laref, N. (2014).** L'étude de l'activité antifongique des lactobacilles et leur effet sur la croissance d'*Aspergillus* sp. *thèse de doctorat, université Oran.*
- Lee, H.J. et Ryu, D. (2017).** Worldwide Occurrence of Mycotoxins in Cereals and Cereal-Derived Food Products: Public Health Perspectives of Their Co-occurrence. *J. Agric. Food Chem.*
- Leclerc, H., Deveriese, L.A et Mmsel, D.A.A. (1996)** .Taxonomical changes in intestinal (faecal) enterococci and streptococci: consequences on their use as indicators of faecal contamination in drinking water. *J. Appl. Bacteriol.* 81: 459-466.7.
- Leyva Salas, M., Mounier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A., Coton, E. (2017)** . Antifungal microbial agents for food biopreservation .A Review. *Microorganisms V. 37. 641.*
- Leyva-Salas, M.L., Anne Thierry, Mathilde Lemaître , Gilles Garric , Marielle Harel-Oger, Manon Chatel , Sébastien Lê, Jérôme Mounier , Florence Valence et Emmanuel Coton (2018)** .Activité Antifongique Des Combinaisons De Bactéries D'acide Lactique Dans Les Modèles D'imitation Des Produits Laitiers Et Leur Potentiel Comme Cultures Bioprotectrices Dans Les Applications à L'échelle Pilote face. *Microbiol*
- Limsowtin G.K.Y., Broome M.C et Powell I.B .(2004).** *lactic acidbacteria, taxonomy. In Encyclopedia of Dairy Sciences.* P1470-1478.
- Lusky ,Y. Shacham-Diamand ; I. Bloom ; B. Eitan (2001).** Characterization of channel hot electron injection by the subthreshold slope of NROM/sup TM/ device . *IEEE Electron Device Letters* p 556 – 558 DOI: 10.1109/55.962662
- Lusine A. Matevosyan· Inga L. Bazukyan· Armen H. Trchounian(2020).** Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Isolates and Their Associations: The Effects of Ca and Mg Divalent Cations. *Current Microbiology* p8.
- Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G., Sanchis, V. (2013).** Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chem. Toxicol.*;60:218–237.
- Magnusson, J, Ström K, Roos S, Sjogren J, Schnürer J. (2003).** Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 219, 129-135.

Références bibliographiques

- Moretti, A. (2017).** Mycotoxigenic Fungi. *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, 1542, 58–59.
- Moretti, A., Logrieco, A.F., Susca, A. (2017).** Mycotoxins: An underhand food problem. *Methods Mol. Biol.*;1542:3–12.
- Mousavi Khaneghah, A.; Fakhri, Y.; Gahruie, H.H.; Niakousari, M.; Sant’Ana, A.S. (2019).** Mycotoxins in cereal-based products during 24 years (1983–2017): A global systematic review. *Trends Food Sci. Technol.*, 91, 95–105.
- Moreau, C., Verneau, O., F.M. Catzefflis and F. Renaud (1994).** Phylogeny of flatfish (Pleuronectiformes): comparisons and contradictions of molecular and morpho-anatomical data. *J. Fish Biol.* 45(4):685-696.
- Ouiddir, M., Guessas Bettache, Marcia Leyva Salas, Audrey Pawtowski, Christelle Donot, Samira Brahimi, Kihel Mabrouk, Emmanuel Coton, Jérôme Mounier. (2019).** Selection of Algerian lactic acid bacteria for use as antifungal bioprotective cultures and application in dairy and bakery products. *Food Microbiology*, p160-170.
- Padonou, S. W., Schillinger, U., Nielsen, D. S., Franz, C. M., Hansen, M., Hounhouigan, J. D., Nago, M. C. & Jakobsen, M. (2010).** *Weissella beninensis* sp. nov., a motile lactic acid bacterium from submerged cassava fermentations, and emended description of the genus *Weissella*. *Int J Syst Evol Microbiol* 60, 2193–2198.
- Pereira V.L., Fernandes J.O., Cunha S.C. (2014).** Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. *Trends Food Sci. Technol.*;36:96–136.
- Pfohl-Leszkowicz, A. (1999).** Les mycotoxines dans l’alimentation : évaluation et gestion du risque. Paris : Tec and Doc, 478p .
- Pringsulaka O., Thongam N., Suwannasai N., Atthakor W., Pothivejkul K. and Rangsiruji A. (2011)** .partial characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from the fermented meat and fish products *food control*, 23 ;547-551.
- Rossoni, R.D., Patrícia Pimentel de Barros, Janaina Araújo de Alvarenga, Felipe de Camargo Ribeiro, Marisol dos Santos Velloso, Beth Burgwyn Fuchs, Eleftherios Mylonakis, Antonio Olavo Cardoso Jorge & Juliana Campos Junqueira (2018)** . Activité antifongique des souches cliniques de *Lactobacillus* contre les biofilms de *Candida albicans* : identification des candidats probiotiques potentiels pour prévenir la candidose buccale. *Biofouling*, 34:2, 212-225.
- Sadiq, F.A., Yan, B., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H. et Chen, W. (2019).** Lactic Acid Bacteria as Antifungal and Anti-Mycotoxigenic Agents. *Institute of Food Technologists*, p1541-4337.
- Salminen, S., Wright, A.V., Ouwehand, A. (2004).** Lactic acid bacteria: microbiological and functional Aspects . *Marcel Dekker, Inc., U.S.A.* V.42
- Saladino, F., Luz, C. Lara Manyes, Mónica Fernández-Franzón, Giuseppe Meca (2016).** In vitro antifungal activity of lactic acid bacteria against mycotoxigenic fungi and their application in loaf bread shelf life improvement *food control* ,p23
- Shepard D., Michael S. Gilmore, Wolfgang Haas. (2002).** Two-component regulator of *Enterococcus faecalis* cytolysin responds to quorum-sensing autoinduction. *letters to nature*, V 84 87
- Simpson W.J. et H. Taguchi (1995).** The genus *Pediococcus*, with notes on the genera *Tetratogenococcus* and *Aerococcus*. *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. 125-127

Références bibliographiques

- Tola, M. et Kebede, B. (2016).** Occurrence, importance and control of mycotoxins: A review. *Cogent Food Agric.*, 2, 1–12.
- Teuber, M., et Geis, A. (2006).** The genus *Lactococcus*. *Prokaryotes*. 4: 205-228.
- Yiannikouris Alexandros et Jean-Pierre Jouany(2002)** .Mycotoxins in feeds and their fate in animals. *a review* p 81 – 99.
- Zebboudj, N., Wassim Yezli, Nisserine Hamini-Kadar, Mebrouk Kihal .(2020).** Antifungal activity of lactic acid bacteria against *Fusarium* species responsible for tomato crown and root rots. *Environmental and Experimental Biology* .18: 7–13
- Zhang et Cai. (2014).** Application of Langlois' Reagent in Trifluoromethylation Reactions. *Review* .p356, 2895 – 2906 .DOI: 10.1002/adsc.201400370

Résumé

La contamination des denrées alimentaires par des moisissures est un problème grave et difficile à gérer car il conduit à d'énormes pertes économiques.

Les mycotoxines ont été reconnues comme l'un des polluants les plus dangereux dans l'alimentation. Actuellement, il existe un intérêt majeur pour l'amélioration de la qualité et de la sécurité alimentaire par des méthodes de préservation et de protection naturelle qui impliquent l'utilisation des microorganismes ; tels que les bactéries lactiques avec des propriétés inhibitrices des champignons.

Pour cela, plusieurs recherches ont été réalisées pour tester l'activité antifongique de plusieurs souches des bactéries lactiques utilisées seules ou en combinaisons.

Les résultats de ces travaux ont montrés que les espèces des genres *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*) et *Pediococcus* (*Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus*) sont très actives contre les *Candida* spp.

En outre, la souche *Lactobacillus rhamnosus* utilisée seule ou en combinaison avec *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* A026 est très efficace dans la bio conservation du fromage frais. Il a été démontré également que l'utilisation des cultures lactiques mixtes augmente l'effet antifongique, le cas des combinaisons composées de *L. plantarum* avec *L. harbinensis* soit avec *L. rhamnosus* qui ont montré une amélioration importante de leur activité dans les produits laitiers.

Les mots clés: activité antifongique, bactéries lactiques, inhibition, moisissures.

Abstract

Mould contamination of food is a serious and difficult problem to manage as it leads to huge economic losses.

Mycotoxins have been recognized as one of the most dangerous pollutants in food. Currently, there is a major interest in improving food quality and safety through natural preservation and protection methods that involve the use of microorganisms; such as lactic acid bacteria with fungal inhibitory properties.

To this end, several researches have been carried out to test the antifungal activity of several strains of lactic acid bacteria used alone or in combination.

The results of this work showed that species of the genera *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*) and *Pediococcus* (*Pediococcus acidilactici* and *Pediococcus pentosaceus*) are very active against *Candida* spp.

In addition, the *Lactobacillus rhamnosus* strain used alone or in combination with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* A026 is very effective in the biopreservation of fresh cheese. It has also been shown that the use of mixed lactic cultures increases the antifungal effect, the case of combinations composed of *L. plantarum* with *L. harbinensis* or with *L. rhamnosus* which have shown a significant improvement of their activity in dairy products.

Keywords: antifungal activity, inhibition, lactic acid bacteria, mould.

الملخص

يعد تلوث الأغذية بالعضن و الفطريات السامة مشكلة خطيرة وصعبة التحكم فيها لأنها تؤدي إلى خسائر اقتصادية هائلة.

تعد السموم الفطرية واحدة من أخطر الملوثات. حيث يوجد حاليًا اهتمام كبير بتحسين جودة الأغذية وسلامتها من خلال طرق الحفظ والحماية الطبيعية التي تنطوي على استخدام الكائنات الحية الدقيقة؛ مثل بكتيريا اللبن التي تتميز بإنتاجها لمواد تثبط نمو للفطريات.

لهذا، اهتمت عدة دراسات باختبار النشاط المضاد للفطريات للعديد من سلالات بكتيريا اللبن باستخدام عزلة واحدة أو عدة عزلات مع بعض.

أظهرت نتائج هذا العمل أن الأنواع من جنس *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*) و (*Pediococcus acidilactici*) و *Pediococcus pentosaceus* و *Pediococcus* فعالية ضد *Candida* spp.

بالإضافة إلى ذلك، أثبتت البكتيريا *Lactobacillus rhamnosus* عند استخدامها وحدها أو بالاشتراك مع *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* A026 فعاليتها في حفظ الجبن الطازج. وقد ثبت أيضًا أن استخدام مزارع اللاكتيك المختلطة يزيد من التأثير المضاد للفطريات، حالة الأنواع المكونة من *L. plantarum* مع *L. harbinensis* أو *L. rhamnosus* والتي أظهرت تحسنًا ملحوظًا في نشاطها في حفظ منتجات الألبان.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا اللبن، تثبيط، نشاط مضاد للفطريات، العضن الفطري.