

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

**Utilisation des bactéries lactiques comme agent antifongique *vis -à-vis*
d'*Aspergillus* section *Nigri* isolé à partir des figes sèches**

Présenté par :

LEHOUCHE Naziha & LALLOUCHE Ibtissem

Soutenu le :13 septembre 2022

Devant le jury composé de :

Mr KECHA Mouloud	Professeur	President
Mme DIB Sabrina	MCA	Examinatrice
Mr BOUKHALFA Farid	MCA	Promoteur
Mr ARROUL Younes	Doctorant	Co-promoteur

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciement

Nous tenons à remercier tout d'abord notre Dieu Allah, tout puissant de nous avoir donné la bonne santé, la force et le courage et surtout la patience d'accomplir pendant toutes ces années d'étude et de scarification ce modeste travail.

*Nos sincères remerciements et gratitude à Monsieur **Boukhalfa Farid** pour sa patience, ses orientations et ses conseils, sa grande disponibilité et sa bienveillance.*

*Et à notre Co-Promoteur Monsieur **ARROUC Younes**, nous les remercions chaleureusement pour leur gentillesse ainsi que pour leurs précieux conseils, leurs judicieuses orientations, leur encouragement.*

On remercie vivement et sincèrement :

*Mr **Kesha Mouloud** en étant président du jury de soutenance.*

*Mme **Dib sabrina** pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

A toute l'équipe de laboratoire de biomathématique, biophysique, biochimie et de scientométrie (L3BS), qui nous ont accueilli et mis à notre disposition les conditions matérielles nécessaires pour la réalisation de ce mémoire tout au long de la période de recherche.

Un grand merci à nos enseignants, qui nous ont accompagnés tout le long de notre formation durant notre cursus universitaire.

Enfin, nous ne remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail

A l'âme de mon cher père celui qui était toujours mon exemple éternel dans la vie et ma fierté, j'ai toujours voulu qu'il soit avec moi dans les plus beaux jours de ma vie, pour que je puisse le voir fière de moi, mais le destin le voulait et je ne pouvais que de prier pour lui, paix a ton âme chers papa

A la plus belle créature de dieu mon trésor et ma source de bonheur maman

A mes adorables sœurs Houria ; Akila ; Hanane ; Ouarda ; Rahima qui ont été à mes côtés chaque instant

A mes chères amies Nesrin ; Ibtissem ; Hassiba ; Massilia ; Sarah et Manel pour leurs amours, leurs encouragements dans les moments les plus difficiles de ma vie, je veux leur dire que je les aime tellement

A Dyhia Lounis Pour ses conseils et surtout pour son soutien moral dans les moments les plus difficiles.

A toutes ma famille

A tous ceux que j'aime

A mes échecs et à mes succès qui m'ont fait apprendre à vivre

Nazîha

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes chères parents aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon Amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être. Puisse Dieu le très haut, vous accorder la santé, le bonheur et longue vie.

A ma deuxième maman Taous, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager par son amour et son soutien.

A ma chère sœur khaloua et son mari Amine pour leurs aides morales et matérielles et leurs soutiens et conseils précieux tout au long de mes études.

A mon seul et unique frère islam pour son support et sa patience, merci d'être toujours à mes côtés.

A mon adorable petite sœur Asma qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mes chers anges : Ahmed, Sadja et Ilyan les sources de mon bonheur et de ma joie.

A mes chères amies : Sara, Naziha, Nesrine, Hassiba, Massilia pour leurs soutiens, leurs encouragements et surtout leurs amours. Merci pour tous les moments heureux que nous avons partagés et pour tous les souvenirs inoubliables, je vous aime.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Ibtissem

Liste des tableaux

Tableau I : Composition biochimique de la figue sèche et fraîche (Favier <i>et al.</i>,1993)	4
Tableau II : Composition minérale (mg/ 100g) de la figue fraîche et sèche (Favier <i>et al.</i>, 1993).....	5
Tableau III : Echantillons sélectionnés selon le lieu de récolte, la variété, l'altitude et la date de récolte	12
Tableau IV : Observation macroscopique d' <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> sur les milieux PDA et CYA..	20
Tableau VI : Aspect microscopique d' <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i>	21

Liste des figures

Figure 1: Représentation schématique (a) et Aspect microscopique(b) des principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i> (Pasqualotto, 2010).....	6
Figure 2 : Fragments des figes déposés dans une boîte de Pétri contenant le milieu DG18.....	14
Figure 3 : La méthode des puits utilisée pour la recherche de substances antifongiques (Barefoot et Kaenhammer, 1983).....	17
Figure 4 : Aspect des boîtes après culture observées à l’œil nu sur milieu DG18, des deux variétés « TAAMRIWT » (A) et « AVERKAN » (B), de la région Beni-maouche.....	18
Figure 5: Aspect des boîtes après culture observées à l’œil nu sur milieu DG18, des deux variétés « TAAMRIWT » (A) et « AVERKAN » (B), de la région Bouandas.....	19
Figure 6: Aspect des colonies d' <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> après 5 j à 30° C, (A) sur le milieu CYA et (B) sur le milieu PDA.....	20
Figure 7 : Mise en évidence de la production d’OTA par l’ <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> sur le milieu CYA par fluorescence sous lumière UV (365nm).....	22
Figure 8: Aspect de <i>Streptococcus salivarius ssp thermophilus</i> isolé à partir de yaourt sur milieu solide MRS.....	22
Figure 9 : <i>Streptococcus salivarius ssp thermophilus</i> sous microscope optique au grossissement (G×40) a l’état frais.....	23
Figure 10 : <i>Streptococcus salivarius ssp thermophilus</i> sous microscope optique au grossissement (G× 100) après coloration de Gram.....	23
Figure 11: Résultat de test catalase.....	24
Figure 12: Mise en évidence de l’activité antifongique des souches de bactéries lactiques à l’égard d’ <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> sur le milieu MEA.....	24

Liste des abréviations

Aw : Activité de l'eau

MRS : Gélose man rogosa sharpe

MEA: Malt Extract Agar

CYA: Czapek yeats Agar

DG18: Dichlorane 18% Glycérol Agar

PDA: Potato Dextrose Agar

OTA : Ochratoxine A

Rpm : Rotation par minute

TDR : Detection rapide

Sp : Espèce

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Introduction 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur le figuier et la figue 3

I.1 Le figuier et la figue..... 3

I.2. Séchage de la figue 3

I.2.1 Séchage Traditionnelle..... 4

I.2.2 Séchage moderne ou industriel..... 4

I.3 Valeur nutritionnelle de la figue..... 4

I.4 Effets thérapeutiques des figues sèches 5

I.5 Les moisissures dans les figues sèches 5

II. Les champignons et mycotoxines..... 6

II.1 Les principales moisissures d'altération de la figue sèche..... 6

II.1.1 Le genre *Aspergillus* 6

II.1.2 *Aspergillus* section *Nigri*..... 7

II.2. Les mycotoxines 7

II.2.1 L'Ochratoxine A..... 8

II.3 Prévention et lutte contre l'*Aspergillus* section *Nigri* et leur toxine..... 8

II.3.1 Les méthodes chimiques..... 8

II.3.1.1 Les fongicides..... 8

II.3.2 Les méthodes physiques..... 9

II.3.3 La stratégie de bio-contrôle..... 9

II.3.3.1 Les bactéries lactiques en lutte biologique..... 9

III. Les bactéries lactiques..... 10

III.1	Activité antifongique des bactéries lactiques.....	10
III.2	Les bactéries lactiques à pouvoir antifongique.....	10
III.2.1	Le genre <i>Lactobacillus</i>	10
III.2.2	Le genre <i>Streptococcus</i>	11
III.3	Les substances antifongiques des bactéries lactiques.....	11

Chapitre II : Partie expérimentale

I.	Matériel et méthodes.....	12
I.1	Echantillonnage	12
I.2	Recherche et l'isolement d' <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i>	13
I.2.1	Purification des isolats.....	14
I.2.2	Identification des isolats.....	14
I.2.2.1	Identification macroscopique.....	14
I.2.2.2	Identification microscopique.....	15
I.3	Etude du pouvoir Ochratoxinogène des souches isolées.....	15
I.3.1	Préparation de la suspension sporale.....	15
I.3.2	Détection rapide de la capacité ochratoxinogène sur le milieu CYA.....	15
I.4	Revivification des souches lactiques	15
I.5	Isolement de <i>streptococcus salivarius ssp thermophilus</i> à partir d'un yaourt.....	16
I.5.1	Purification des souches.....	16
I.5.2	Identification des isolats	16
I.5.2.1	Critères morphologiques.....	16
I.5.2.2	Critères physiologiques et biochimiques.....	16
I.6	La recherche de l'activité antifongique.....	17
I.6.1	Méthode des puits	17
II.	Résultats et discussion.....	18
II.1	Isolement d' <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i>	18
II.1.1	Identification morphologique	19
II.1.1.1	Identification macroscopique.....	20
II.1.1.2	Identification microscopique.....	20
II.2	Etude du pouvoir ochratoxinogène de la souche isolée.....	21
II.3	Isolement et identification de <i>Streptococcus salivarius ssp thermophilus</i>	22
II.3.1	Critères morphologiques.....	22

II.3.1.1 Caractéristiques macroscopiques.....	22
II.3.1.2 Caractéristiques microscopiques.....	23
II.3.2 Critères physiologiques et biochimiques.....	24
II.4 La recherche de l'activité antifongiques des bactéries lactiques.....	24

Conclusion

Conclusion et perspectives	26
----------------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Introduction

La figue est considérée comme un aliment fonctionnel, grâce à sa composition très énergétique riche en vitamines, minéraux essentiels, fibres alimentaires, protéines et en composés phénoliques (**Grigoras, 2012**), mais sont très périssables avec une durée de vie de deux jours à température ambiante (**Sharifian et al., 2012**), et afin de prolonger leur disponibilité et les stockées de 6 à 8 mois, la majeure partie de la production est destinée au séchage (**Slatnar et al., 2011**).

Les figes sèches sont habituellement attaquées par plusieurs organismes nuisibles, notamment les insectes et les micromycètes. Les dommages causés par les insectes sont loin d'être sous-estimés, mais ceux causés par les champignons mycéliens ne devraient pas être négligeables (**Pitt et Hocking, 1997**).

La contamination fongique des aliments provoque des altérations physiques et d'autres biochimiques. Un grand nombre d'espèces fongiques appartenant principalement au taxon *Aspergillus* notamment les *Aspergillus* du groupe *Nigri* présentes dans l'air ambiante, le sol et sur les cultures...etc. Elles sont capables d'altérer plusieurs denrées alimentaires en se proliférant sur certains substrats tels que les figes sèches et bien sur provoquer des intoxications en produisant des molécules à pouvoir toxique à savoir l'ochratoxine A, qui est potentiellement néphrotoxique et cette mycotoxine peut au fil du temps nuire à la santé du consommateur et ceci sans parler des grandes pertes économiques dans le monde entier. Parmi les mycotoxines produites, l'Ochratoxine A qui est considérée comme l'une des mycotoxines les plus abondantes et les plus toxiques. Toutefois, la présence de champignon microscopique dans un produit alimentaire ne signifie pas nécessairement la production des mycotoxines (**wu, 2006**).

L'être humain a cherché pendant des années un moyen de lutte contre ce fléau et de pouvoir réduire les niveaux de contamination des différents produits alimentaires, malgré les avancées technologiques et les découvertes faites dans le domaine des sciences, cela reste un défi majeur pour les industries alimentaires. De nombreuses méthodes physiques et chimiques ont été développées dans le but d'inhiber la croissance fongique dans les aliments et après moult essais il a été conclu que la clé repose entre les mains des bactéries lactiques qui s'avèrent être une arme efficace dans la lutte à l'égard de la multiplication fongique (**Varsha et Nampoothiri, 2016**).

Les bactéries lactiques sont considérées comme les meilleurs candidats pour la protection d'une large gamme de produits alimentaires *vis-à-vis* la flore d'altération (**Sadiq et al., 2019**).

Ces microorganismes peuvent inhiber la croissance fongique ou la propagation des conidies dans les aliments en raison de la production de plusieurs composés antifongiques tels que les acides organiques, les acides gras, les acides carboxyliques, les lactones, les alcools, le peroxyde d'hydrogène, le d'acétyle, le CO₂, les bactériocines, les composés protéiques ou les dipeptides cycliques (**Crowley et al., 2013**). Lorsque les mycotoxines sont déjà produites par des micromycètes dans les aliments, les bactéries lactiques peuvent dégrader ou réduire leurs contenus grâce à divers mécanismes, notamment l'adsorption sur la paroi cellulaire et la biodégradation (**Sadiq et al., 2019**).

L'objectif de cette étude est de tester certaines souches lactiques qui peuvent posséder la propriété d'inhibition sur la croissance d'*Aspergillus* section *Nigri*, isolée à partir des figes sèches.

Afin d'atteindre le but envisagé, le document est divisé en trois parties. La première partie est consacrée à une étude bibliographique sur le figuier et la figue, la flore fongique d'altération potentiellement toxigène et les bactéries lactiques utilisées comme un moyen de lutte biologique et de réduction des niveaux de contamination par les mycotoxines. La deuxième partie est réservée aux matériels et protocoles expérimentales utilisés dans cette étude. La troisième partie du travail concerne les principaux résultats et leurs discussions et finalement une conclusion et des perspectives sont proposées.

*Chapitre I : Partie
bibliographique*

*Généralités sur le
figuier et la figue*

I. Généralités sur le figuier et la figue

I.1 Le figuier et la figue

Le figuier *Ficus carica* est un arbre de la famille des Moracées. Son nom botanique provient de mot « *Ficus* » qui signifie verrue et le mot « *carica* » indiquant une région en Turquie où il a découvert pour la première fois (**Vidaud, 1997**). Cet arbre originaire de Moyen-Orient et des bords de méditerranée où il est actuellement abondant depuis des millénaires. Il est aujourd'hui consommé dans le monde entier (**Mat Desa, 2019**).

Le fruit du figuier commun est appelé *la figue*, est composée d'une pellicule (peau ou épiderme), une pulpe composée d'un réceptacle contenant les graines (akènes), un ostiole (œil ou opercule) et un pédoncule (**Haesslein et Oreiller, 2008**).

Il existe plus de 700 variétés dans le monde (**Proffit et al., 2008**). Le moyen classique d'identification des génotypes est basé sur les caractères morphologiques tel que ; la taille, la forme du fruit, la couleur de l'épiderme, et on distingue ; **les figues blanches** avec un épiderme jaune à vert et une pulpe rouge assez sucrée, et **les figues colorées** avec un épiderme brun, rouge, violet et même noir et une chair plus ou moins foncée (**Sinha, 2003**).

Pour la production, seules les variétés femelles sont cultivées, et peuvent être bifères (donnant deux récoltes par an, au printemps sur les rameaux de l'année précédente et en automne sur ceux de l'année en cours) ou unifères (fructifient une seule fois en fin d'été).

La production mondiale des figues, de la campagne agricole 2017, est d'environ un million de tonnes. La Turquie est le plus grand producteur des figues au monde avec une production moyenne de 260 508 tonnes (25% de la production mondiale) suivie par l'Egypte, l'Algérie, l'Iran et le Maroc (**FAO, 2017**).

En ce qui concerne la culture du figuier en Algérie, la majorité est concentrée (65%) dans les régions du kabyle à savoir ; Bejaia, Sétif, Bourdj Bou Arreridj, Tizi Ouzou, et Bouira (**DSA, 2019**), avec une superficie occupée 39830 hectares, environ 6,9 % des plantations fruitières.

I.2 Séchage de la figue

Les figues fraîches sont très périssables, c'est pourquoi elles sont surtout séchées ou mises en conserve. Le séchage est l'une des méthodes de conservation les plus pratiquées jusqu'à présent, c'est un processus d'élimination de l'humidité par l'action de la chaleur. Il sert de conservation en inhibant l'activité de l'eau dans les produits frais (**Mat Desa, 2019**).

I.2.1 Séchage Traditionnelle

Le séchage traditionnel des figues est très fréquent dans les régions où le figuier est répandu, a été le premier système de stockage utilisé.

Les figues sont étalées sous le soleil dans un endroit bien aéré sur les claies, de façon à ce qu'elles ne se touchent pas, facilitant ainsi la circulation de l'air autour des fruits. Pour un séchage régulier, les fruits doivent être retournés chaque jour. Pour ne pas s'altérer, les claies sont mises à l'abri le soir. Le séchage dure trois à six jours, selon la température de la saison. Les figues sont considérées sèches lorsqu'elles acquièrent une élasticité au touché et ne laissent pas s'écouler de sirop sous l'effet d'une pression entre le pouce et l'index (**El Khaloui, 2010**).

Cette méthode permet d'obtenir des figues avec une qualité organoleptique vraiment satisfaisante. C'est un procédé simple et moins coûteux, mais il prend beaucoup de temps (**Faleh et al., 2012**).

I.2.2 Séchage moderne ou industriel

Le séchage moderne (industriel) est basé sur l'utilisation des séchoirs conventionnels (fours) ou des séchoirs hybrides (four et solaire) pour la déshydratation. Ce type de séchage est intéressant vu ses avantages par rapport au traitement traditionnel, car le processus est plus hygiénique et contrôlable (**Barbosa-Canovas et Vega-Mercado, 1996**).

I.3 Valeur nutritionnelle de la figue

La figue est consommée par l'Homme vu qu'il constitue une excellente source d'énergie, minéraux, vitamines, acides aminés et fibres diététiques ce qui contribue positivement à la santé humaine (**Oliveira et al., 2010**). La composition moyenne de la figue à l'état sèche et fraîche est représentée dans les tableaux I et II.

Tableau I : Composition biochimique de la figue sèche et fraîche (**Favier et al., 1993**)

Composition (g/100g)	Figue fraîche	Figue sèche
Eau	79,5	25
Protéines	0,9	3,2
Lipides totaux	0,2	1,2
Glucides	13	53
Fibres alimentaires	2,3	8

Tableau II : Composition minérale (mg/100g) de la figue fraîche et sèche
(Favier *et al.*, 1993).

	Figue fraîche	Figue sèche
Sodium	3	14
Potassium	232	770
Calcium	60	160
Fer	0,78	2,5
Phosphore	0,26	71
Magnésium	18	62

I.4 Effets thérapeutiques des figues sèches

La consommation régulière des figues contribue à abaisser l'hypertension artérielle, contrôler le cholestérol, soulager la constipation, prévenir le cancer du côlon, contrôler le taux de glucose dans le sang, prévenir l'apparition du diabète du type 2 et constitue un important draineur des voies respiratoires et intestinales. Récemment, les aspects pharmacologiques de *Ficus carica* ont été spécifiquement examinés et ont montré que cette plante Possède des effets anti-tumoraux, en réduisant la toxicité et les effets secondaires en actinothérapie et en chimiothérapie ; permet de contrôler l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie, et renforcer la résistance à l'oxydation ; A une action contre les bactéries et les virus (Zhang et Jiang, 2006).

Les figues ont été étudiées et prouvées leurs effets antioxydants, antivirales, antibactériens, hypocholestérolémiants, hypotriglycéridémiants, anthelminthiques, spasmolytiques antiplaquettaires et anticancéreux (Bouaziz *et al.*, 2009).

I.5 Les moisissures dans les figues sèches

Les figues sèches sont des produits susceptibles d'être contaminés par des moisissures et leurs toxines dont l'Ochratoxine A et l'aflatoxine sont les deux mycotoxines les plus détectés (Heperkan *et al.*, 2012). Cette contamination se produit, à la fois pendant les périodes de pré-récolte et de post-récolte, ainsi qu'au cours de séchage, le stockage et le transport.

Bien que, les aflatoxines sont principalement considérées comme des contaminants de terrain tandis que l'Ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine liée au séchage et au stockage produite par les champignons *Aspergillus* et *Penicillium* (Bircan, 2009).

*Les champignons et
mycotoxines*

II. Les champignons et mycotoxines

Les champignons, *mycète* ou *fungi* constituent un règne individualisé au sien du monde et sont différenciés du règne végétal et du règne animal (**Drillon, 2011**). Sont des eucaryotes pluricellulaires, qui représentent un groupe hétérogène des micro-organismes ubiquistes, pouvant se développer à l'état saprophyte ou parasite sur de nombreux substrats, ils se reproduisent d'une façon sexuée et asexuée (**Bennett et al., 2003**).

Les moisissures filamenteuses et les levures sont des microorganismes d'altération courants des produits alimentaires, par exemple les produits laitiers fermentés, le fromage, le pain, ainsi que les cultures stockées et les aliments pour animaux tels que le foin et l'ensilage. Les espèces de *Penicillium* et d'*Aspergillus* sont signalées comme des microorganismes de détérioration d'un large éventail d'aliments destinés à l'alimentation humaine et animale et les espèces de *Fusarium* se trouvent souvent sur les grains de céréales, où elles peuvent produire un certain nombre de mycotoxines (**Schnürer, 2005**).

II.1 Les principales moisissures d'altération de la figue sèche

II.1.1 Le genre *Aspergillus*

Aspergillus fait partie des Deutéromycètes (champignons imparfaits, reproduction asexuelle), ordre des *hyalohyphomycètes*, famille des *Moniliaceae*. Les *Aspergillus* aient en général un mode de vie saprophyte, certains peuvent aussi être pathogènes ou commensaux dans les plantes cultivées. Il possède un appareil végétatif (figure 1) formé des filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés.

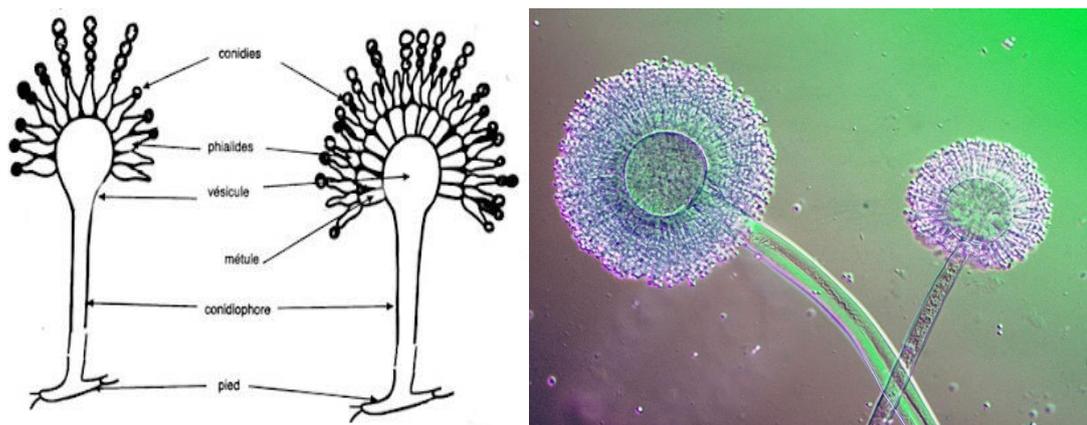


Figure 1: Représentation schématique (a) et aspect microscopique (b) des principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (**Pasqualotto, 2010**).

Leur appareil végétatif est caractérisé par la présence des conidiophores dressés terminés par une vésicule supportant soit une seule rangée de phialides (structure unisérié) soit une rangée de phialide et une rangée de cellules sous-jacentes appelées métule (structure bisérié). Les phialides et les métules sont également dénommées stérigmates. Alors les conidiophores sont un paramètre essentiel d'identification et de classification dans le genre *Aspergillus*. L'ensemble vésicule + métule + phialides + conidies constitue la tête aspergillaire (**Moulinier, 2003**).

II.1.2 *Aspergillus* section *Nigri*

Aspergillus section *Nigri* sont des *Aspergillus* noir, les espèces de cette section sont capables de se développer à des températures comprises entre 6°C et 47°C avec une température optimale de 35°C. Les différentes espèces de section *Nigri* présentent un intérêt pour l'industrie, comme dans la synthèse de plusieurs enzymes telles que les enzymes amylolytiques, protéolytiques, lipolytiques, pectolytiques et plusieurs vitamines : Biotine, Thiamine et Riboflavine, sont retrouvées dans les régions tempérées chaudes particulièrement les pays de sud du bassin méditerranéen (**Schuster et al., 2002**).

Elles sont également considérées comme l'un des microorganismes de la détérioration des aliments par la production des mycotoxines à savoir l'Ochratoxine A (**Kouadio et al., 2007**).

II.2 Les mycotoxines

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 physiques, chimiques et biologiques (**Caruso, 2013**).

Le terme mycotoxine vient du grec « mycos » qui signifie champignon et du latin « toxicum » qui signifie poison. Il s'agit donc des métabolites secondaires toxiques produits par certaines souches de moisissures dans les milieux où elles se développent, principalement dans les matières premières d'origine végétales (**Pfohl-Leszkowicz et al., 2002**).

Les mycotoxines sont aussi des composés de faible poids moléculaire non volatils aux températures ambiantes. Elles sont sécrétées par les moisissures pendant le processus de dégradation de la matière nutritive et sont supposées leur servir de défense contre les autres microorganismes et d'autres moisissures (**Brochard et Le Bâcle, 2009**).

II.2.1 L'Ochratoxine A

L'Ochratoxine A (OTA) est principale mycotoxine produite par l'*Aspergillus* section *Nigri*. La famille des Ochratoxines comprend une dizaine de molécules connues, mais l'Ochratoxine A est le représentant le plus important (Alshannaq et Yu, 2017), de nombreuses espèces fongiques (*Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Penicillium veridicatum*, *Penicillium verrucosum*, *Pinicilium cyclopium*) sécrètent l'Ochratoxine A sur divers substrats (céréales, café, cacao, figue sèche) cette substance est dotée d'un pouvoir tératogène et cancérogène important et d'une néphrotoxicité reconnue (Klich, 2003).

Le centre international de recherche sur le cancer (IARC 1993) à classé l'OTA dans le groupe 2B comme un carcinogène humain probable. La génotoxicité de l'OTA a été démontrée par Creppy *et al.*, (1985). L'OTA provoque des lésions rénales importantes chez les animaux lors des intoxications chroniques tandis que les intoxications aiguës se caractérisent par des hémorragies et des diarrhées.

En raison des effets toxiques qu'elles provoquent, les mycotoxines introduites dans la chaîne alimentaire peuvent exposer l'homme à certains problèmes de santé. L'organisation mondiale de la santé reconnue que la contamination des denrées alimentaires par les mycotoxines constitue une source non négligeable des maladies d'origine nutritionnelle (world Health organisation, 2002).

II.3. Prévention et lutte contre l'*Aspergillus* section *Nigri* et leur toxine

En raison des risques potentiels sur la santé humaine et animale liés à la production d'OTA et d'énormes pertes économiques causées par l'accumulation de cette mycotoxine sur les céréales, fruits secs et figues ...etc., la prévention contre la formation de cette dernière est l'une des préoccupations majeures des scientifiques. En effet, cette prévention dépend essentiellement de la méthode utilisée, le moment d'emploi (avant ou après la récolte) et surtout du type de champignon responsable de sa production (Kabak *et al.*, 2006).

II.3.1 Méthodes chimiques

II.3.1.1 Les fongicides

Les fongicides, substances chimiques, ont prouvés leurs performances contre la production de l'OTA sur les vignes et plusieurs cultures agricoles mais présentent certains inconvénients écologiques (Tjamos *et al.*, 2004).

II.3.2 Méthodes physiques

Les méthodes physiques de décontamination reposent sur le nettoyage, tri ainsi qu'à l'irradiation éliminant les fractions contaminées de l'aliment (**Aziz et al., 2004 ; Refai et al., 1996 ; Kanapitsas et al., 2016**).

II.3.3 Stratégie de bio-contrôle

Elle repose sur l'utilisation des composés naturels issus des plantes (composés phénoliques, huiles essentielles), ainsi que des microorganismes (bactéries lactiques, levures, actinomycètes) capables de décomposer, transformer et/ou adsorber l'OTA et aussi agir sur la voie de biosynthèse réduisant la production d'OTA (**Khoury, 2017**).

II.3.3.1 Les bactéries lactiques en lutte biologique

Les bactéries lactiques sont l'une des sources puissantes des substances antifongiques et antibactériennes. Leurs applications à la conservation des denrées alimentaires et des aliments pour animaux ont été documentée par de nombreux chercheurs.

Les bactéries lactiques sont sans danger tant du point de vue humain qu'environnemental (**O'Sullivan et al., 2002**) et elles ont le statut (GRAS) Generally Recognized As Safe à quelques exceptions près (**Toit, 1998**).

Les bactéries lactiques sont utilisées dans la bio conservation de plusieurs aliments en raison de leurs capacités de production des composés antibactériens (**Corsetti et al., 2004**) et composés d'antifongiques (**Magnusson et Schnurer, 2001**).

Les bactéries lactiques

III. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif, sous forme de bâtonnets ; Cocci ou de Coccobacilles, non respiratoires mais aérotolérantes, exigeantes, non sporulantes. Ce 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 produisent de l'acide lactique comme l'un des principaux produits de fermentation en utilisant des glucides, ces bactéries non seulement produisent de l'acide lactique comme produit finale, mais produisent également des substances organiques qui contribue à la saveur, la texture et l'arôme ainsi aux caractéristiques organoleptiques uniques des produits (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* (Kotsonis et al., 2004).

III.1 Activité antifongique des bactéries lactique

Plusieurs études ont visé à identifier par criblage *in vitro* à grande échelle des souches de bactéries lactiques présentant un potentiel antifongique intéressant, la plupart des publications sur l'activité antifongique des bactéries lactiques ont illustré leurs effets inhibiteurs, mais ont rarement identifié les composés antifongiques (Magnusson et al., 2003).

III.2 Les bactéries lactiques à pouvoir antifongique

Le genre *Lactobacillus* est le plus souvent retrouvé parmi les bactéries lactiques à caractère antifongique, suivi des genres *Lactococcus* et *Leuconostoc*, ainsi que des genres de *Pediococcus*, *Enterococcus* et *Weissella*, les genres *Streptococcus* et *Carnobacterium* sont les moins retrouvés (Lopez-Martinez et al., 2009 ; Ndagano et al., 2011).

III.2.1 Le genre *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* est très hétérogène (leur GC varie entre 32% et 53%). Il contient plus de 120 espèces et 20 sous-espèces, mais sa classification évolue régulièrement (Zhang et Cai, 2014).

Les lactobacilles se présentent sous forme de bacilles, isolés ou en chaînettes. Ces bactéries peuvent se développer entre 2°C et 53°C avec un optimum compris entre 30°C et 40°C (Mofredj *et al.*, 2007).

III.2.2 Le genre *Streptococcus*

Les streptocoques sont parmi les premières bactéries connues par les microbiologistes, vu leurs associations à plusieurs maladies humaine et animale. Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2 µm avec une disposition en paires ou en chaînes longues. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz, le peptidoglycane est du groupe A et leur température optimale de croissance est de 37 °C. La seule espèce de streptocoque utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* (Stiles *et Holzapfel*, 1997).

III.3 Les substances antifongiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites antifongiques tels que les acides organiques, le diacétyle, les antimycotiques bioactifs, peptides, acides gras, acides carboxyliques, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, lactones, alcools, CO₂ et la reutéline qui ont la capacité d'inhiber la croissance fongique. Elles peuvent aussi dégrader les mycotoxines telles que ; les Ochratoxines, les aflatoxines et les toxines de *Fusarium* (Sadiq *et al.*, 2019).

Selon Batish *et al.*, (1997) l'espèce *Lactococcus Lactis* produit la Nisin *vis-à-vis* les cultures d'*Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*.

Selon Mauch *et al.*, (2010) l'espèce *Lactobacillus reuteri* produit Acetic acid, phenyllactic acid, lactic acid Reutéline *vis-à-vis* *Aspergillus niger*.

Selon Coloretto *et al.*, (2007) l'espèce *Pediococcus pentosaceus* produit un peptide *vis-à-vis* *A. niger*.

L'inhibition de synthèse des mycotoxines par les bactéries lactiques se fait par l'intermédiaire des composés de faible poids moléculaire, encore mal définis mais supposés protéiques, relâchés après lyse cellulaire ou pendant la croissance (Gourama *et Bullerman*, 1997 *et Oglietti*, 2010).

Chapitre II : Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

Ce travail réalisé au niveau de laboratoire de biomathématique, biophysique, biochimie et de scientométrie (L3BS), consiste à étudier l'activité antifongique de quelques souches de bactéries lactiques *vis-à-vis* de champignon *Aspergillus* section *Nigri* isolée à partir de la figue sèche.

I.1 Echantillonnage

L'obtention d'un échantillon représentatif est particulièrement importante pour l'isolement des souches fongiques. Les échantillons des figes sèches destinés à différentes utilisations (utilisation industrielle, consommation humaine...) ont été récoltés par des professionnels des deux Wilaya Bejaia et Sétif et serviront donc lors de notre étude de recherche et d'identification des souches fongiques.

Le choix de l'échantillonnage a été en fonction de certains facteurs tels que la productivité élevée de ces régions, ainsi que les conditions de culture, de récolte, de procédé de séchage effectué et de conservation avant commercialisation.

Les cultivars les plus dominants utilisés sont la variété « **TAAMRIWT** » et la variété « **AVERKA** », étant les plus abondantes lors de la précédente saison de récolte.

Les échantillons utilisés sont répartis comme suit détaillant l'origine, la date et les échantillons sélectionnées est dans le tableau III

Tableau III : Echantillons sélectionnés selon le lieu de récolte, la variété, l'altitude et la date de récolte

Variété	Lieu de récolte	Altitude (m)	Date de récolte	Les échantillons sélectionnés
AVERKAN Extra	Commune de Beni Maouche, Bejaïa	900	Août 2021	

TAAMRIWT Extra				
AVERKAN Extra	Commune de Bouandas, Sétif	1200	Août 2021	
TAAMRIWT Extra				

I.2 Recherche et l'isolement d'*Aspergillus* section *Nigri*

Les figes sèches sont désinfectées en surface avec un coton imbibé d'éthanol à raison de 70% (v/v) dans la zone stérile afin de détruire la flore saprophyte superficielle qui peuvent notamment se trouver au niveau de l'épiderme (pellicule). Les figes ont été découpé en petites portions à l'aide d'un scalpel stérile qui seront par la suite déposer à la surface des boites Pétris content le milieu DG18 suivi d'une incubation à 28°C pour une durée de sept jours jusqu'à l'apparition des souches fongiques (Daami-Remadi et El Mahjoub, 2004).



Figure 2 : Fragments des figes déposés dans une boîte de Pétri contenant le milieu DG18

I.2.1 Purification des isolats

Après le développement des colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné pour obtenir des isolats purs, le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse de platine stérile, puis le déposé au centre des boîtes de Pétri contenant les milieux PDA et CYA, les boîtes ont été incubés à 28°C pendant six jours. En cas de contamination par une autre souche fongique la purification des souches a été effectuée par le repiquage des disques des moisissures au centre des boîtes contenant le même milieu et dans les mêmes conditions d'incubation jusqu'à l'obtention des souches pures (**Botton et al., 1990**)

I.2.2 Identification des isolats

L'identification des champignons filamenteux basé essentiellement sur l'analyse des caractères morphologiques, macroscopiques et microscopiques (**Aissi et al., 2002**).

I.2.2.1 Identification macroscopique

Selon **Bourgeois, (1996)** et **Botton et al., (1990)** l'identification se fait à l'œil nu et se base essentiellement sur les caractères suivant : la couleur des colonies, la couleur du revers de la culture, la vitesse de croissance et l'aspect.

I.2.2.2 Identification microscopique

L'identification microscopique est effectuée par un prélèvement d'un petit fragment mycélien à l'aide d'une anse de platine stérile. Puis le fragment est déposé sur une lame en lui ajoutant le Bleu de Méthylène, ensuite recouvert d'une lamelle. L'observation est effectuée au microscope optique aux différents grossissement 40

Selon **Blaize, (2021)** l'étude microscopique est basée sur : L'absence ou présence de cloisons, mode de reproduction, têtes aspergillaire et conidiophores.

I.3 Etude du pouvoir Ochratoxinogène des souches isolées

I.3.1 Préparation de la suspension sporale

L'*Aspergillus* groupe *Nigri* est cultivé sur le milieu DG18 pendant cinq jours à 28°C après l'incubation 10 ml d'eau distillée stérile sont versés sur la boîte, suivi d'un raclage des spores à l'aide d'une pipette Pasteur, cette suspension est filtrée sur papier whatman pour l'obtention de la solution mère, la suspension fongique nécessaire pour ensemencer le milieu doit être fraîche, la concentration des spores de la suspension obtenus est déterminée par comptage sur cellule de Malassez puis ajustée à 10^6 spores/ml (**Magnusson et al., 2003**).

I.3.2 Détection rapide de la capacité ochratoxinogène sur le milieu CYA

Afin de détecter la biosynthèse d'Ochratoxine A (OTA), la technique de Détection Rapide (TDR) est préconisée. Pour ce faire on utilisera le milieu de culture Czapek extrait de levure agar. La méthode utilisée est celle décrite par **Atanda et al., (2011)** comme suit : environ 20 ml de milieu de CYA ont été coulés dans des boîtes de Pétri puis Chaque boîte sera inoculée avec 40 µl de la suspension sporale issue des souches d'*Aspergillus* isolées. Les boîtes de pétri inoculées seront incubées à 28°C pendant sept jours et les caractéristiques du milieu de culture seront examinées comme suit : le verso de chaque boîte de Pétri est observé tous les jours pendant huit jours à 28°C sous une lampe UV à une longueur d'onde de 365 nm pour vérifier la présence d'un anneau de fluorescence (bleu) qui indique l'ochratoxinogénicité des isolats fongiques (**Sultan et Magan 2010 ; Atanda et al., 2011**).

I.4 Revivification des souches lactiques

Les bactéries lactiques utilisées ont été principalement fournies par le laboratoire de microbiologie.

Les souches bactériennes sont revivifiées par repiquage à partir du milieu de conservation au bouillon MRS, puis incubé à 37°C pendant 24h. Après l'incubation les souches sont repiquées

sur des boites Pétrie content le milieu MRS par la méthode des stries, les boites été incubées à 37°C pendant 48h (**badis et al., 2004**).

I.5 Isolement de *streptococcus salivarius ssp thermophilus* à partir d'un yaourt

Une quantité de 1g de yaourt nature mis dans 9ml d'eau physiologique et des dilutions décimales sont réalisées (10^{-1} jusqu'au 10^{-4}), après elles sontensemencées sur des boites Pétries contentent le milieu MRS par la méthode des stries. Les cultures ont été incubées à 37°C pendant 48h (**Badis et al., 2004**).

I.5.1 Purification des souches

La purification a été effectué par des repiquages successifs sur bouillon MRS (pH :5,7) suivi d'un isolement en stries sur gélose MRS, jusqu'à l'obtention d'une souche pure (**Guiraud,2003**).

I.5.2 Identification des isolats

L'identification des bactéries lactiques repose principalement sur critères morphologiques, physiologiques et biochimiques.

1.5.2.1 Critères morphologiques

➤ Caractéristiques macroscopiques

Cette étude est basée sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu solide MRS : la taille, la forme et la couleur des colonies. Et le trouble dans le milieu liquide bouillon MRS (**Belarbi, 2011**).

➤ Caractéristiques microscopiques

L'observation à l'état frais a été réalisé non seulement pour observer la mobilité des germes mais aussi pour déterminer la forme et le mode de regroupement. Cette méthode a été réalisé sous microscope optique au grossissement 100.

La coloration de Gram permet de différencier les bactéries selon leur Gram, leur morphologie et leur mode de regroupement (**Franciosi et al., 2009**).

I.5.2.2 Critères physiologiques et biochimiques

➤ Test de catalase

Le test de la catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau et oxygène selon l'équation suivante



L'activité catalytique consiste à prélever une colonie purifiée sur gélose MRS et dissocier dans une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) a volume de 10 ; l'apparition de bulles indique le dégagement d'oxygène (Ahmed et Irene, 2007).

I.6 La recherche de l'activité antifongique

La recherche de l'activité antifongique a été réalisé par un teste qualitatif (méthode des puits).

I.6.1 Méthode des puits

Les souches lactiques ont été cultivées dans un bouillon MRS à 30°C pendant 18h, après l'incubation, les cellules ont été centrifugées à 8000 rpm pendant 10 minute pour récupérer le surnageant, des puits de 5mm de diamètre sont creusés stérilement à l'aide d'un emporte-pièce (cloche de durham) sur milieu gélose MEA été déjà ensemercer par la suspension sporale, le fond de chaque puits a été scellé avec de MEA. Les puits ont été par la suite remplis avec 100µL du surnageant de culture. Ensuite les boîtes pétries ont été placés dans un réfrigérateur a une température de 4°C pendant 2h pour permettre la diffusion des substances antifongiques éventuellement présent dans le surnageant (Doumandji *et al.*,2010). Les boîtes ont été incubé à 28°C (Hwanhlem *et al.*,2011)

Des zones d'inhibition autour des puits ont été mesurées en millimètres après incubation à 28°C pendant quatre jours.

L'inhibition a été notée positive lorsque le diamètre de la zone d'inhibition et supérieure à 6mm (Schillinger *et Luke*,1989).

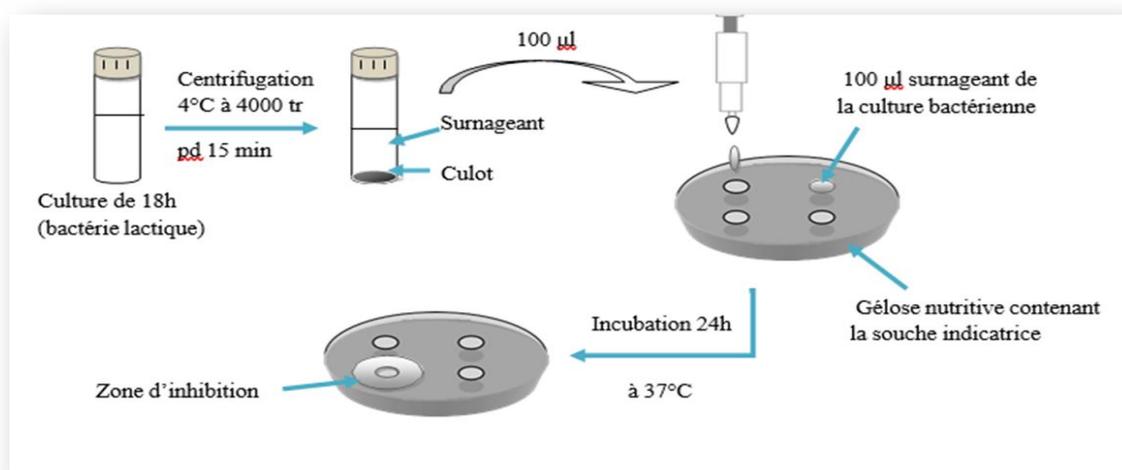


Figure 1 : La méthode des puits utilisée pour la recherche de substances antifongiques (Barefoot et Kaenhammer, 1983).

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

II.1 Isolement d'*Aspergillus* section *Nigri*

L'isolement des champignons a été réalisé à partir des échantillons des figes sélectionnées. Les boîtes ensemencées ont été incubées à 28°C pendant sept jours, et les résultats d'isolement des différentes variétés des deux régions sont les suivantes :

➤ **La variété « TAAMRIWT » et « AVERKAN » commune de Beni-Maouche Bejaia**

Après sept jours d'incubation, une germination mycélienne de pigmentations blanchâtres et verdâtres a été apparue dans les deux variétés (figure 4).

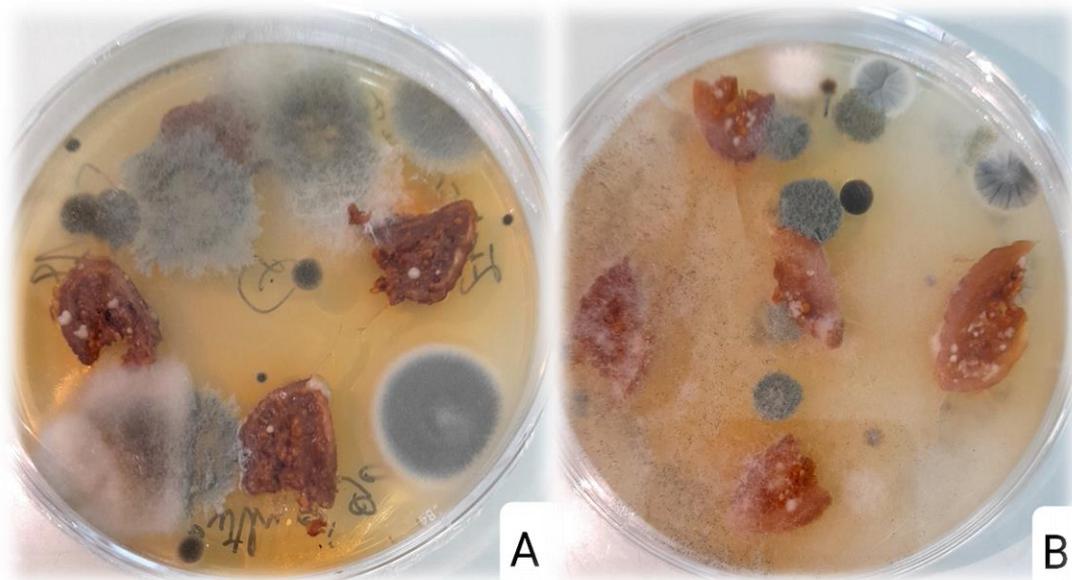


Figure 4 : Aspect des boîtes après culture observées à l'œil nu sur milieu DG18, des deux variétés « TAAMRIWT » (A) et « AVERKAN » (B), de la région Beni-maouche.

Ces boîtes n'ont pas été repiquées car elles ne présentent aucune culture de genre *Aspergillus* section *Nigri* qui est caractérisée par une couleur noire selon **Tabuc, (2007)**.

➤ **La variété « TAAMRIWT » et « AVERKAN » commune de Bouandas Sétif**

Après sept jours d'incubation à 28°C l'évaluation mycologique a permis de révéler la dominance d'une flore fongique comportant des souches de couleur noir dans la variétés « TAAMRIWT », et des souches avec de couleur blanche avec un aspect cotonneux dans la variété « AVERKAN », Les boîtes sont observées à l'œil nu et sont illustrées dans la figure 5.

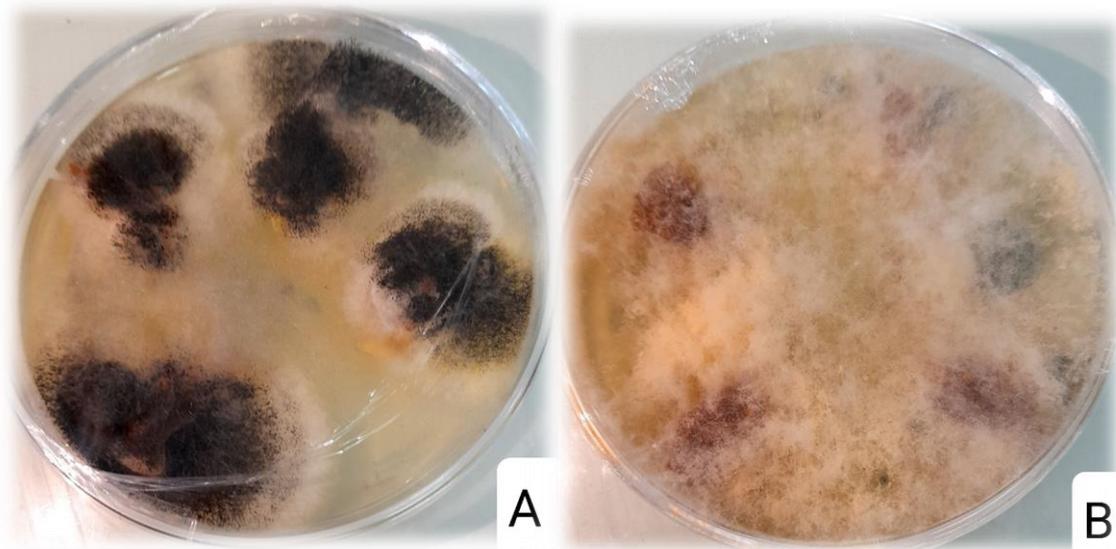


Figure 5 : Aspect des boîtes après culture observées à l'œil nu sur milieu DG18, des deux variétés « TAAMRIWT » (A) et « AVERKAN » (B), de la région Bouandas

En se basant sur les données bibliographiques, les résultats obtenus dans les boîtes des figures « TAAMRIWT » présentent les mêmes caractéristiques macroscopiques d'*Aspergillus* section *Nigri* Tabuc (2007), tandis que les résultats observés dans les boîtes des figures de « AVERKAN » suspectent la présence de *Mucor sp* ou *Rhizopus sp* (Chabasse *et al.*, 2002).

Cette différence de contamination fongique entre les différentes variétés des différentes régions est peut-être due à une condition climatique les conditions de stockage (humidité, température et système de ventilation) et l'installation d'une charge fongique importante, ce qui peut entraîner une modification qualitative et quantitative de la mycoflore (Roby-Brami *et al.*, 1987).

Dans l'objectif d'obtenir des colonies homogènes purifiées des colonies noirâtres, nous avons procédé à une série de repiquages successifs sur les milieux PDA et CYA suivant la méthode directe à l'aide d'une anse de platine.

II.1.1 Identification morphologique

Après incubation, l'identification des colonies de moisissures obtenus a été effectuée en se basant sur les caractères macroscopiques et microscopiques.

II.1.1.1 Identification macroscopique

L'étude macroscopique des isolats après incubation de cinq jours sur milieux CYA et PDA à température 28°C a été réalisée par des observations à l'œil nu. Les résultats d'observation sont rassemblés dans le tableau IV et figure 6.

Tableau IV : Résultats obtenus de l'observation macroscopique d'*Aspergillus* section *Nigri* sur les milieux PDA et CYA

<i>Milieu</i>	<i>La vitesse de croissance</i>	<i>L'aspect</i>	<i>La couleur Des colonies</i>	<i>La couleur de revers</i>
<i>PDA</i>	Rapide	Poudreux	Noire	Beige
<i>CYA</i>		ou granuleux	Noire foncé	

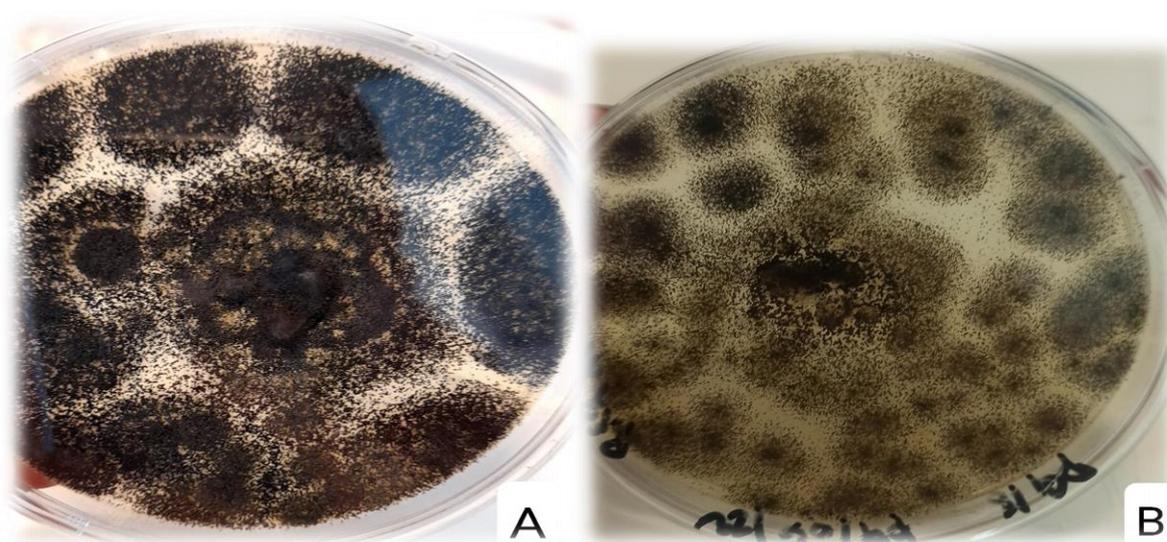
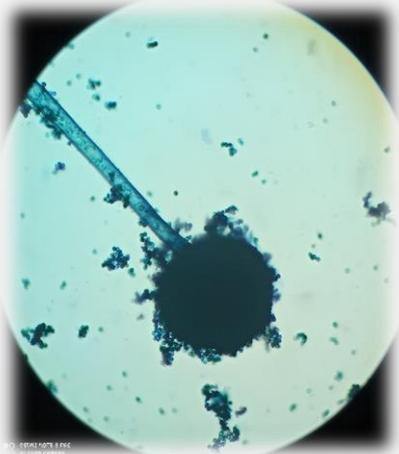


Figure 6 : Aspect des colonies d'*Aspergillus* section *Nigri* après cinq jours à 30° C, (A) sur le milieu CYA et (B) sur le milieu PDA.

II.1.1.2 Identification microscopique

L'étude macroscopique réalisée préalablement a été complétée par une étude microscopique dans le but de déterminer les espèces des souches sélectionnées. L'étude microscopique de ces souches a été réalisée au grossissement $\times 40$. En comparant ces résultats avec ceux donnés par littérature (**Anand, 2016**) nous avons pu identifier notre souche ; il s'agit bien de l'*Aspergillus* du groupe *Nigri*. Les résultats d'observation sont rassemblés dans le tableau VI.

Tableau VI : Observation microscopique d'*Aspergillus* section *Nigri*

Critères microscopique	Aspect microscopique (G×40)	Aspect microscopique (Anand, 2016)
Mycélium ramifier		
Conidiophores très longs incolores		
Tête conidienne radiée avec vésicule globuleuse		
Conidies emportées par des phialides.		

D'après les clés d'identification de **Botton *et al.*, (1990)**, l'isolat est classé dans le genre *Aspergillus* section *Nigri* ce genre possède un thalle à croissance rapide. Leur caractère microscopique présente un mycélium cloisonné et des vésicules globuleuses avec conidies globuleuses parfois légèrement aplaties, brune, échinuleuses et verruqueuses.

II.2 Etude du pouvoir ochratoxinogène de la souche isolée

Au cours de cette étape, l'objectif principal était la détection si la souche productrice de l'OTA, dans le but de compléter l'identification de la souche isolée.

L'étude du pouvoir de production de L'OTA a été réalisé sur le milieu CYA pour les souches d'*Aspergillus* section *Nigri*.

Le criblage des isolats ochratoxinogène est basé sur la mise en évidence d'une fluorescence bleu sous la lampe UV à 365 nm.

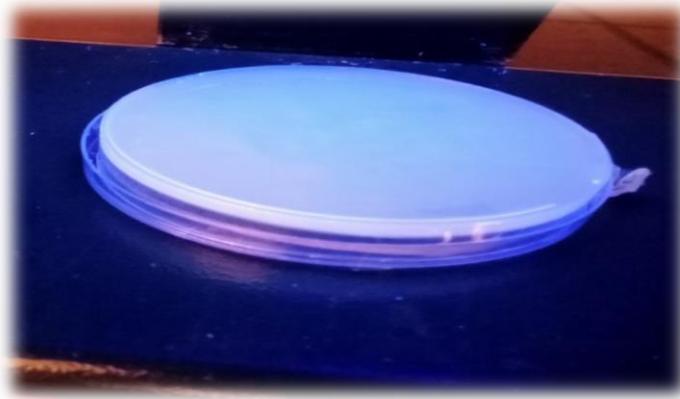


Figure7 : Mise en évidence de la production d'OTA par l'*Aspergillus* section *Nigri* sur le milieu CYA par fluorescens sous lumière UV (365nm)

En comparant le résultat obtenu avec ceux donnés par la littérature de (Samson *et al.*, 2006 ; Riba *et al.*, 2008 ; Lahouar, 2016), nous avons peut identifier que la souche isolée *Aspergillus section Nigri* est productrice de l'OTA.

II.3 Isolement et identification de *Streptococcus salivarius ssp thermophilus*

Au cours de cette étude nous avons identifié la souche isolée à partir du yaourt par les procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques.

II.3.1 Critères morphologiques

L'identification morphologique base essentiellement sur les caractéristiques macroscopiques et microscopiques.

II.3.1.1. Caractéristique macroscopique

L'examen macroscopique sur milieu solide MRS montre une forme unique de colonie, ce sont des petites colonies, circulaires, légèrement bombées, lisses et de couleur crémeuse.

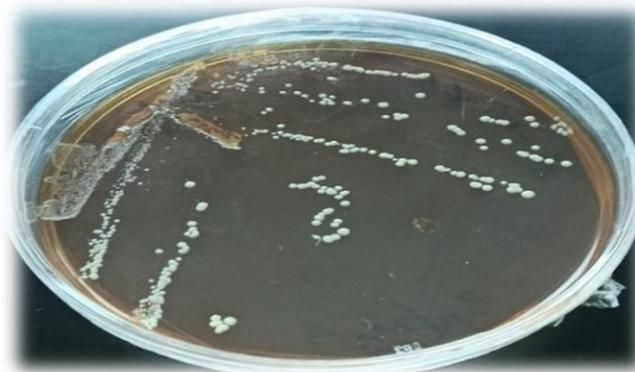


Figure 8 : Aspect de *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* isolé à partir de yaourt sur milieu solide MRS.

II.3.1.2 Caractéristiques microscopiques

L'examen microscopique l'état frais nous permet d'observer les activités cellulaires telle que la mobilité ainsi la taille et la forme naturelle des cellules.

L'examen microscopique a l'état frais a abouti aux résultats suivants : les bactéries sont immobiles de forme Cocci en chaînette et de petite taille.

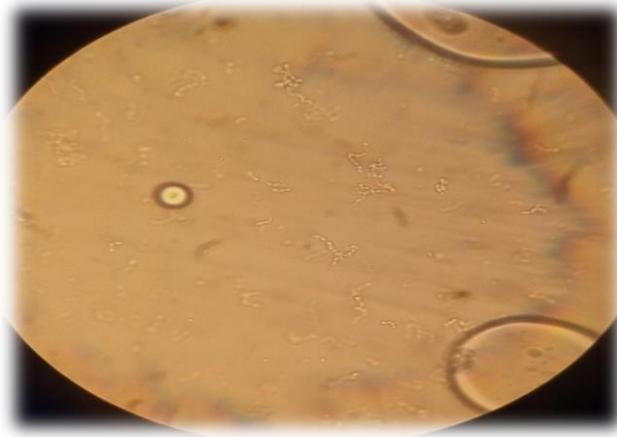


Figure 9 : *Streptococcus salivarius thermophilus* sous microscope optique au grossissement (G×40) a l'état frais.

L'observation au microscope optique après coloration de Gram nous permis de déterminer le type de Gram des bactéries lactiques et de confirmer les résultats obtenus par l'examen a l'état frais.

Les bactéries isolées à partir du yaourt sont à Gram positif, sous forme de Cocci (coque arrondie), de 0,7-1 μm , formant des chaînes ou des paires, ce qui rassemble à *Streptococcus salivarius thermophilus*.

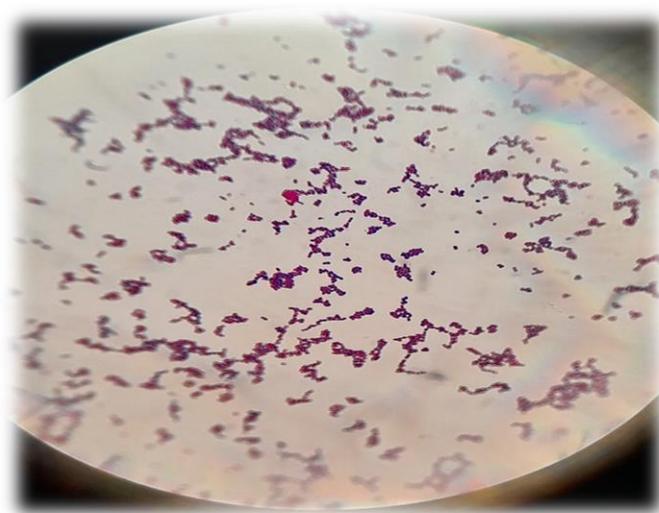


Figure 10 : *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* sous microscope optique au grossissement (G× 100) après coloration de Gram

II.3.2. Critères physiologiques et biochimiques

En plus de ces tests basés sur la morphologie des bactéries nous avons utilisé un test Physiologique et biochimique. L'analyse de ce résultat a montré que les isolats se sont avérés à Gram positif et catalase négative ce qui est caractéristique des bactéries lactiques.

II.3.2.1. Test de la catalase

Les résultats obtenus après la réalisation de test catalase sont négatifs. Ils sont similaires Avec les résultats qui sont fait par **Marchal *et al.*, (1991)**



Figure 11 : Résultat de test catalase

II.4 La recherche de l'activité antifongiques des bactéries lactiques

La production des substances antifongiques envers l'*Aspergillus* section *Nigri* a été recherchée par la méthode des puits chez cinq souches de bactéries lactiques, quatre souches de genre *Lactobacillus* et une souche d'espèce *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* isolée à partir du yaourt.

Les résultats indiquent l'absence totale des zones d'inhibition par les surnagants des souches du genre *lactobacillus* (LP, S4, S24, LD) contre l'*Aspergillus* section *Nigri* en revanche le surnageant de l'espèce *streptococcus salivarius ssp thermophilus* (ST) présente une faible zone d'inhibition de 9mm du diamètre dont les résultats sont résumés dans la figure 12

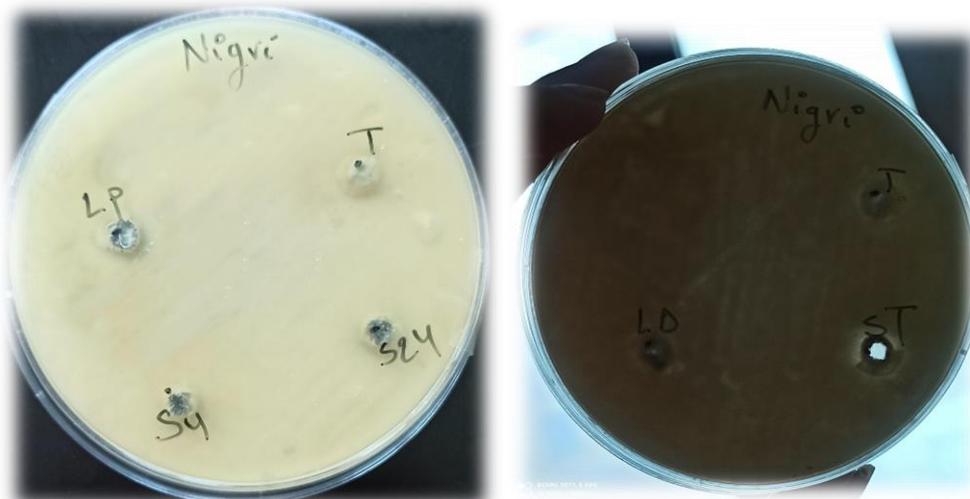


Figure 12 : La mise en évidence de l'activité antifongique des souches de bactéries lactiques à l'égard d'*Aspergillus* section *Nigri* sur le milieu MEA.

Les résultats obtenus par les surnageant des cultures liquides du genre *Lactobacillus* sont en désaccord avec les études réalisées par **Essia et al., (2014)** qui indique la présence d'activités antifongiques du genre *Lactobacillus* à l'égard d'*Aspergillus* section *Nigri* par la synthèse des molécules antifongiques.

Selon **Valerio et al., (2009)** le genre *lactobacillus* montre une forte activité inhibitrice envers le genre *Aspergillus* section *Nigri*, qui est déférente à nos résultats

Ceci peut être dû au fait que les souches testées n'ont pas produit de substances antifongiques car pas toutes les souches de même espèce possèdent les mêmes caractéristiques, selon **Klewicka, (2007)** l'activité antagoniste des bactéries lactiques est une caractéristique individuelle qui dépend à la fois de la souche antagoniste.

Pour le résultat obtenu par le surnagent de l'espèce *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* est semblable à ceux obtenus par **Abbaszadeh et al., (2015)** qui ont dit que les bactéries lactiques exercent un effet antagoniste contre le genre *Aspergillus* section *Nigri* par la synthèse des différentes substances antifongiques.

La zone d'inhibition est petite car les surnageant de culture a été utilisés ce qui pourrait être dû à une faible concentration de composés antifongiques

Les différents résultats observés dans ce travail peuvent s'expliquer par les différentes propriétés antifongiques des bactéries lactiques sélectionnés (**laitila et al 2002**).

Conclusion

Conclusion

Les figes sèches, excellent aliment de valeur nutritif considérable, constituent un substrat favorable pour la prolifération de la flore fongique au cours de stockage, ce qui représente un facteur important de détérioration par la sécrétion des substances à pouvoir toxique. Cette flore fongique est représentée majoritairement par le genre *Aspergillus* section *Nigri* producteurs d'OTA se considère la section la plus dangereuse et là plus contaminante.

Actuellement, il existe un intérêt majeur pour l'amélioration de la qualité et de la sécurité alimentaire par des méthodes de préservation et de contrôle naturelle qui impliquent l'utilisation des microorganismes ; tels que les bactéries lactiques avec des propriétés inhibitrices des champignons potentiellement toxigenes.

Cette étude a été axée sur l'utilisation des bactéries lactiques capable d'inhiber la croissance d'*Aspergillus* section *Nigri* producteurs d'OTA isolée à partir des figes sèches.

La recherche de l'activité antifongique a été réalisé par un test quantitatif qui est la méthode des puits. Après l'évaluation de l'activité antifongique, le surnagent de la souche *streptococcus salivarius ssp thermophilus* présente une activité antifongique vis-à-vis la souche d'*Aspergillus section Nigri* ceci suppose que cette espèce produise des substances à pouvoir antifongique.

En revanche, les surnageants des souches du genre *Lactobacillus* n'a montré aucune inhibition fongique contre *Aspergillus groupe Nigri*.

En termes de perspective et afin de compléter cette étude, il serait souhaitable de :

- Réaliser une identification moléculaire des isolats fongiques appartenant au genre *Aspergillus* au niveau de l'espèce.
- Faire une purification et une caractérisation des substances antifongiques produites par les souches de *streptococcus salivarius ssp thermophilus*.
- Approfondir l'usage des bactéries lactiques avec d'autres espèces à caractère probiotique comme étant un moyen de prévention et de contrôle des mycotoxines au niveau des figes sèches.
- Etude de l'impact des bactéries lactiques sur les mycotoxines produites et non pas sur la croissance fongique, par dosage de la teneur en aflatoxines en Ochratoxine A dans les figes sèches Algériennes par HPLC/ SL ou FLD, avant et après l'utilisation des bactéries lactiques.

*Références
bibliographique*

Références bibliographiques

A

- Abbaszadeh, S., Tavakoli, R., Sharifzadeh, A., & Shokri, H. (2015).** Lactic acid bacteria as functional probiotic isolates for inhibiting the growth of *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. niger* and *Penicillium chrysogenum*. *Journal de Mycologie Médicale*, 25(4), 263–267.
- Aguirre, M., & Collins, M. D. (1993).** Lactic acid bacteria and human clinical infection. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(2), 95-107.
- Ahmad, F.A., Irene, K.P. (2007).** Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource Technology.*, 98:1380-1385
- Aissi, M., Bouchara, J. P., Tronchin, G., Larcher, G., Vigny, J., & Chabasse, D. (2002).** ETUDE IN VITRO D'UNE EXOPROTEASE D'ASPERGILLUS FUMIGATUS DEGRADANT LES PROTEINES CONSTITUTIVES DE MEMBRANES BASALES. *Sciences & Technology. A, exactes sciences*, 85-90.
- Alshannaq, A., & Yu, J. H. (2017).** Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International journal of environmental research and public health*, 14(6), 632.
- Anand, K. (2016).** Fungal Protease Production by *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* Using Rice Bran as the Substrate. *Academia Journal of Agricultural Research. United States of America (USA).*, 4(6),333-338.
- Atanda Jr, A., Shah, S. A., & O'brien, K. (2011).** Osteochondrosis: common causes of pain in growing bones. *American family physician*, 83(3), 285-291.
- Aziz, A., Heyraud, A., & Lambert, B. (2004).** Oligogalacturonide signal transduction, induction of defense-related responses and protection of grapevine against *Botrytis cinerea*. *Planta*, 218(5), 767-774.

B

- Bachi K. (2012).** Etude de l'infection de différentes variétés de figuier (*Ficus carica* L.) par la mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata* (Diptera, Trypetidae). Thèse de Magistère. Tizi Ouzou. : 114
- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema B., Henni, D.E., Kihal, M. (2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, 21:579-588
- Barbosa-Cánovas, G. V., & Vega-Mercado, H. (1996).** Dehydration of foods. Springer Science & Business Media.
- Barefoot, S.F., Klaenhammer, T.R. (1983).** Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 45(6) :1808- 1815.

Batish, V. K., Roy, U., Lal, R., & Grower, S. (1997). Antifungal attributes of lactic acid bacteria—a review. *Critical reviews in biotechnology*, 17(3), 209-225.

BELARBI Fatima. (2011). Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes, Mémoire de Magistère, université d'ORAN Es Senia Algérie, 88 p

Bennett, R. N., Mellon, F. A., Foidl, N., Pratt, J. H., Dupont, M. S., Perkins, L., & Kroon, P. A. (2003). Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L.(horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(12), 3546-3553.

Bircan, C. (2009). Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), 1996–2001.

Blaize, M., Normand, A. C., Fekkar, A., & Piarroux, R. (2021). Identification des moisissures au laboratoire de routine hospitalière. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2021(529), 58-65.

Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy P.H, Larpent J.P, Reymond P, Sanglier J.J, Vayssier Y, Veau P, (1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. p: 34-428.

Bouaziz, M., Yangui, T., Sayadi, S., & Dhouib, A. (2009). Disinfectant properties of essential oils from *Salvia Officinalis* L. cultivated in Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 47(11), 2755-2760.

Bourgeois C.M., Mescle J.F, Zucca J, (1996). Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris .p 654.

Brochard, G., & Le Bacle, C. (2009). Mycotoxines en milieu de travail. Origine et Propriétés Toxiques des Principales Mycotoxines. INRS, Documents pour le Médecin Du Travail, (119).

C

Caruso, D., Talamond, P., & Moreau, Y. (2013). Mycotoxines et pisciculture : un risque oublié?. *Cahiers Agricultures*, 22(3), 165-173.

Centre informatique sur la qualité des aliments, & Favier, J. C. (1993). Répertoire général des aliments : Table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Orstom Éditions.

Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L., Brun S and Penn P. (2002). Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt médical. Labo Analy De biomédicale.

Coloretti, F., Carri, S., Armaforte, E., Chiavari, C., Grazia, L. and Zambonelli, C. (2007) Antifungal Activity of Lactobacilli Isolated from Salami. *FEMS Microbiology Letters*, 271, 245-250.

Corsetti, A., Settanni, L., & Van Sinderen, D. (2004). Characterization of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) from sourdough lactic acid bacteria and evaluation of their in vitro and in situ activity. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3), 521-534.

Creppy, E. E., Kane, A., Dirheimer, G., Lafarge-Frayssinet, C., Mousset, S., & Frayssinet, C. (1985). Genotoxicity of ochratoxin A in mice: DNA single-strand break evaluation in spleen, liver and kidney. *Toxicology Letters*, 28(1), 29-35. de morphologie et de biologie, LAVOISIER, France, 796p.

Crowley S, Mahony J, Van Sinderen D. (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 33, 2013, pp. 93–109.

D

Daami-Remadi Mejda M.et Mahjoub E.M.E, (2004). Emergence en Tunisie de *Fusarium oxysporum* f.sp. *tuberosi* agent de flétrissure vasculaire des plantes et de pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. *EPPO Bulletin* ,34(3), pp. 407-411.

Degnon, R. G., Faton, A. N., Adjou, E. S., Tchobo, F. P., Dahouenon-Ahoussi, E., Soumanou, M. M., & Sohounhloue, D. C. (2013). Efficacité comparée des huiles essentielles de deux plantes aromatiques dans la conservation post-fumage du Chinchard (*Trachurus trachurus*). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 19(1), 2831-283

Doumandji, A., Hellal, A., Saidi, N. (2010). Purification de la bactériocine à partir de *Lactobacillus acidophilus* 11, *Rev. Microbiol. Ind. Sanet Environn.* 4: 25-47.

Drillon, S., Frouin, E., Letscher-Bru, V., & Donato, L. (2011). Mycoses de l'enfant. *EMC, Pédiatrie/Maladies infectieuses*, 4-313.

DSA (2019) : direction des services agricoles

E

El Khaloui, M. (2010). Valorisation de la figue au Maroc. *Transfert de technologie en agriculture (Maroc)*, 186, 1-4.

Essia Ngang, J.-J., Yadang, G., Sado Kamdem, S. L., Kouebou, C. P., Youte Fanche, S. A., Tsochi Kougan, D. L., ... Etoa, F.-X. (2014). Propriétés antifongiques de certaines bactéries lactiques et application dans la lutte biologique contre les champignons producteurs d'ochratoxine A pendant la fermentation du cacao. *Biocontrol Science and Technology*, 25(3), 245-259.

F

F.A.O. (2017). Food and Agriculture Organisation. Database results; FAO-STAT.

Faleh, E., Oliveira, A. P., Valentão, P., Ferchichi, A., Silva, B. M., & Andrade, P. B. (2012). Influence of Tunisian *Ficus carica* fruit variability in phenolic profiles and in vitro radical scavenging potential. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(6), 1282-1289.

Ferradji, A., Chabour, H., & Malek, A. (2011). Séchage solaire des figes : Bilan thermique et isotherme de désorption. *Journal of Renewable Energies*, 14(4), 719-728.

Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A. et Poznanski, E. (2009). Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International dairy journal*, 19(1):3-11.

G

Gourama, H., & Bullerman, L. B. (1997). Anti-aflatoxigenic activity of *Lactobacillus casei pseudoplantarum*. *International Journal of Food Microbiology*, 34(2), 131-143.

Grigoras, C-G. (2012). Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse Doctorat. Université de Vasile Alecsandri, Bacau. 225.

Guiraud J.P. (2003). *Microbiologies alimentaires.* (edn) Dunod. Paris.p : 651.

H

Heperkan D., Somuncuoglu S., Karbancioglu-Güler F., Mecik N. (2012). Natural contamination of cyclopiazonic acid in dried figs and co-occurrence of aflatoxin. *Food Control*, 23: 82-86

Hwanhlem N., Buradaleng S., WattanachantS., Benjakul S., Maneerat S. (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. *Food Control*, 22: 401-407.

K

Kabak, B., Dobson, A. D., & Var, I. I. L. (2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(8), 593-619.

Kanapitsas, A., Batrinou, A., Aravantinos, A., Sflomos, C., & Markaki, P. (2016). Gamma radiation inhibits the production of Ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius*. Development of a method for OTA determination in raisins. *Food bioscience*, 15, 42-48.

Klewicka, E. (2007). Antifungal activity of lactic acid bacteria of genus *Lactobacillus* sp. In the presence of polyols. *Acta Alimentaria*, 36(4), 495–499. doi:10.1556/aalim.2007.0004

Klich, M. A., Cary, J. W., Beltz, S. B., & Bennett, C. A. (2003). Phylogenetic and morphological analysis of *Aspergillus ochraceoroseus*. *Mycologia*, 95(6), 1252-1260.

Kotsonis, S. E., Powell, I. B., Pillidge, C. J., Limsowtin, G. K., Hillier, A. J., & Davidson, B. E. (2008). Characterization and genomic analysis of phage asccp28, a phage of the family Podoviridae infecting *Lactococcus lactis*. *Applied and environmental microbiology*, 74(11), 3453-3460.

Kouadio, A. I., Lebrihi, A., Agbo, G. N. Z., Mathieu, F., Pfohl-Leszkowiz, A., & Dosso, M. B. (2007). Influence de l'interaction de la température et de l'activité de l'eau sur la croissance et la production de l'ochratoxine A par *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus ochraceus* sur un milieu de base café. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(7), 852-859.

L

Lahouar, A. (2016). Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie : Incidence et profils écophysologiques. /paper/Mycotoxinesetchampignons-mycotoxinog

Laitila A., Alakomi H.L., Raaska L., Mittila-sandholm T., et Haikara A. (2002). Antifungal activities of two *Lactobacillus plantarum* strains against *Fusarium* mould in vitro and in malting of barley. *Journal Applied of Microbiology*.63.566-576.

Lopez-Martinez, L. X., Oliart-Ros, R. M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C. H., Parkin, K. L., & Garcia, H. S. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology*, 42(6), 1187-1192.

M

Magnusson, J., & Schnürer, J. (2001). *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and environmental microbiology*, 67(1), 1-5.

Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J., & Schnürer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS microbiology letters*, 219(1), 129-135.

Mahmoudi, S., Khali, M., Benkhaled, A., Boucetta, I., Dahmani, Y., Attallah, Z., & Belbraouet, S. (2018). Fresh figs (*Ficus carica* L.): Pomological characteristics, nutritional value, and phytochemical properties. *European Journal of Horticultural Science*, 83(2), 104-113.

Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard C.L. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed., Doin éditeurs, Parismarkets. The Mycotoxin Fact Book: 83-93.

Mat Desa, W. N., Mohammad, M., & Fudholi, A. (2019). *Review of Drying Technology of Fig. Trends in Food Science & Technology.*

Mauch A, Dal Bello F, Coffey A, Arendt E.K., (2010), The use of *Lactobacillus brevis* PSI to in vitro inhibit the outgrowth of *Fusarium culmorum* and other common *Fusarium* species found on barley, *International Journal of Food Microbiology*, 141, 116-1

Mofredj, A., Bahloul, H., & Chanut, C. (2007). *Lactococcus lactis*: an opportunistic bacterium?. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 37(4), 200-207.

Moulinier, C. (2003). *Parasitologie et mycologie médicales : éléments de morphologie et de biologie.* Editions Médicales Internationales.

O

O'sullivan, L., Ross, R. P., & Hill, C. (2002). Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84(5-6), 593-604.

Oglietti, S. (2010). Bakery Bioprotection by Using Lactic Acid Bacteria with an Anti-Mould Activity.

Oliveira, A. P., Silva, L. R., Andrade, P. B., Valentão, P., Silva, B. M., Pereira, J. A., & de Pinho, P. G. (2010). Determination of low molecular weight volatiles in *Ficus carica* using HS-SPME and GC/FID. *Food chemistry*, 121(4), 1289-1295.

Ouaouich, A., & Chimi, H. (2005). *Guide du sécheur de figes.* 1ère édition. Organisation des Nations Unies pour le développement industriel, Maroc, 10, 28.

P

Pfohl-Leszkowicz, A., Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I. N., & Castegnaro, M. (2002). Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food additives & contaminants*, 19(3), 282-302.

Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997). Primary keys and miscellaneous fungi. In *Fungi and food spoilage* (pp. 59-171). Springer, Boston, MA.

Proffit, M., Schatz, B., Bessière, J. M., Cheri, C., Soler, C., & Hossaert-McKey, M. (2008). Signalling receptivity: comparison of the emission of volatile compounds by figs of *Ficus hispida* before, during and after the phase of receptivity to pollinators. *Symbiosis*.

R

Refai, M. K., Aziz, N. H., El-Far, F., & Hassan, A. A. (1996). Detection of ochratoxin produced by *A. ochraceus* in feedstuffs and its control by γ radiation. *Applied Radiation and Isotopes*, 47(7), 617-621.

Riba, A., Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2008). Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1), 85-92.

Roby-Brami, A., Bussel, B., Willer, J. C., & LeBars, D. (1987). An electrophysiological investigation into the pain-relieving effects of heterotopic nociceptive stimuli: probable involvement of a supraspinal loop. *Brain*, 110(6), 1497-1508.

S

Sadiq, F. A., Yan, B., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. (2019). Lactic acid bacteria as antifungal and anti-mycotoxigenic agents: a comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1403-1436.

Samson, R. A., Hong, S.-B., & Frisvad, J. C. (2006). Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology*, 44(s1), 133-148.

Schillinger U., Lücke F-K., (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55:1901-1906

Schnürer, J., & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 70-78.

Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. C., & Van Dijck, P. W. (2002). On the safety of *Aspergillus niger*—a review. *Applied microbiology and biotechnology*, 59(4), 426-435.

Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. C., et Van Dijck, P. W. (2002). Sur la sécurité d'*Aspergillus niger* – une revue. *Microbiologie appliquée et biotechnologie*, 59(4), 426-435.

Sharifian, F., Modarres Motlagh, A., & Nikbakht, A.M. (2012). Pulsed microwave drying kinetics of fig fruit (*Ficus carica* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 6 (10), 1441- 1447

Sinha, K. K. (2003). FIGUE. *Encyclopédie des sciences de l'alimentation et de la nutrition*, 2394-2399)

Slatnar, A., Klancar, U., Stampar, F., & Veberic, R. (2011). Effect of Drying of Figs (*Ficus carica* L.) on the Contents of Sugars, 2 Organic Acids, and Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (59): 11696-11702.

Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36(1), 1-29.

Sultan, Y., & Magan, N. (2010). Mycotoxigenic fungi in peanuts from different geographic regions of Egypt. *Mycotoxin Research*, 26(2), 133-140.

T

Tabuc, C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines (Doctoral dissertation).

Tjamos, E. C., Tsitsigiannis, D. I., Tjamos, S. E., Antoniou, P. P., & Katinakis, P. (2004). Selection and screening of endorhizosphere bacteria from solarized soils as biocontrol agents

against *Verticillium dahliae* of solanaceous hosts. *European Journal of Plant Pathology*, 110(1), 35-44.

Toit, M., Franz, C. M. A. P., Dicks, L. M. T., Schillinger, U., Haberer, P., Warlies, B., ... & Holzapfel, W. H. (1998). Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. *International journal of food microbiology*, 40(1-2), 93-104.

V

Valerio, F., Favilla, M., De Bellis, P., Sisto, A., de Candia, S., & Lavermicocca, P. (2009). Antifungal activity of strains of lactic acid bacteria isolated from a semolina ecosystem against *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger* and *Endomyces fibuliger* contaminating bakery products. *Systematic and Applied Microbiology*, 32(6), 438-448.

Varsha, K. K., & Nampoothiri, K. M. (2016). Évaluation des bactéries lactiques en tant que cultures protectrices. *Food Control*, 69, 61-64. 10.1016/j.foodcont.2016.04.032

Vidaud, J. (1997). Le figuier monographie du CTIFL (centre technique interprofessionnel des fruits et légumes). (Paris) 263-267 p.

W

World Health Organization (WHO). Safety evaluation of certain mycotoxins in food. 56th report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical report series, 906, 2002. 1-74

Wu, F. (2006). Economic impact of fumonisin and aflatoxin regulations on global corn and peanut

Z

Zhang, H. et Cai, Y. (2014). Lactic acid bacteria fundamentals and practice. Springer Dordrecht Heidelberg. New York London: 536.

Zhang, K., & Jiang, R. (2006). Pharmacological study of *Ficus carica*. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 226-228

Annexes

Annexe I

Matériel utilisé dans cette étude

Tableau 01 : matériel utilisé

Réactifs, colorants et autres	Appareillages	Verreries et autres
Eau distillée stérile Eau oxygénée Eau physiologique Tween 80 Ethanol 70 Lugol Fushine Huile de paraffine Violet de gentiane Alcool	Autoclave Bec bunsen Etuves PH-mètre La balance Agitateur magnétique chauffant Réfrigérateur Vortex La lampe UV Microscope optique	Bécher Pipette pasteur Anse platine Tubes ependorfs Tubes à essaie Eprouvette graduée Boîtes Pétri en plastique Barreaux magnétiques Papier aluminium Scalpel Parafilme Spatule Lame et lamelles Cellule de malessez Micropipette Erlenmeyer Flacons

Les milieux de culture

Tableau 02 : milieux de culture utilisés

Isolement et purification des champignon	Etude de pouvoir ochratoxinogène	Isolement et purification des bactérie lactique	Teste antagonisme
DG18 PDA CYA	CYA	MRS Bouillon MRS	MEA

Annexe II

La composition des milieux de culture

➤ Gélose PDA

4.0g Extrait de pomme de terre ; 20.00g Dextrose ; 17.00g Agar ; ph final à 25°C 5,6 ± 0,2

➤ **Milieu MEA**

0.78g Peptone ;12.75g Maltose; 2.75g Dextrine; 2.35g Glycérol; 15.00g Agar; pH final 4.7 ± 0.2

➤ **Milieu DG18**

5.00g Tryptone; 10.00g Glucose; 0.50 Sulfate de magnésium; 1.00 phosphate monopotassique; 0.002g Dichloran (dichloro-2.6-nitro-p-aniline) ;0.10g chloramphénicol ;15.00g Agar ;220.00g Glycérol; PH final à 25°C est 5.6 ± 0.2

➤ **Milieu MRS**

10.00 g Peptone, 10.00 g Extrait de viande, 20.00 g Glucose, 5.00 g Extrait de levure, 15.00 g Agar, 0.10 g Sulfate de magnésium, 0.05 g Sulfate de manganèse, 5.00 g Acétate de sodium, 2.00 g Phosphate bi sodique, 1.00 g Polysorbate 80, 2.00 g Citrate d'ammonium ,1 litre eau distillée, pH= $6,5 \pm 0,2$

➤ **Bouillon MRS**

10.00 g peptone,10.00 g extrait de viande ,5.00 g extrait de leueur, 20.00 glucose, 5.00g acétate de sodium, 2.00g citrate ammonium, 1.00 ml tween80, 2.00g Phosphate bi sodique, 2.00g hydrogèno phosphate de potassium, 0.20g Sulfate de magnésium 7H₂O, 0.50g Sulfate de magnésium 4H₂O, Ph= $6,4$.

Résumé

L'objectif de cette étude consiste à étudier l'activité antifongique de certaines souches de bactéries lactiques *vis-à-vis* d'*Aspergillus* section *Nigri*, isolé à partir des fragments des figes sèches sur le milieu DG18. L'identification des isolats obtenus a été faite en se basant sur les examens macroscopiques et microscopiques. Cette identification est complétée par l'étude du pouvoir ochratoxinogène.

La deuxième partie axée sur la revivification de quatre souches lactiques de genre *Lactobacillus* et l'isolement de *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* à partir d'un yaourt nature sur le milieu MRS. L'identification de *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* a été reposée essentiellement sur les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques.

La dernière partie de ce travail consacre à la recherche de l'effet antifongique par la méthode des puits sur le milieu MEA. Le résultat de test a montré que le surnageant de l'espèce *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* possède une activité inhibitrice contre *Aspergillus* groupe *Nigri* avec une zone d'inhibition de 9mm de diamètre, par contre les surnageants des souches de genre *Lactobacillus* n'ont présenté aucune action inhibitrice contre l'*Aspergillus* section *Nigri*.

Les mots clé : activité antifongique, bactéries lactique, *Aspergillus* section *Nigri*, fige sèche, *Streptococcus salivarius ssp thermophilus*.

Abstract

The objective of this study is to study the antifungal activity of certain strains of lactic acid bacteria against *Aspergillus* section *Nigri*, isolated from fragments of dried figs on DG18 medium. The identification of the isolates obtained was made based on macroscopic and microscopic examinations. This identification is completed by the study of the ochratoxinogenic power.

The second part focused on the resuscitation of four lactic strains of the *Lactobacillus* genus and the isolation of *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* from a natural yoghurt on the MRS medium. The identification of *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* was essentially based on morphological, physiological and biochemical criteria.

The last part of this work devotes to the research of the antifungal effect by the well method on the MEA medium. The test result showed that the supernatant of the species *Streptococcus salivarius ssp thermophilus* has inhibitory activity against *Aspergillus* group *Nigri* with an inhibition zone of 9mm in diameter, on the other hand the supernatant of the strains of the genus *Lactobacillus* did not show any inhibitory action against *Aspergillus* section *Nigri*.

Key words: antifungal activity, lactic acid bacteria, *Aspergillus* section *Nigri*, dried fig, *Streptococcus salivarius ssp thermophilus*.