

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**



## **THÈSE**

Pour l'obtention du titre de  
DOCTEUR EN SCIENCES  
En: **Sciences Biologiques**  
Présentée par Mme :

**SAHEL Nafissa**

## **THÈME**

**Etude de l' activité antifongique des bactéries lactiques  
isolées à partir du lait de chamelle en vue d' une  
utilisation à la préservation des denrées alimentaires  
stockées**

**Soutenu le 05-10-2023**

**Devant le jury**

	<b>Grade</b>	<b>Etablissement</b>	<b>Qualité</b>
Mme MOKHTAR Meriem	Pr	Université de Mostaganem	Présidente
Mme CHOUGRANI Fadela	Pr	Université de Mostaganem	Promotrice
Mr BELLAHCENE Miloud	Pr	Université d'Ain Temouchent	Examineur
Mr BENKADA Ahmed	Pr	Centre universitaire de Tissemsilt	Examineur
Mr HASSEINE Omar	Pr	Université d'Oran 1	Examineur
Mr DAHOU Abdelkader El-Amine	MCA	Université de Mostaganem	Examineur

**Année universitaire : 2023-2024**

# Remerciements

Je tiens à remercier en tout premier lieu ma directrice de thèse Madame Chougrani Fadela Professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Mostaganem pour son encadrement , son orientation ,son aide , sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je remercie ensuite l'ensemble des membres du jury, qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention mon travail ; Messieurs BELLAHCENE Miloud , BENKADA Ahmed , HASSEINE Omar et DAHOU Abdelkader El- Amine pour avoir accepté d'examiner cette thèse ; Madame MOKHTAR MARYEM pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Mes remerciements s'adressent également à Mr Cheriguene Abderrahim Professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Mostaganem pour son extrême compétence, disponibilité et gentillesse.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de cette thèse :

- Dr Hamani Zineb, et Pr Makhloufi Ahmed c'est grâce à eux que j'ai pu concilier avec bonheur recherche théorique et appliquée pendant cette thèse.
- Mme Meliani Hayat : qui m'a beaucoup appris sur les outils de la biologie moléculaire. Elle m'a partagé ses connaissances et ses expériences dans cet axe.
- Mr Bellouffa Ahmed : pour son aide et ses conseils concernant l'analyse statistique , ils ont grandement facilité mon travail.
- Dr Djaboub Serra, Mme Makloufi Souad , Dr Yagoubi Ahmed : d' avoir répondu à mes questions sur les bactéries lactiques, ainsi que leur expérience personnelle. Ils ont été d'un grand soutien dans l'élaboration de cette thèse.
- Mon père : d'avoir relu et corrigé ma thèse. Ses conseils de rédaction ont été très précieux

Enfin un grand merci à mes collègues, qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*A mes très chers parents, pour leurs sacrifices  
et leurs encouragements ;*

*A mes tendres frères et ma sœur Faïza pour  
tant de confiance, d'amour, de patience et  
d'abnégation ;*

*A mes enfants, neveux et nièce, oncles  
tantes et belles sœurs pour tant de  
consolidation et de tendresse ;*

*A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé,  
et à qui je souhaite plus de succès.*

## الملخص

يهدف هذا العمل أولاً لعزل وتحديد أنواع الفطريات المجهرية المسؤولة عن تدهور المواد الغذائية المخزنة وبشكل أكثر تحديداً تلك المسؤولة عن إفراز السموم الفطرية وثانياً عزل بكتيريا حمض اللبن من حليب الإبل من أجل دراسة نشاطها المضاد لنمو للفطريات المجهرية وذلك لمنع تلف المواد الغذائية المخزنة من طرفها

أظهرت كل من الإختبارات الفيزيوكيماوية ، تحاليل الفطريات والسمية التي أجريت على عينات القمح اللين والبن الأخضر والحمص المخزنة أن هذه الأخيرة لها درجة حموضة قريبة من المعتدلة كما أن محتويات رطوبة بها منخفضة، فضلاً عن فلورة فطرية وفيرة جداً وتنوعاً. تنتمي إلى الأجناس: الرشاشيات ، البنسليوم ، المغزلاويات ، النوباء ، الطوقيات البوغية و الأيلوكلاديوم

من جهة أخرى ، أظهر فحص 96 عزلة بكتيريا لبنية عزولة من حليب الإبل بطريقة المواجهة وطريقة الطبقة المزدوجة وكذلك على الوسط السائل لنشاطها المضاد للفطريات أن 87.1% من عزلات بكتيريا حمض اللبن لها تأثير على نمو المشيج الفطري وإنبات ابواغ الرشاشيات المدخنة ، والتي ينتمي معظمها إلى جنس *Lactobacillus*، حيث كان النشاط المضاد للفطريات لهذه العزلات أفضل على الوسط الصلب أكثر من الوسط السائل ، بالإضافة إلى ذلك أظهرت العزلات

(*Lactobacillus plantarum* (lac 01), *Lactobacillus frumenti* (lac 77), *Leuconostoc mesenteroides* (CO52), *Pediococcus pentosaceus* (CO8), *Pediococcus pentosaceus* (CO28)

قدرة عالية على تثبيط نمو مجموعة واسعة من الأنواع الفطرية ، كما خلال دراسة العزل المؤثرة على النشاط المضاد للفطريات ، سجل أفضل تثبيط عند درجة حرارة 30 درجة مئوية ، ودرجة الحموضة 6 و 7 ، وعلى وسط BSM الذي يعد الجلوكوز فيه المصدر الوحيد للكربون. لتوصيف طبيعة المسقلبات المفروزة من العزلات اللبينية التي ساهمت في النشاط المضاد للفطريات تم تعديل حموضة السائل لطافي اللاخولي للعزلات اللبينية كما تمت معالجته بالحرارة المرتفعة و بواسطة انزيمات الكاتالاز و البيبسين، حيث أظهرت النتائج ان المسقلبات المفروزة من *Pediococcus pentosaceus* CO8 ، *Pediococcus pentosaceus* CO28 التي ساهمت في النشاط المضاد للفطريات تحتوي على جزيئات لها طبيعة حمضية و اخرى لها طبيعة بروتينية

اختبار تطبيق السائل الطافي للعزلات (*Lactobacillus plantarum* (lac01) ، *Lactobacillus frumenti* (lac77) ، *Leuconostoc mesenteroides* (CO52) ، *Pediococcus pentosaceus* (CO8) ، في الحفظ البيولوجي على حبوب القمح وحبوب البن الخضراء وحبوب الحمص أظهر أن النمو الفطري كان مثبطاً تماماً

بينت نتائج هذه الدراسة أن (*Lactobacillus plantarum* (lac01) ، *Lactobacillus frumenti* (lac77) ، *Leuconostoc mesenteroides* (CO52) ، *Pediococcus pentosaceus* (CO8) لها القدرة على كبح نمو الفطريات ، كما يمكن استخدامها كمادة حافظة حيوية للأغذية المخزنة

الكلمات المفتاحية: تثبيط ، نمو ، الفطريات ، نشاط ، بكتيريا

## Abstract

The objectives of this work are firstly to isolate and identify fungal species responsible for the deterioration of stored foodstuffs and more particularly those responsible for the secretion of mycotoxins and secondly to isolate lactic acid bacteria from camel milk in order to study their antifungal effects on mould growth to prevent spoilage of foodstuffs stored by moulds.

The physicochemical, mycological and mycotoxicological analyses carried out on the samples of common wheat, green coffee and chickpeas stored showed that the latter have a pH close to neutrality and low moisture contents, as well as a very abundant and diversified fungal flora. It belongs to the genera: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* and *Ulocladium*

On the other hand, the screening of 96 lactic isolates isolated from camel milk by the confrontation method and by the double layer method as well as on a liquid medium for their antifungal activity showed that 87.1% of the lactic isolates have an effect on the mycelial growth and on the germination of the spores of *Aspergillus fumigatus*, the majority of which belonged to the genus *Lactobacillus* or the antifungal activity of these isolates was better on a solid medium than on a liquid medium, in addition to five isolates (*Lactobacillus plantarum* (lac 01), *Lactobacillus frumenti* (lac 77), *Leuconostoc mesenteroides* (CO52), *Pediococcus pentosaceus* (CO8), *Pediococcus pentosaceus* (CO28) have shown an ability to strongly inhibit a broad spectrum of fungal species. During the study of the factors influencing the antifungal activity a better inhibition was observed at the temperature of 30 ° C, pH 6 and 7, and on BSM medium whose glucose is the only source of carbon. To characterize the nature of the molecules that contributed to the antifungal activity of acellular free supernatants produced by lactic isolates of neutralization, heating and enzymatic treatment by catalase and pepsin were performed, the results showed that the supernatants of *Pediococcus pentosaceus* CO8, *Pediococcus pentosaceus* CO28 that contributed to the antifungal activity contain metabolites of acid nature, and protein in nature. The application of the supernatants of *Lactobacillus plantarum* (lac01), *Lactobacillus frumenti* (lac77), *Leuconostoc mesenteroides* (CO52), *Pediococcus pentosaceus* (CO8), *Pediococcus pentosaceus* (CO28) in biopreservation was tested on wheat beans, green coffee beans and chickpea beans which showed that fungal growth was completely inhibited.

The results of the present study show that *Lactobacillus plantarum* (lac01), *Lactobacillus frumenti* (lac77), *Leuconostoc mesenteroides* (CO52), *Pediococcus pentosaceus* (CO8), *Pediococcus pentosaceus* (CO28) isolates inhibit moulds, some and have the potential to be used as biopreservatives of stored food

Keywords: antifungal, mould, stored food, lactic isolates

## Résumé

Le présent travail a pour objectif premièrement d' isoler et l' identifier des espèces fongiques responsable de la détérioration des denrées alimentaires stockées et plus particulièrement celles responsables de la sécrétion des mycotoxines et deuxièmement d'isoler les bactéries lactiques du lait de chamelle afin d'étudier leurs effets antifongiques sur la croissance des moisissures pour prévenir la détérioration des denrées alimentaires stockées par les moisissures.

Les analyses physicochimiques , mycologiques et mycotoxicologique qui ont été effectuées sur les échantillon du blé tendre, du café vert et du pois-chiche stockés ont montré que ces derniers ont un pH proche à la neutralité et des faibles teneurs en humidité, ainsi qu'ils abritent une flore fongiquetrès abondante et diversifiée. Elle appartient aux genres :*Aspergillus* ,*Penicillium*,*Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* et *Ulocladium* .

D' une autre part le criblage de 96 isolats lactiques isolées a partir du lait de chamelle par la méthode de confrontation et par la méthode de double couche ainsi que sur milieu liquide pour leur activité antifongique à montré que 87,1% des isolats lactiques ont un effet sur la croissance mycélienne et sur la germination des spores d'*Aspergillus fumigatus* dont la majorité appartenait au genre *Lactobacillus* où l' activité antifongique de ces isolats était meilleure sur milieu solide que sur milieu liquide , en plus cinq isolats (*Lactobacillus plantarum* (lac 01), *Lactobacillus frumenti* (lac 77) , *Leuconostoc mesenteroides*( CO52) , *Pediococcus pentosaceus*( CO8) ,*Pediococcus pentosaceus* (CO28) ont montré une capacité à inhiber fortement un large spectre des espèces fongique. Lorsde l' étude des facteurs influençant l' activité antifongique une meilleur inhibition a été observée a la température de 30°C, aux pH 6 et 7, et sur milieu BSM dont le glucose est la seule source de carbone . Pour caractériser la nature des molécules qui ont contribué à l'activité antifongique des surnageants acellulaires produits par les isolats lactiques des traitements de neutralisation , de chauffage et des traitement enzymatiques par catalase et pepsine ont été effectués , les résultats ont montré que les surnageants de *Pediococcus pentosaceus* CO8 , *Pediococcus pentosaceus* CO28 qui ont contribué a l'activité antifongique renferment des métabolites de nature acide , et de nature protéique .L'application des surnageants des *Lactobacillus plantarum* (lac01), *Lactobacillus frumenti* (lac77) , *Leuconostoc mesenteroides* (CO52), *Pediococcus pentosaceus* (CO8) , *Pediococcus pentosaceus*( CO28) dans la biopréservation a été testée sur des grains de blé , des grains de café vert et les grains de pois-chiche qui a montré que la croissance fongique a été complètement inhibé.

Les résultats de la présente étude montrent que les isolats lactiques *Lactobacillus plantarum* (lac01), *Lactobacillus frumenti* (lac77) , *Leuconostoc mesenteroides* (CO52), *Pediococcus pentosaceus* (CO8) , *Pediococcus pentosaceus*( CO28) inhibent les moisissures, certaines et ont le potentiel d'être utilisées comme bioconservateurs des denrées alimentaires stockées

**Mots clés :** antifongique, moisissures, denrée stockée , isolats lactique

# Table des matières

Remerciements.....	i
Dédicaces.....	ii
ملخص.....	iii
Abstract.....	iv
Résumé.....	v
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	xii
Liste des figures.....	xiv
Liste des abréviations.....	xvii
Introduction .....	1
<b>Etude bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Lait de chamelle</b>	
I-1. Origine.....	3
I.2.Taxonomie .....	3
I.3.Répartition géographique et effectif des dromadaires.....	3
I.3.1.Dans le monde.....	3
I.3.2. En Algérie.....	5
I.4. Populations Algériennes.....	5
I.4.1. Chaambi.....	5
I.4.2. Ouled Sidi Cheikh.....	6
I.4.3. Saharaoui.....	6
I.4.4. Ait Khebbach.....	6
I.4.5. Chameau de la Steppe.....	6
I.4.6. Targui .....	6
I.4.7. Ajjer.....	6
I.4.8. Chameau de l'Aftouh .....	7
I.4.9. Reguibi .....	8
I.5.Production de lait par les dromadaires .....	8
I.6. Lait de chamelle.....	9
I.6.1. Caractéristiques du lait de chamelle.....	9
I.6.1.1 Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques.....	9
I.6.1.2. Caractéristiques chimiques et biochimiques.....	10

I.6.1.3 Caractéristiques microbiologiques du lait camelin .....	15
<b>Chapitre II : Les bactéries lactiques</b>	
II.1. Les bactéries lactiques.....	18
II.2. Définition et caractéristiques.....	18
II.3. Classification.....	19
II.4. Différents genres de bactéries lactiques.....	20
II.4.1.Genre <i>Lactobacillus</i> .....	20
II.4.2. Genre <i>Streptococcus</i> .....	21
II.4.3. Genre <i>Pediococcus</i> .....	21
II.4.4. Genre <i>Lactococcus</i> .....	22
II.4.5.Genre <i>Leuconostoc</i> .....	22
II.4.6. Genre <i>Enterococcus</i> .....	23
II.5. Bactéries lactique et sécurité des aliments.....	23
II.6. Bactéries lactiques et l'inhibition fongique.....	24
II.7. Facteurs qui influencent l' activité antifongique des bactéries lactiques.....	26
II.7.1. Température et période d'incubation.....	26
II.7.2. Effet des milieux de culture.....	26
II.7.3. Effet des facteurs nutritionnels .....	27
II.7.4. Effet du pH .....	27
II.8. Substances antifongiques.....	27
<b>Chapitre III : Moisissures et mycotoxines</b>	
III.1. Définition des moisissures.....	30
III.2. Principaux genres fongiques.....	31
III.2.1. Genre <i>Aspergillus</i> .....	31
III.2.2. Genre <i>Penicillium</i> .....	32
III.2.3. Genre <i>Fusarium</i> .....	34
III.3. Potentiel toxigène des principaux genres fongiques .....	36
III.4. Mycotoxines.....	37
III.4.1.Différentes mycotoxines rencontrées.....	38
III.4.1.1. Aflatoxines.....	38
III.4.1.2. Ochratoxine A.....	39
III.4.1.3. Zéaralénone.....	39
III.4.1.4. Fumonisines.....	40
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre I : Matériels et méthodes</b>	
I.1.Analyse des denrées alimentaires stockées .....	41
I.1.1. Choix d'aliment.....	41



I.1.2 Echantillonnage.....	41
I.1.2.1. Echantillonnage du blé tendre local et importé .....	41
I.1.2.2. Echantillonnage du café vert.....	41
I.1.2.3 Echantillonnage du pois-chiche.....	42
I.1.3. Analyses physicochimiques.....	42
I.1.3.1. Mesure de pH .....	42
I.1.3.2.Détermination de la teneur en humidité .....	42
I.1.4. Analyse mycologique .....	43
I.1.4.1. Dénombrement de la flore fongique par la méthode de dilution.....	43
I.1.4.2. Dénombrement de la flore fongique par la méthode directe.....	44
I.1.4.3. Purification et conservation des souches.....	44
I.1.4.4. Identification des moisissures.....	44
I.1.4.4.1. Identification des genres par la technique de micro-culture.....	45
I.1.4.4. 2. Identification des espèces .....	46
I.1.5. Analyses mycotoxicologiques.....	46
I.1.5.1. Recherche des souches productrices d'aflatoxines et d'ochratoxines .....	47
I.1.5.2. Ensemencement sur milieu YES.....	46
I.1.5.3. Extraction des aflatoxines et des ochratoxines .....	47
I.1.5.4. Détection des mycotoxines par chromatographie sur couche mince.....	47
I.2.Analyse microbiologique et physicochimique du lait de chamelle.....	48
I.2.1. Echantillonnage.....	48
I.2.2. Analyses physicochimiques du lait cru de chamelle.....	49
I.2.2.1. Mesure du pH .....	49
I.2.2.2. Détermination de l'acidité titrable.....	49
I.2.2.3. Détermination de la densité du lait .....	49
I.2.2.4. Détermination de la teneur en matière sèche totale .....	49
I.2.2.5. Détermination du taux de cendre.....	50
I.2.2.6. Détermination du taux de la matière grasse .....	50
I.2.2.7. Détermination du taux de protéine totale.....	51
I.2.2.8. Détermination de la teneur en lactose .....	52
I.2.3. Analyse microbiologique du lait de chamelle.....	53
I.2.3.1. Préparation des échantillons et des dilutions décimales .....	53
I.2.3.2. Dénombrement des germes totaux à 30°C.....	53
I.2.3.3. Dénombrement de la flore psychrotrophe.....	54
I.2.3.4. Dénombrement des coliformes totaux .....	54
I.2.3.5. Dénombrement des coliformes thermotolérants .....	55
I.2.3.6. Dénombrement des staphylocoques à coagulase positive .....	56
I.2.3.7. Dénombrement des streptocoques fécaux.....	57
I.2.3.8. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfite réducteurs.....	58
I.2.3.9. Dénombrement des salmonelles .....	58

I.2.3.10. Dénombrement des levures et moisissures.....	59
I. 3. Recherche et isolement des bactéries lactiques .....	60
I.3.1. Isolement des bactéries lactiques à partir du lait de chamelle.....	60
I.3.2. Purification.....	60
I.3.3. Pré-identification des souches.....	60
I.3.3.1. Coloration de Gram.....	61
I.3.3.2. Recherche du catalase.....	61
I.3.4. Caractérisation des isolats.....	61
I.3.4.1. Croissance à différentes températures.....	61
I.3.4.2. Croissances à différents pH .....	61
I.3.4.3. Culture sur milieu hypersalés.....	62
I.3.4.4. Recherche de l'Arginine dihydrolase (ADH).....	62
I.3.4.5. Recherche de type fermentaire.....	62
I.3.4.6. Test du lait de Sherman.....	63
I.3.4.7. Test d'hémolyse.....	63
I.3.4.8. Recherche de gélatinase.....	63
I.3.4.9. Fermentation des hydrates de carbones.....	64
I.3.4.9.1. La galerie classique.....	64
I.3.4.9.2. La galerie API 20 Strep.....	64
I.3.5. Identification moléculaire.....	65
I.4. Recherche de l'activité antifongique des bactéries lactiques isolées.....	67
I.4.1. Criblages des bactéries lactiques à caractère antifongique.....	67
I.4.1.1. Méthode de double couche.....	67
I.4.1.2. Méthode de confrontation.....	68
I.4.2. Test d'inhibition fongique sur milieu liquide.....	68
I.4.3. Détermination de l'activité inhibitrice des surnageants acellulaires des bactéries lactiques.....	69
I.4.4. Détermination du spectre antifongique.....	70
I.4.5. Observation de l'aspect microscopique des souches fongiques inhibées.....	70
I.4.6. Facteurs influençant l'activité antifongique.....	71
I.4.6.1. Activité antifongique à différentes températures d'incubation.....	71
I.4.6.2. Activité antifongique à différents pH du milieu .....	71
I.4.6. 3. Activité antifongique à différentes source de carbone.....	71
I.5. Caractérisation de l'activité antifongique.....	72
I.5.1. Effet de la neutralisation du pH du surnageant acellulaire.....	72
I.5.2. Effet du traitement par catalase.....	72
I.5.3. Effet du traitement par protéase.....	72
I.5.4. Effet du traitement thermique.....	73
I.6. Evaluation in situ de l'activité antifongique des surnageants acellulaires des bactéries lactiques.....	73
I.6. Analyses statistiques.....	73

## Chapitre II : Résultats et discussions

II.1. Résultats des analyses des denrées alimentaires stockées.....	74
II.1. Résultats des analyses des denrées alimentaires stockées.....	74
II.1.1. Résultats de mesure du pH et d'humidité.....	74
II.1.1.1 Mesure de pH .....	74
II.1.1.2 Mesure de taux d'humidité.....	75
II.1.2. Résultats de l'analyse mycologique.....	77
II.1.2.1. Résultats de dénombrement de la flore fongique par la méthode de dilution	77
II.1.2.2. Résultat de dénombrement de la flore fongique par la méthode directe.....	79
II.1.2.3. Résultat de dénombrement des souches identifiées .....	80
II.1.2.4. Caractéristiques phénotypiques des principaux genres de moisissures.....	84
II.1.2.4.1. Caractéristiques phénotypiques des <i>Penicillium</i> .....	84
II.1.2.4.2. Caractéristiques phénotypiques des <i>Aspergillus</i> .....	85
II.1.2.4.3. Caractéristiques phénotypiques du <i>Fusarium</i> .....	87
II.1.2.4.4. Caractéristiques phénotypiques d' <i>Alternaria</i> .....	88
II.1.2.4.5. Caractéristiques phénotypiques du <i>Cladosporium</i> .....	88
II.1.2.4.6. Caractéristiques phénotypiques d' <i>Ulocladium</i> .....	89
II.1.2.4.7. Caractéristiques phénotypiques de <i>Rhizomucor</i> .....	89
II.1.2.5. Résultats d'identification des espèces fongiques.....	90
II.1.3. Résultats des analyses mycotoxiques.....	100
II.1.3. 1. Recherche des souches productrices d'aflatoxine et de ochratoxine A.....	100
II.1.3.1.1. Potentiel mycotoxinogène des espèces d' <i>Aspergillus</i> isolées du blé tendre local et du blé tendre importé.....	101
II.1.3.1.2. Potentiel mycotoxinogène des espèces d' <i>Aspergillus</i> isolées du café vert robusta et café vert arabica.....	101
II.1.3.1.3. Potentiel mycotoxinogène des espèces d' <i>Aspergillus</i> isolées du pois-chiche .....	102
II.2. Résultat des analyses physicochimiques et microbiologiques du lait de chamelle	103
II.2.1. Résultats d'analyses physicochimiques.....	103
II.2.1.1. Résultats de mesure du pH .....	103
II.2.1.2. Résultats de mesure de l'acidité.....	104
II.2.1.3. Résultats de mesure de la densité.....	105
II.2.1.4. Résultats de mesure de la teneur en matière sèche.....	105
II.2.1.5. Résultats de mesure de taux de cendre.....	106
II.2.1.6. Résultat de la détermination de la teneur en protéines totales.....	107
II.2.1.7. Résultat de la détermination de la teneur en matière grasse.....	108
II.2.1.8. Résultat de la détermination de la teneur en lactose.....	108
II.2.2. Résultats des analyses microbiologiques.....	109
II.2.2.1. Flore aérobie totale.....	109
II.2.2.2. Résultats de dénombrement de la flore psychrotrophe.....	110
II.2.2.3. Résultats de dénombrement des coliformes totaux .....	110
II.2.2.4. Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants.....	111

II.2.2.5. Résultats de dénombrement des streptocoques fécaux.....	112
II.2.2.6. Résultats de dénombrement des moisissures et des levures.....	112
II.2.2.7. Résultats de dénombrement de la flore pathogène.....	113
II.3. Isolement et purification des bactéries lactiques.....	113
II.3.1. Distribution des genres de bactéries lactiques dans le lait de chamelle .....	114
II.3.2. Distribution d'espèces de bactéries lactiques dans le lait de chamelle.....	118
II.3.3. Identification moléculaire.....	118
II.4. L'activité antifongique des bactéries lactiques.....	120
II .4.1. Résultats de criblage des souches lactiques à activité antifongique.....	120
II.4.1.1. Résultats de criblage par la méthode de double couche .....	120
II.4.1.2. Résultat de l'activité antifongique par la méthode de confrontation.....	121
II.4.2. Résultat de l'activité antifongique sur milieu liquide.....	124
II.4.3. Résultats de la détermination du spectre antifongique.....	127
II.4.4. Aspect microscopique des souches fongiques inhibées par les bactéries lactiques.....	133
II.4.5. Résultats de l'activité antifongique du surnageant acellulaire.....	134
II.4.6. Effet de variation des conditions de croissance sur la production de composés antifongiques.....	136
II.4.6. 1. Activité antifongique à différentes températures d'incubation.....	136
II.4.6. 2. Activité antifongique à différents pH du milieu.....	137
II.4.6. 3. Activité antifongique en fonction de source de carbone .....	138
II.4.7. Caractérisation des métabolites antifongiques.....	139
II.4.7. 1. Influence de pH .....	139
II.4.7. 2. Influence de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> sur l'activité du surnageant acellulaire des bactéries lactiques.....	140
II.4.7. 3. Influence de la température.....	141
II.4.7. 4. Influence des protéases sur l'activité du surnageant acellulaires.....	143
II.4.8. Traitement in situ des graines stockées par le surnageant acellulaire des bactéries lactiques.....	144
Conclusion et prescriptives.....	145
Références bibliographiques .....	145
Annexes	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b>	Production du lait de chamelle dans le monde et en Algérie (en tonnes de lait) selon FAO 2014	<b>8</b>
<b>Tableau 02 :</b>	Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle	<b>9</b>
<b>Tableau 03 :</b>	Composition chimique globale du lait de chamelle	<b>12</b>
<b>Tableau 04 :</b>	Teneur en vitamine en 100 ml du lait de chamelle	<b>13</b>
<b>Tableau 05 :</b>	Teneur en minéraux ( macro-éléments) dans lait de chamelle en( mg / 100 g )	<b>14</b>
<b>Tableau 06 :</b>	Teneur en oligo-éléments dans le lait de chamelle	<b>14</b>
<b>Tableau 07 :</b>	Différents genres de bactéries lactiques	<b>19</b>
<b>Tableau 08 :</b>	Bactéries lactiques isolées dotées d'un effet antifongique	<b>25</b>
<b>Tableau 09 :</b>	Substances antifongiques identifiées chez les bactéries lactiques	<b>29</b>
<b>Tableau 10 :</b>	Quelques espèces fongiques productrices de mycotoxines	<b>37</b>
<b>Tableau 11 :</b>	Répartition des souches productrices de mycotoxines isolées du blé tendre	<b>101</b>
<b>Tableau 12 :</b>	Répartition des souches productrices de mycotoxines isolées du café vert	<b>102</b>
<b>Tableau 13 :</b>	Distribution des isolats mycotoxinogènes isolés du pois-chiche	<b>103</b>
<b>Tableau 14 :</b>	Résultat de mesure du pH, d'acidité titrable et de la densité	<b>104</b>
<b>Tableau 15 :</b>	Résultats de mesure de la matière sèche et le taux de cendre	<b>106</b>
<b>Tableau 16 :</b>	Résultats de mesure du taux de la matière grasse, protéines totales et lactose	<b>107</b>
<b>Tableau 17 :</b>	Dénombrement de la flore aérobie totale et la flore psychrotrophe	<b>109</b>
<b>Tableau 18 :</b>	Dénombrement des coliformes totaux, coliformes thermotolérants et streptocoques fécaux	<b>111</b>
<b>Tableau 19 :</b>	Dénombrement des levures et moisissures	<b>113</b>
<b>Tableau 20 :</b>	Bactéries lactiques identifiées et leur pourcentage de similarité	<b>119</b>
<b>Tableau 21 :</b>	Criblage des bactéries lactiques à effet antifongique	<b>122</b>
<b>Tableau 22 :</b>	Spectre antifongique des bactéries lactiques	<b>130</b>

<b>Tableau 23 :</b>	Diamètre de la zone d'inhibition	<b>135</b>
<b>Tableau 24 :</b>	Effet de la température d'incubation sur l'activité antifongique	<b>136</b>
<b>Tableau 25 :</b>	Effet du pH du milieu de culture sur l'activité antifongique	<b>137</b>
<b>Tableau 26 :</b>	Effet de la source du carbone sur l'activité antifongique	<b>138</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b>	Répartition des chameaux dans le monde	4
<b>Figure 02 :</b>	Localisation des principales races de dromadaires en Algérie	7
<b>Figure 03 :</b>	Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i>	32
<b>Figure 04 :</b>	Caractères morphologiques des <i>Penicillium</i>	33
<b>Figure 05 :</b>	Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i>	35
<b>Figure 06 :</b>	Micro-culture des moisissures pour l'identification microscopique	45
<b>Figure 07 :</b>	Points de prélèvement du lait de chamelle	48
<b>Figure 08 :</b>	Séquençage de l'ADN à l'aide d'électrophorèse capillaire en gel	67
<b>Figure 09 :</b>	Schéma du test de l'activité antifongique par la méthode des puits	70
<b>Figure 10 :</b>	Valeurs moyennes de pH des différents échantillons analysés	75
<b>Figure 11 :</b>	Résultats du taux d'humidité des différents échantillons analysés.	76
<b>Figure 12 :</b>	Taux de la microflore fongique totale présente dans les différents échantillons	78
<b>Figure 13:</b>	Taux de contamination fongique interne dans les différents échantillons	79
<b>Figure 14:</b>	Pourcentage des souches fongiques identifiées contaminants le blé tendre local et importé	81
<b>Figure 15 :</b>	Pourcentage des souches fongiques identifiées contaminants le café vert	81
<b>Figure 16 :</b>	Pourcentage des souches fongiques identifiées contaminants le pois-chiche	82
<b>Figure 17 :</b>	Photo de structure macroscopique et microscopique des <i>Penicillium</i>	84
<b>Figure 18:</b>	Photo de structure macroscopique et microscopique des <i>Aspergillus</i>	86
<b>Figure 19 :</b>	Aspect morphologique et microscopique de la souche <i>Fusarium</i>	87
<b>Figure 20 :</b>	Photo de structure macroscopique et microscopique d' <i>Alternaria</i>	88
<b>Figure 21:</b>	Photo structure macroscopique et microscopique de <i>Cladosporium</i>	89
<b>Figure 22 :</b>	Photo de structure macroscopique et microscopique d' <i>Ulocladium</i>	89

<b>Figure 23 :</b>	Photo de structure macroscopique et microscopique de <i>Rhizomucor</i>	<b>90</b>
<b>Figure 24 :</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus ochraceus</i>	<b>91</b>
<b>Figure 25 :</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus niger</i>	<b>91</b>
<b>Figure 26 :</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus candidus</i>	<b>92</b>
<b>Figure 27</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus fumigatus</i>	<b>92</b>
<b>Figure 28</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus parasiticus</i>	<b>93</b>
<b>Figure 29</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus flavus</i>	<b>94</b>
<b>Figure 30</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus niveus</i>	<b>94</b>
<b>Figure 31</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus ustus</i>	<b>95</b>
<b>Figure 32</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus clavatus</i>	<b>95</b>
<b>Figure 33</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus roseus</i>	<b>96</b>
<b>Figure 34</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Aspergillus carbonarius</i>	<b>97</b>
<b>Figure 35</b>	Aspects cultureux et microscopiques du <i>Penicillium expansum</i>	<b>97</b>
<b>Figure 36</b>	Aspects cultureux et microscopiques du <i>Penicillium verrucosum</i>	<b>98</b>
<b>Figure 37</b>	Aspects cultureux et microscopiques du <i>Penicillium viridicatum</i>	<b>99</b>
<b>Figure 38</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Penicillium italicum</i>	<b>99</b>
<b>Figure 39</b>	Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce <i>Fusarium graminearum</i>	<b>100</b>
<b>Figure 40</b>	Photos des plaques CCM des isolats des différentes souches cultivées sur milieu YES	<b>100</b>
<b>Figure 41</b>	Aspect macroscopique des bactéries lactiques	<b>113</b>
<b>Figure 42</b>	Aspect microscopique des lactobacilles	<b>114</b>
<b>Figure 43</b>	Aspect microscopique des coques lactiques	<b>114</b>
<b>Figure 44</b>	Distribution des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle selon les genres	<b>115</b>
<b>Figure 45 :</b>	Résultats des tests d'hémolyse, d'utilisation du citrate et de l'hydrolyse de l'esculine	<b>116</b>
<b>Figure 46 :</b>	Résultats de tests d'hydrolyse de l'arginine, production d'acétoïne, et recherche de type fermentaire	<b>116</b>



<b>Figure 47:</b>	Extrait du chromatogramme du début de nucléotides présentant les mauvais pics de la souche	<b>118</b>
<b>Figure 48:</b>	Exemple de résultats obtenu en utilisant BLASTN sur le site ( <a href="https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi">https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi</a> )	<b>119</b>
<b>Figure 49:</b>	Activité antifongiques des bactéries lactiques contre <i>Aspergillus fumigatus</i> par la méthode de double couche	<b>120</b>
<b>Figure 50:</b>	Distribution des genres selon l'effet antifongique	<b>121</b>
<b>Figure 51:</b>	Activité antifongique des bactéries lactiques par la méthode de confrontation	<b>122</b>
<b>Figure 52:</b>	Activité antifongique des coques lactiques sur milieu liquide	<b>125</b>
<b>Figure 53:</b>	Activité antifongique des <i>Lactobacillus</i> sur milieu liquide	<b>125</b>
<b>Figure 54 :</b>	Aspect du biofilm fongique inhibé par les bactéries lactiques sur milieu liquide	<b>126</b>
<b>Figure 55 :</b>	Inhibition de la croissance du <i>Fusarium graminearum</i> par la méthode de confrontation	<b>127</b>
<b>Figure 56 :</b>	Inhibition de la croissance de <i>Penicillium digitatum</i> par les bactéries lactiques	<b>128</b>
<b>Figure 57 :</b>	Inhibition de la croissance d' <i>Aspergillus ochraceus</i> par les bactéries lactiques	<b>128</b>
<b>Figure 58 :</b>	Inhibition de la croissance d' <i>Aspergillus carbonarius</i> par les bactéries lactiques	<b>129</b>
<b>Figure 59 :</b>	Inhibition d' <i>Aspergillus flavus</i> par la méthode de double couche	<b>129</b>
<b>Figure 60 :</b>	Aspect microscopiques des souches fongiques inhibées par les bactéries lactiques	<b>133</b>
<b>Figure 61 :</b>	Activité antifongique du surnageant acellulaire des bactéries lactiques	<b>134</b>
<b>Figure 62 :</b>	Activité antifongique du <i>Lb.plantarum</i> lac 01 en fonction du pH	<b>137</b>
<b>Figure 63 :</b>	Activité antifongique du surnageant acellulaire neutralisé	<b>140</b>
<b>Figure 64:</b>	Diamètre des zones d'inhibition fongique des surnageants acellulaires neutralisés	<b>141</b>
<b>Figure 65 :</b>	Activité antifongiques des surnageants acellulaires traités par l'enzyme catalase	<b>142</b>
<b>Figure 66 :</b>	activité antifongiques des surnageants acellulaires chauffés	<b>140</b>
<b>Figure 67 :</b>	activité antifongiques des surnageants acellulaires traités par l'enzyme pepsine	<b>143</b>

## Liste des abréviations

<b>A</b>	: <i>Aspergillus</i>
<b>ADH</b>	: Arginine dihydrolase
<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>AF</b>	: Aflatoxine
<b>AFB</b>	: Aflatoxine B
<b>AFG</b>	: Aflatoxine G
<b>AOAC</b>	: Association of Official Agricultural Chemists
<b>BCP</b>	: Pourpre de bromocrésol
<b>CCM</b>	: Chromatographie sur couche mince
<b>CYA</b>	: Czapek Yeast extract Agar
<b>°D</b>	: Degré Dornic
<b>DCPA</b>	: Dichloran chloramphenicol peptone agar
<b>DCMA</b>	: Dichloran chloramphenicol Malt extract Agar
<b>ddNTP</b>	: didésoxyribonucléotide
<b>DG18</b>	: Dichloran Glycerol
<b>F</b>	: <i>Fusarium</i>
<b>FB1</b>	: Fumonisine B1
<b>GYA</b>	: Glucose Yeast extract Agar
<b>G25N</b>	: Glycérol Nitrate Agar à 25 °C
<b>IDF</b>	: International Dairy Federation
<b>MEA</b>	: Malt Extract Agar
<b>MRS</b>	: Gélose de Man, Rogosa, Sharpe
<b>MSE</b>	: Gélose de MAYEUX, SANDINE et ELLIKER
<b>NF</b>	: Norme Française
<b>OTA</b>	: Ochratoxine A
<b>OGA</b>	: Oxytétracycline Glucose Agar
<b>P</b>	: <i>Penicillium</i>
<b>PCA</b>	: Plate Count Agar
<b>PCR</b>	: Polymerase Chain Reaction
<b>PDA</b>	: Potato Dextrose Agar
<b>Ped</b>	: <i>Pediococcus</i>
<b>TSC</b>	: Tryptone-Sulfite-Cyclosérine

- UFC** : unité formant colonie
- UFT** : Unité formant trouble
- VRBL** : gélosé à la bile, au rouge neutre, au cristal violet et au lactose
- ZEA** : zéaralénone

# **Introduction**

## Introduction

Le stockage des denrées alimentaires et des aliments pour bétail, est exposé à un problème majeur qui est la contamination et la détérioration par des moisissures (*Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*) qui engendrent de grandes pertes économiques dans le monde entier (Pessu et al., 2011).

De plus, les aliments contaminés par des champignons peuvent avoir plusieurs des effets cancérigènes, mutagènes, tératogènes et immunosuppressives dues à la production de mycotoxines par différentes espèces fongiques (Omotayo et al., 2019).

Pour préserver la sécurité des denrées alimentaires et les aliments pour animaux, la lutte se fait par l'application de méthodes physiques et des produits chimiques. Néanmoins, le traitement physique comprenant la sonication, irradiation, chauffage, impulsions électriques, haute pression, filtration et l'adsorption peut contribuer à abaisser la qualité alimentaire. (Schnürer et Magnusson, 2005) De plus, le traitement chimique utilisant des agents antifongiques synthétiques, présentait certaines effets négatifs, notamment l'accumulation possible de résidus chimiques dans les aliments et l'environnement ainsi que la mutation possible de champignons toxigènes (Kabak et al., 2006).

Outre les effets négatifs sur le goût et la saveur, les consommateurs sont également de plus en plus préoccupés par l'utilisation de conservateurs et de produits chimiques dans les aliments, ce qui stimule la demande vers les produits naturels et biologiques. Par conséquent, il y a un intérêt important à développer des conservateurs naturels pour améliorer ou remplacer les traitements chimiques (Cheong et al., 2014).

La biopréservation désigne l'utilisation de la microflore naturelle, ou ses métabolites, pour prolonger la durée de conservation et améliorer la salubrité des aliments (Stiles, 1996). Étant donné que les bactéries lactiques sont présentes naturellement dans de nombreux systèmes alimentaires, elles ont été utilisées sans crainte dans les aliments fermentés. Elles ont un grand potentiel pour une utilisation prolongée dans la biopréservation.

De nombreuses publications ont identifié les activités antibactériennes (O'sullivan, Ross et Hill, 2002) et antifongiques (Crowley et al., 2013, Dalié et al., 2010, Magnusson et al., 2003, Schnürer et Magnusson, 2005) des bactéries lactiques. L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques est due à la production de plusieurs substances antimicrobiennes telles que

l'acide lactique, qui abaisse le pH dans les aliments et aide à inhiber la croissance d'autres micro-organismes (**Brul et Coote, 1999**). D'autres composés produits par les bactéries lactiques tels que le peroxyde d'hydrogène, l'acide acétique, la réutéline, le diacétyle et les bactériocines contribuent également aux capacités de conservation (**Caplice et Fitzgerald, 1999, Lindgren et Dobrogosz, 1990**).

Certaines études ont démontré que les bactéries lactiques isolées à partir de différents types d'aliments ont des propriétés antifongiques, ces études décrivent aussi les métabolites antifongiques des bactéries lactiques et démontrent leur potentiel protection dans les modèles de produits laitiers, de cacao, de boulangerie, de jus de fruits et de purée (**Bartkiene et al., 2020; Cheong et al., 2014; Crowley et al., 2012; Le Lay, Mounier et al., 2016; Romanens et al., 2019; Ruggirello et al., 2019; Russo et al., 2017**).

Cependant, quelques travaux limités ont été effectués pour étudier spécifiquement l'utilité des bactéries lactiques dans la biopréservation de denrées alimentaires stockées, une étude approfondie sur ce sujet est nécessaire car il est crucial de conserver la qualité des denrées stockées pour éviter des pertes économiques et pour permettre une qualité optimale des produits alimentaires finaux utilisant ces denrées stockées comme ingrédient.

Notre étude vise à étudier l'activité antifongique des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle contre les moisissures couramment associées à la détérioration des denrées alimentaires stockées.

Cette thèse est composée de trois parties : la première est consacrée à une étude bibliographique rappelant

- Le lait de chamelle,
- Les bactéries lactiques et leur activité antifongique
- en fin les moisissures

La seconde partie expose les objectifs de la thèse, le matériel utilisé pour la réalisation des différentes analyses et détaille la méthodologie de recherche et la démarche expérimentale mise en place.

La troisième partie traite les résultats et les discussions.

**Partie**  
**bibliographique**

# Chapitre I



Les chameaux et les dromadaires sont des éléments indispensables dans la vie des personnes vivant dans les régions arides et sahariennes pour de nombreuses raisons. En outre, c'est une excellente source de viande et de produits laitiers dans les zones difficiles à produire de la nourriture (Mahgoub et Sulieman, 2022).

### I-1.Origine

Le nom « dromadaire » est tiré du mot grec « dromados » qui signifie coureur, pour son utilisation dans le transport (Souilem et Barhoumi, 2009).

Le dromadaire vit quasiexclusivement dans les zones désertiques et arides. **Gauthier-Pilters (1981)** rapporte que les ancêtres des camélidés actuels apparaissent au Tertiaire en Amérique du nord. **D'après Yagil (1984)**, ces proto-camélidés migrèrent d'Amérique du nord vers les autres parties du monde et s'éteignirent dans leur lieu d'origine.

### I.2.Taxonomie

Le dromadaire appartient à l'embranchement des vertébrés, classe des mammifères placentaires. Il appartient à l'ordre des Artiodactyles, sous-ordres Tylopodes (**Correa, 2006**) et à la famille des camélidés.

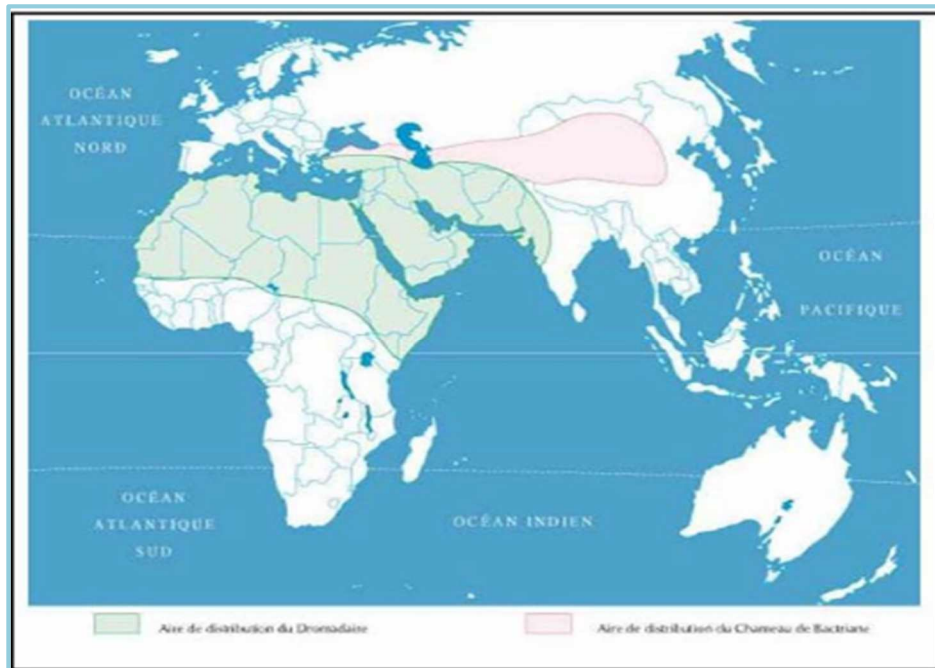
Il se caractérise par l'existence d'une seule bosse, et se distingue de ce fait, du chameau à deux bosses (*Camelus bactrianus*) deuxième espèce du même genre. Une autre différence essentielle entre les deux espèces, réside dans le fait que le dromadaire occupe des aires géographiques appartenant à plusieurs continents comme l'Australie, l'Afrique du Nord, l'Amérique du sud et l'Asie, alors que le chameau à deux bosses ne se trouve qu'en Asie . A coté des deux espèces de chameaux précédemment décrites, la famille des camélidés comporte un autre genre : le Lama dont l'aire de distribution se limite aux hautes altitudes des désert du continent Américain (**Chatt,2013**).

### I.3.Répartition géographique et effectif des dromadaires

#### I.3.1.Dans le monde :

L'aire de répartition géographique de la population caméline, se situe, aux niveaux des zones tropicales et subtropicales et s'étend, des régions arides et semi-arides du nord de l'Afrique(Mauritanie) jusqu'au nord-ouest du continent asiatique (Chine)( figure 01).

Une implantation massive de dromadaires a été faite au siècle dernier en Australie, des introductions très ponctuelles ont également été réalisées aux Etats-Unis, en Amérique Centrale, en Afrique du Sud et en Europe (**Ould Ahmed, 2009**).



**Figure 01 : Répartition des chameaux dans le monde (Ould Ahmed, 2010)**

D'après les statistiques de l'organisation d'alimentation et d'agriculture (FAO) en 2008, La population mondiale de chameaux est estimée à près de 20 millions de têtes. Avec la Somalie ayant le plus grand troupeau dans le monde (**Al Haj et al Kanhal, 2010**). Près de 80 % de la population de dromadaires se situe en Afrique où l'essentiel des effectifs est concentré dans les pays de la Corne (Somalie, Ethiopie, Djibouti, Kenya, et Soudan) qui abritent environ 60 % du cheptel camelin mondial. La Somalie, à elle seule, avec ses 6 millions de dromadaires, possède près de 50 % du cheptel africain, ce qui lui vaut vraisemblablement l'appellation de "pays du chameau" (**Correa, 2006**).

### I.3.2.En Algérie

En Algérie, l'élevage camelin à toujours joué et joue encor un rôle considérable dans le développement de l'économie régionale des zones arides par ces productions en viande, lai , poils, peau crottins et ses utilisations socioculturelles comme animal de selle et de transport. Toutefois, l'effectif camelin Algérien a diminué d'environ 40 % durant ce dernier siècle . En 1890, un effectif de 159 000 têtes a été enregistré, de 194 000 en 1910, de 158 000 en 1962, de 141 000 en 1985, et de 135 000 en 1990 (**Chehma,2002**).

Le dromadaire se distribue dans 17 wilayat (8 sahariennes et 9 steppiques) avec 268.560 têtes en 2005. 75 % du cheptel est dans les wilayat sahariennes (Ouargla Ghardaïa, El-Oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Tindouf et Béchar) dont le plus grand effectif est dans les wilayat de Tamanrasset et El-Oued) et 25% du cheptel est dans les wilayat steppiques (Biskra, Tébessa, Koechel, Batna, Djelfa, El-Bayad, Naâma , Laghouat et M'sila) (**Ben Aissa,1989**). Pour bien préciser la répartition géographique du cheptel camelin dans notre pays, on distingue trois grandes aires de distribution :

La première aire de distribution, est le Sud-est : El-oued, Biskra, M'sila, Tébessa,Batna, Ouargla, Ghardaïa, Laghouat et Djelfa ;

La deuxième aire, est le Sud-ouest représentée par : Bechar, Tindouf, Naâma, El-Bayadh, Tiaret et le nord d'Adrar ; L'extrême sud, c'est la troisième aire de distribution : Tamanrasset, Illizi, le sudd'Adrar (figure 02) (**Ben Aissa, 1989**).

### I.4.Populations Algériennes

Des populations de selles, de bât et de trait sont rencontrées en Algérie et qui se retrouvent également dans trois pays d'Afrique du Nord ; Il s'agit des populations suivantes :

#### I.4.1.Chaambi

C'est la population la mieux adaptée pour le transport, les individus de cette population sont robustes et possèdent une grande musculature et un fort squelette osseux. Sa hauteur à l'épaule peut atteindre 1.65 m. Sa répartition va du grand erg occidental au grand erg oriental. On le retrouve aussi dans le Metlili des Chaambas.

#### **I.4.2. Ouled Sidi Cheikh**

Les individus de cette population sont de tailles moyennes et variant entre 1.80 m et 1.83 m. ils sont robustes et plus adaptés aux sols caillouteux qu'aux sols sableux. Leurs poils sont de couleur foncée. Ce sont des animaux de selle. On les trouve dans les hauts plateaux du grand erg occidental.

#### **I.4.3. Saharaoui**

C'est un animal issu du croisement de la population Chambi avec celle d'Ouled sidi cheikh .C'est l'animal noble par excellence, par sa couleur, son allure, sa morphologie longiligne, C'est un animal de selle, adapté à la course dans le désert saharien. Son territoire va du grand erg occidental au centre du Sahara.

#### **I.4.4. Ait Khebbach**

Est un animal de bât. Généralement forts, présentant des muscles bien développés avec des poils courts et ondulés et une couleur foncée On le trouve dans l'aire Sud-Ouest (**Harek, 2017**).

#### **I.4.5. Chameau de la steppe**

Cette population cameline se caractérise par ses poils qui sont les meilleurs du point de vue quantité et qualité par rapport aux autres populations en Algérie, elle est utilisée pour le nomadisme rapproché. On le trouve aux limites sud de la steppe.

#### **I.4.6. Targui**

Les individus de cette population sont habitués aux conditions routières difficiles du Tassilli et du massif central du Hoggar. Ce sont des animaux de selle par excellence, assez grands (plus de 2 m) avec des membres fins et musclés. La bosse est relativement petite. La queue est petite et la semelle est fine. Le manteau est blond ou pointillé, les poils sont courts et la peau est fine. Les mâles sont largement utilisés pour la reproduction. Cette race se trouve principalement autour du Hoggar et dans le Sahara central (**Harek et al., 2017**)

#### **I.4.7. Ajjer**

Est une population de dromadaire , principalement utilisé comme animal de selle et de bât. Les individus de cette population sont petits de taille que l'on trouve dans le massif

montagneux du Tassili n'Ajjer, au sud-est de l'Algérie. De couleur claire, gris, parfois pie, ils mesurent entre 180 et 190 cm. ils sont adaptés aux zones de montagnes et les terrains accidentés (Harek et al., 2017).

#### I.4.8. Chameau de l'Aftouh

Cette population est appréciée de sa viande. L'origine de son appellation Aftouh n'est pas clairement définie. Cette population dérive génétiquement de Reguibet en raison de leur morphologie proche bien que l'Aftouh soit plus massif. Les deux populations vivent dans la même région, mais les habitants préfèrent Aftouh pour voyager. Son aire de répartition est limitée à Reguibet (Tindouf et Bechar) et au Sahara Occidental et à la Mauritanie (Ben aissa, 1989 ; Harek et al., 2017)

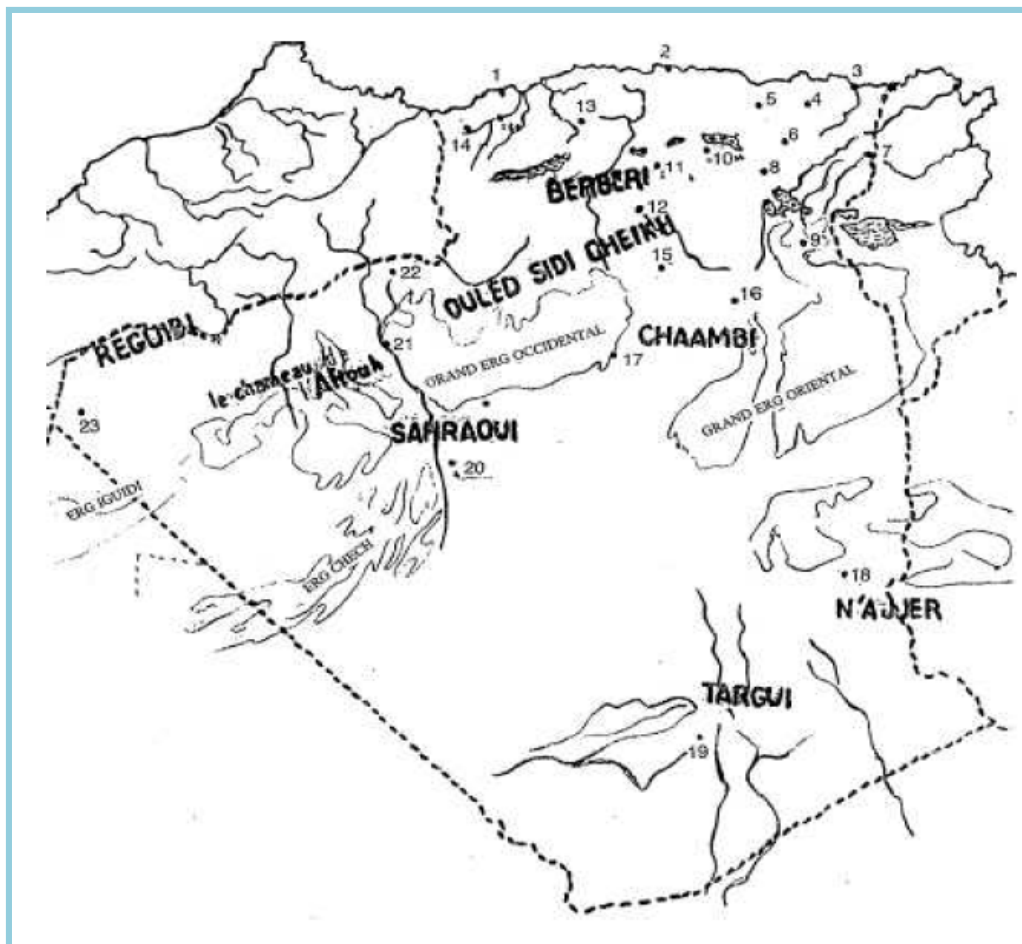


Figure 02 : Localisation des principales races de dromadaires en Algérie (Ben Aissa, 1989)

#### I.4.9. Reguibi

C'est un animal de scelle par excellence, grâce à sa taille moyenne, utilisé aussi pour la production de lait en raison de sa relation avec la population Ould Sidi Chikh; son aire de répartition est limitée au sahara septentrional (Bechar, Tindouf). (Harek et al., 2017 )

#### I.5. Production de lait par les dromadaires :

La population mondiale de dromadaires est estimée à 20 millions de têtes dont les femelles laitières représentent 18 % avec une production moyenne de 1500 litres par an, la production mondiale en lait de chamelles serait de l'ordre de 5.4 millions de tonnes dont 55 % environ est prélevée par les chamelons (Siboukeur,2007) les productions individuelles varient entre 1000 et 2700 litres par lactation en Afrique, mais peuvent atteindre 7 000 à 12 000 litres selon certaines sources en Asie du sud. La courbe de lactation est comparable à celle des bovins avec une persistance meilleure. La durée de la lactation est très variable (de huit à 18 mois en général), soit des durées plus importantes en moyenne que les vaches laitières dans les mêmes conditions. La productivité laitière des chamelles (250 kg/Unité Bétail Tropical/an) est supérieure à celle des petits ruminants (220 kg) et à celle des zébus (100 kg) (Rahli,2015)

Selon FAO 2014 la production du lait camelin en Algérie a connu une petite évolution au cours des dernières années (tableau 01)

**Tableau 01 :** Production du lait de chamelle dans le monde et en Algérie (en tonnes de lait) selon FAO 2014

Année	Production mondiale	Production en Algérie
2003	21557235	249975
2004	22363297	273200
2005	22317980	268600
2006	22481647	286670
2007	25399057	291360
2008	26327920	295085
2009	25853961	301120
2010	26331535	313990
2011	26768690	318755
2012	26980376	340140
2013	26989193	344015

## I.6. Lait de chamelle

Le lait de chamelle, comme celui des autres mammifères, est un milieu de composition chimique et physique complexe qui permet au jeune chamelon de couvrir ses besoins énergétiques et nutritionnels pendant la première étape de son existence (Sboui et al., 2009). Il est d'une grande importance pour l'organisme humain grâce à sa composition équilibrée en nutriments de base (protéines, glucides et lipides) et sa richesse en minéraux et vitamines (Ismail et al., 2016).

### I.6.1. Caractéristiques du lait de chamelle

#### I.6.1.1 Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques

Le lait de chamelle est généralement blanc opaque et d'un aspect moins visqueux que le lait de vache. Il a une saveur douce sucrée et forte avec un goût légèrement salé.

Selon Hamidi (2015) le lait de chamelle est moins riche en soluté, le taux de la matière sèche est de l'ordre de 118,1 g/l cette infériorité est due à la variabilité génétique entre espèces différentes.

Le pH du lait camelin se situe autour de 6,31 à 6,97, il est plus acide comparativement avec le lait de vache caractérisé par un pH qui peut dépasser 6,8. Cette caractéristique du pH est due à la teneur relativement élevée en vitamine C et en acides aminés solubles du lait de dromadaire qui serait à l'origine du pH bas (Saley, 1993). L'acidité est de l'ordre de 16,4 à 18°Dornic. Sa densité oscille entre 0,99 et 1,034 avec une viscosité moyenne de 2,2 (Siboukeur 2007 ; Sboui et al., 2009 ; Hamidi, 2015). La composition physico-chimique du lait de chamelle est variable selon l'alimentation des animaux, les conditions environnementales ainsi que la période de lactation (Ismail et al., 2016).

**Tableau 02 :** Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle

pH	Acidité dornic	Densité	Référence
6.51	17	1.030	Debouzet et al., 2014
6.31	18.2	1.0230	Siboukeur, 2007
6,8	16,4	1,0227	Rahli et al., 2015
6,41	17,2	1,020	Sboui et al., 2009
6,55	17,5	1,028	Boudjenah et al., 2012
6,51	17,2	1.0272	Hamidi et al., 2015
6.64	16	1.033	Shamsia, 2009
6.77	18	1.015	Khaskheli et al., 2005

6.38	14.45	1,0286	Abdelhadi et sidi , 2016
------	-------	--------	--------------------------

### I.6.1.2. Caractéristiques chimiques et biochimiques

Le lait de chamelle est l'un des composants de base de l'alimentation humaine dans différentes parties du monde, principalement dans les zones arides et semi-arides. Il contient également tous les nutriments essentiels présents dans le lait bovin (protéines, lipides, minéraux, lactose) (**Felfoul et al., 2016**). Sa composition a été étudiée dans différentes parties du monde .

Comme dans tous les laits, l'eau est l'élément le plus abondant. En effet, l'eau joue le rôle de solvant pour divers constituants solides du lait. D'après la littérature, le niveau d'eau de lait de chamelle varie entre 83 et 90 % avec une moyenne de 88,18 % (tableau3). La consommation d'eau par les chameaux s'est avérée être inversement liée aux solides totaux et la consommation d'eau et d'aliments pour animaux a la plus grande influence sur la teneur en eau du lait de chamelle. Pendant la période sèche, la production de lait de chamelle diminue et augmente pendant la période pluvieuse (**Brezovečki et al., 2015**). **Soliman (2005)** a signalé une teneur en eau de 87,05 % dans le lait de chamelle Egyptien par rapport au lait des autres espèces, y compris la vache, les humains, le buffle et la chèvre qui en contient 86,47% , 86,70% , 82,33% et 87,38 % respectivement.

Les protéines du lait de chamelle sont très diverses en termes de composition et de propriétés (biologiques, technologiques et fonctionnelles). Les protéines sont considérées comme le composant principal du lait, ce qui a un impact important sur sa valeur nutritionnelle et son adéquation technologique (**Gizachew et al.,2014**). Selon Les études, la teneur en protéines du lait de chamelle varie autour de 2,15 et 4,61% avec une moyenne de 3,03% (tableau 3); les protéines du lait sont divisées en deux groupes principaux: la caséine et la protéine de lactosérum. D'autres protéines mineures, mais ayant un rôle majeur, sont également présentes. Quantitativement, les caséines sont les protéines les plus abondantes dans le lait de chamelle et se situent dans la gamme de 52 et 87% des protéines totales, comme l'indiquent **Singh et al. (2017)**. Une grande variation quantitative a été observée par divers auteurs sur les protéines du lait de chamelle selon les régions (tableau 3) . Comparé à d'autres laits de vache, de chèvre, d'ânesse et d'homme, le lait de chamelle s'est avéré être le plus riche en protéines totales (3,41%) (**El-Hatmi et al., 2015**). Qualitativement, il existe des différences entre la caséine du lait de chamelle et le lait des autres ruminants. En ce sens, la



présence des trois fractions ( $\alpha$ S1-,  $\alpha$ S2-,  $\beta$ -caséines) a été notée ; cependant, contrairement au lait de vache, la  $\kappa$ -caséine est absente (**Si Ahmed et al.,2013**). Les protéines de lactosérum sont la deuxième classe importante de protéines du lait de chamelle qui constitue 20 à 25% des protéines totales du lait et représente 0,63 à 0,80% dans le lait. La distribution des protéines de lactosérum dans le lait de chamelle diffère de celle des autres laits. Dans ce contexte, **Si Ahmed et al. (2013)** sur leur étude réalisée sur les protéines de lactosérum du lait de dromadaire Algérien ont révélé la présence de  $\alpha$ -lactalbumine comme protéine majeure de lactosérum existant sous deux formes différentes, de poids moléculaire identique. La  $\beta$ -lactoglobuline était absente dans le lait de chamelle analysé, ce qui est, selon les mêmes auteurs, bénéfique pour l'alimentation des nourrissons afin de soulager certaines réactions allergiques, en particulier chez les enfants causées par cette protéine, de sorte que le lait de chamelle constitue une alternative intéressante au lait de vache car il ne contient pas de  $\beta$ -lactoglobuline, une protéine de lait typique caractéristique du lait de ruminant. Cependant, dans le lait de vache, la  $\beta$ -lactoglobuline représente jusqu'à 50% de la protéine totale de lactosérum, ce qui en fait la protéine principale, tandis que la  $\alpha$ -lactalbumine ne représente que 25% (**El-Hatmi et al.,2007 ;Kula ,2016** )

D'autres protéines de lactosérum se trouvent également dans le lait de chamelle comme l'albumine sérique bovine (68 kDa) et d'ovalbumine (45 kDa), à l'exception de la lactoferrine (72 kDa) **El-Hatmi et al.(2007)et Merzouk et al. (2013)** qui ont étudié la protéine de lactosérum dans le lait de chamelle et les colostrums tunisiens ont indiqué que le lait de chamelle contient de nombreuses « protéines protectrices », qui auraient des propriétés bactéricides, viricides et immunologiques. Les plus importantes de ces protéines sont la lactoferrine, également lactophorine, et la protéine de reconnaissance des peptidoglycanes (PGRP), en plus des immunoglobulines IgG2 et IgG3.

La matière grasse du lait est considérée comme une source d'énergie. Elle agit comme un solvant pour les vitamines liposolubles et fournit des acides gras essentiels (**Farah,2004**).

En général, la teneur moyenne en lipides du lait de chamelle est d'environ 3,27 % (tableau 3); ce contenu dépend du régime alimentaire du chameau, de la race, du stade de lactation et de la saison.

Le profil d'acides gras du lait de chamelle est généralement caractérisé par la présence d'acides gras saturés en grande quantité, en particulier les acides myristique et palmitique, les acides gras à longue chaîne, insaturés et impairs, et les acides gras à chaîne courte faible. Cela

a été démontré dans plusieurs études (Abu-Lehia,1989; Singh et al., 2017;Dowelmadina et al.,2018). Les acides palmitoléique, oléique et linoléique étaient les acides gras prédominants dans les échantillons de lait de chamelle analysés au Bangladesh, tandis que les acides stéarique, arachidique, béhénique et myristique étaient présents sous forme d'acides mineurs (Nahar et al., 2016).

Le lactose est la principale fraction glucidique du lait. Le taux de lactose du lait de chamelle oscille entre 2,93 et 5,12 % avec une moyenne de 4,26 % (tableau 3).La variation du taux de lactose dans le lait de chamelle est sujette à des variations saisonnières (hiver et été) (Ismaili et al., 2019) . Shuiep et al. (2008)ont expliqué cette variation par l'exercice quotidien des animaux pour obtenir l'alimentation quotidienne à côté de la mobilité continue. De plus, cette variation serait due au fait que les chameaux paissent habituellement sur la grande variation des plantes arides telles que les genres *Aristida* et *Atriplex*(Khaskheli et al., 2005).

En général, la teneur en lactose change légèrement entre les laits de chamelle de différentes régions du monde (tableau3) La teneur moyenne en lactose du lait de chamelle ( 49,8 g/L) était plus élevée que le lait de vache (42 g/L) et le lait de chèvre avec seulement 17 g/L de lactose (Bouhaddaoui et al., 2019). Dans l'étude comparative de Shamsia (2009) sur le lait de chamelle égyptien, la teneur en lactose (4,86) était inférieure à celle du lait maternel (6,45)..

**Tableau 03:**Composition chimique globale du lait de chamelle

Payé	Eau%	Proteine %	Matière grasse %	Lactose %	Taux de cendre %	Référence
Maroc	89.58	2.55	3.32	4.37	0.87	Alaoui Ismaili et al. (2019)
Egypt	88.6	2.61	3.75	4.59	0.70	Elhosseney et al. (2018)
Libye	88.6	2.64	2.31	5.12	0.92	Alwan and Zwaik (2014)
Tunisie	/	2.36	3.25	/	0.60	Hamed et al. (2017)
Tunisie	89.23	3.41	3.2	/	0.750	El-Hatmi et al. (2007)
Algérie	/	3.37	3.72	4.13	0.96	Hadef et al. (2018)
Algérie	90.66	2.63	3.0	/	0.746	Merzouk et al. (2013)
Tunisie	/	2.95	3.57	4.38	0.821	Jemmali et al. (2016)
Tunisie	88.06	3.42	3.75	4.28	0.75	Sboui et al. (2010)

Arabie saoudi	/	3.07	2.54	4.21	0.76	Musaad et al. (2013)
Jordanie	83.5	2.15	4.28	2.93	6.5	Aludatt et al. (2010)
Iran	88.75	4.61	2.72	3.05	0.86	Sanayeia et al. (2015)
Egypt	/	3.46	4.0	3.05	0.87	Shamsia (2009)
Egypt	87.05	3.27	4.2	4.31	0.75	Soliman (2005)
Algérie	/	2.81	2.98	4.31	0.756	Debouz et al. (2014)
Mauritanie	88.20	2.50	2.92	4.91	1.1	Meiloud et al. (2011)
Mauritanie	/	3.31	2.74	4.42	0.65	Abdelhadi et sidi (2016)

Le lait de chamelle, comme d'autres types de lait, contient des quantités variables de vitamines (C), (E), (D) et (A) et certaines vitamines (B) complexes, mais en revanche, il se distingue des autres types de lait parce qu'il contient des quantités excessives de vitamine C. Cette vitamine est connue pour prévenir le stress oxydatif et contribuer à la construction des tissus conjonctifs et au renforcement de l'immunité contre les maladies. Par conséquent, le lait de chamelle peut grandement contribuer à fournir aux habitants du désert leurs besoins en cette vitamine, que les populations rurales et urbaines avaient l'habitude d'obtenir à partir de légumes et de fruits (Alkoofee et Aljaber, 2018), et que la présence de vitamine C dans cette quantité relativement importante contribue également à prolonger la durée de conservation du lait et à augmenter sa résistance à la corruption perceptuelle résultant de l'oxydation à l'air des graisses.

En plus de cette vitamine, le lait de chamelle contient plus de vitamines d'acide pantothénique, d'acide folique, de cobalamine (B12) et de niacine (B3) par rapport à celui du lait de vache. En revanche, le lait de chamelle contient des quantités plus faibles de vitamines A et de riboflavine (B2) (Singh et al., 2017)

**Tableau 04:** Teneur en vitamine en 100 ml du lait de chamelle (Haddadin et al., 2008)

Vitamine	Teneur
Vitamine A (µg)	26.7
Vitamine D (µg)	0.3
Thiamine(mg)	0.048
Riboflavine (mg)	0.168
Niacine(mg)	0.77
Acide Pantothénique (mg)	0.368
Vitamine B6 (mg)	0.55

Acide folique (µg)	87
Biotine (µg)	--
Vitamine B12 (µg)	85
Vitamine C (mg)	33

Selon les études , les minéraux en tant que teneur totale en cendres du lait de chamelle variaient entre 0,60 et 1,30 % avec une moyenne de 0,80 % (tableau 3).qui parait comparable à celle du lait bovin cité par **Alais (1984)** cette teneur diminue en cas de privation d'eau (**Yagil, 1985**), elle varie également en fonction du stade de lactation.

Les sels minéraux présents dans le lait de chamelle sont aussi diversifiés que ceux rencontrés dans le lait de vache. On y dénombre en effet des macro et des oligo-éléments qui se trouvent sous forme de sels (phosphates, chlorures et citrates) ou de métaux divers (sodium, potassium, magnésium, calcium, fer, cuivre, zinc...etc.).

Au niveau quantitatif, si la composition en macro-éléments (Na, K, Ca, Mg...) est relativement similaire à celle du lait bovin, le lait camelin se caractérise néanmoins par des taux plus élevés en oligo-éléments( tableau 5).

Les variations de la teneur en minéraux ont été attribuées à la race, l'alimentation, les procédures analytiques (**Al Haj et Al Kanhal, 2010**), l'apport en eau (**Haddadin et al., 2008 ; al haj et al kanhal, 2010**), l'état sanitaire de l'animal et le stade de la lactation (**Farah, 2004**). Le lait de chamelle est une source riche en chlorure (**Khaskeli et al., 2005**) en raison des fourrages consommés par les dromadaires, comme Atriplex et Acacia, qui contiennent généralement une forte teneur en sel (**Yagil, 1982**).

**Tableau 05 :** Teneur en minéraux ( macro-éléments) dans lait de chamelle en( mg / 100 g ) .

Référence	Ca	P	Na	K	Cl	Mg
<b>Shamsia (2009)</b>	109	76	58	179	132.0	14.0
<b>Ghada (2005)</b>	111.4	81.2	57.8	156.3	--	6.7
<b>Haddadin et al. (2008)</b>	137	83	57.5	108.5	--	--
<b>Boudjenah et al.(2012)</b>	122.9	--	89.3	156 .1	169.	10.7
<b>Attiaet al. (2000)</b>	123	102	66	172	--	9
<b>Ould Moustapha(2016)</b>	107	--	67,7	99,8	--	9,7

Tableau 06 : Teneur en oligo-éléments dans le lait de chamelle

Référence	Fe	Zn	Cu	Mn	Unité
Yagil et Etzion, (1980)	2,6	4,4	1,6	0,2	mg/l
Sawayaet al.(1984)	2,64	4,47	1,63	0,2	
Boudjenah et al.(2012)	2,39	3,53	0,49	--	
Ghada (2005)	0.23	0.51	0.061	0.013	mg/100g

### I.6.1.3 Caractéristiques microbiologiques du lait camelin

Le lait, en général, et le lait de chamelle en particulier, sont des milieux nutritifs permissifs pour la croissance de nombreuses espèces bactériennes.

Les communautés bactériennes présentes dans les laits crus de chamelle sont généralement dominées par les bactéries lactiques (Benkerroum et al., 2003 ; Khedid et al., 2009; Berhe et al., 2019) ou dans certains travaux les coques lactiques représentaient les principales fractions d'espèces récupérés par rapport aux lactobacilles (Dalmasso et al; 2008; Ashmaiget al., 2009; Khedid et al., 2009; Rahman et al., 2010 ; Kadri et al., 2021 ) par contre des études ont reporté la dominance des lactobacilles dans le lait de chamelle (Wang et al., 2008; Hao et al., 2010; Sun et al., 2010) . Sur la base de méthodes phénotypiques et génotypiques par identification moléculaire basée sur l'analyse de la séquence partielle du gène ARNr 16S, les bactéries lactiques isolées ont été inclus des espèces qui appartiennent aux genres *Lactococcus* , *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus* , *Streptococcus* et *Lactobacillus*.

*Lactococcus*, ce groupe est représenté notamment par l'espèce *L. lactis* cette espèce est importante dans la technologie alimentaire et de nombreuses productions de bactériocine (Song et al., 2017). Aussi les souches de *Leuconostoc*, en particulier *Leuconostoc mesenteroides* qui ont été bien isolées en petit nombre dans plusieurs études (Edalati et al., 2019 ; Ismaili et al., 2019 ; Kadri et al., 2021) sont fréquemment utilisés comme cultures de démarrage pour la production de beurre, de crème et de fromage (Leroyet De Vuyst, 2004), encore plusieurs études ont confirmé la présence du genre *Pediococcus* dans le lait de chamelle en faible pourcentage (Khedid et al., 2009 ; Davati et al., 2015 ) et qui est représenté par les espèces *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus* (Nagyzbekkyzy et al., 2020) . Les pédiocoques sont largement décrites comme des

probiotiques. De nombreuses souches de *Pediococcus* sont capables de produire des bactériocines anti-listéria (pédiocines) (Porto et al., 2017).

Le genre *Enterococcus* comprend des micro-organismes pathogènes et commensaux. Certaines espèces de ce genre ont été isolées du lait de chamelle sont impliquées dans la fermentation de fromage et de saucisses sèches de fabrication traditionnelle contribuant au développement des caractéristiques organoleptiques de ces produits tels que *Enterococcus faecium* et *Enterococcus italicus*, ils produisent une variété de produits tels que les composés aromatiques (Centeno et al., 1999), les enzymes (Ghraiiri et al., 2008) et les bactériocines (entérocoques) (Achemchem et al., 2005; Fortina et al., 2008; Merlich et al., 2019). Ils contribuent à la texture, saveur, arôme et sécurité de différents aliments (Andrighetto et al., 2001; Giraffa, 2002; Merlich et al., 2019).

D'autres rapports antérieurs confirment le petit nombre de *Streptococcus* dans le lait de chamelle, deux espèces ont été identifiées comme *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasuis* qui ont été isolées du lait camelin marocain cru (Khedid et al., 2009 ; Kadri et al., 2021).

Selon Nagybekkyzy et al. (2020) des espèces appartenant au genre *Lactobacillus* isolée à partir du lait de chamelle ont été identifiées comme : *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curieae*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus oryzae*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus brevis*.

*Lactobacillus* est un groupe thermophile de bactéries lactiques utilisé comme cultures de démarrage, dans les fermentations lactières et comme bactéries probiotiques qui ont un impact positif sur la santé de l'hôte (Thunell et Sandine, 2018).

D'autres bactéries causant la détérioration ou des maladies chez les animaux ou les humains ont été aussi isolées à partir du lait de chamelle et identifiées dans plusieurs études.

Des études approfondies sur la qualité microbienne des échantillons de lait de chamelle cru ont signalé que les entérobactéries représentaient une fraction importante des isolats des échantillons de lait cru camelin examinés (Abera et al., 2016; Berhe et al., 2019) et comme les entérocoques sont considérés comme des indicateurs de mauvaises méthodes sanitaires de transformation des aliments. La croissance et l'activité métabolique des entérobactéries dans

le lait et les produits laitiers peuvent entraîner des arômes indésirables, des odeurs, des défauts de couleur et autres écarts organoleptiques (**Baylis et al., 2011; Ntuli et al., 2016**)

Les staphylocoques et les *Pseudomonas* ont été isolés en petit nombre à partir du lait camelin (**Benkerroum et al., 2003; Khedid et al., 2009 ; Jans et al., 2012**). Les staphylocoques peuvent être transférés au lait par le canal de la tétine, l'équipement, l'environnement ou la manipulation humaine (**Rosengren et al., 2010**) et peuvent provoquer une grande variété de maladies chez les humains et les animaux par la production ou la pénétration de toxines . De plus, *Staphylococcus* est l'un des principaux genres contribuant au développement de la mammite chez les animaux d'élevage et les humains (**Quigley et al., 2013**). De plus, les toxines staphylococciques sont une cause fréquente d'intoxication alimentaire (**Stoneham et al., 2021**).

Les genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter* ont été signalées dans lait de chamelle (**Zahran et AlSaleh, 1997**) et sont considérés comme les genres les plus importants dans le milieu laitier (**Ercolini et al., 2009; Quigley et al., 2013**). Surtout le premier est une cause fréquente de détérioration du lait de vache où le stockage réfrigéré du lait peut favoriser la croissance des bactéries psychrotolérantes. Le genre *Acinetobacter* représente une menace en raison de sa capacité à rester viable pendant la dessiccation à long terme jusqu'à deux ans de stockage dans les préparations pour nourrissons et à être récupéré après reconstitution. En termes de résistance aux antibiotiques, *Acinetobacter spp.* sont particulièrement préoccupants, car ils acquièrent une résistance à une large gamme d'antibiotiques (**Kadri et al., 2021**).

**Amrouche et al .(2020)** ont signalé la présence d' un très faible niveau de moisissures dans le lait de chamelle, y compris *Fusarium spp.*, *Penicillium. brevicompactum* *C. cladosporioides*. La contamination du lait par ces espèces, probablement sous forme de spores fongiques, peut être due à la présence du champignon dans les aliments pour chameaux contenant des céréales et du foin. Plusieurs espèces de *Fusarium*, dont *F. fujikuroi*, *F. graminearum* et *F. asiaticum*, sont des champignons mycotoxinogènes ; ils ont été impliqués dans des maladies de plusieurs cultures agricoles telles que les céréales à petits grains et le maïs dans le monde entier.

# Chapitre II



### II.1. Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont un terme général désignant une classe de bactéries qui utilisent le métabolisme des glucides dans l'environnement externe pour produire de l'acide lactique. Les bactéries lactiques sont largement répandues dans la nature et existent dans une variété d'habitats. Extrêmement riches en biodiversité, ils sont étroitement liés à la production et à la vie humaine et ont une valeur sociale et économique importante. ( **Zhang et Cai , 2014** )

### II.2. Définition et caractéristiques

Ce sont un type de bacille et de cocci qui sont Gram positif, immobiles ne forment pas de spore, anaérobies facultatives. Sauf pour quelques espèces, ( **Zhang et Cai, 2014** ), généralement immobiles dépourvues de catalase et de cytochrome oxydase .Ce sont des bactéries dépourvues de nitrate réductase, exigeantes en facteurs de croissances ( **Hammes et Vogel, 1995** )

Les bactéries lactiques colonisent de nombreux produits alimentaires tels que les produits laitiers, la viande, les végétaux, et les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale ( **Dortu et Thonar, 2009** ).

La plupart des bactéries lactiques sont mésophiles ; certaines d'autre sont psychrotolérantes ou thermotolérantes. La majorité des bactéries lactiques se développent à des pH compris entre 4 et 6,5 et certaines sont encore actives à pH 9,6 ou à pH 3,2. Elles présentent des tolérances très différentes vis-à-vis du sel. Du point de vue nutritionnel, ces micro-organismes utilisent les sucres comme source d'énergie ( **Hammes et Hertel, 1998** ). Ont surtout des besoins complexes en facteurs de croissance tels que la vitamine B, des acides aminés, des bases azotées, des peptides ( **Benyoucef, 2018** ) . Il est donc difficile d'obtenir de bons milieux sélectifs car les milieux de croissance ont besoin d'être « riches ». L'abaissement du pH sera généralement utilisé comme moyen de sélection. ( **Leonard, 2013** )

Essentiellement, le métabolisme des glucides fait par les bactéries lactiques peut être classé comme homolactique ou hétérolactique. Les bactéries homolactiques utilisent la voie d'Embden-Meyerhof pour produire à partir du glucose deux molécules d'acide lactique. Les souches hétérolactique, en utilisant la voie de 6- phosphogluconate, fermentent les hexoses pour former l'acide lactique, le dioxyde d'oxygène et l'éthanol (ou l'acide l'acétique) comme produits finaux ( **Ström, 2005** ). La différence entre ces deux groupes est détectable par dégagement de CO<sub>2</sub>. Certaines bactéries lactiques homofermentaires, sous certaines

conditions, c'est-à-dire dans les milieux pauvres en hexoses, peuvent fermenter les pentoses pour produire de l'acide lactique et de l'acide acétique comme produits finaux. Ces bactéries sont qualifiées d'hétérofermentaires facultatives (Axelsson, 2004).

### II.3. Classification

La première classification des bactéries lactiques basée sur les propriétés observables à savoir les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen. (Khodja, 2018)

Ces tests sont :

- Le type de paroi, la morphologie et la disposition cellulaire.
- Les différents métabolismes glucidiques, protéiques, lipidiques, le caractère fermentaire.
- La croissance des cellules sur des milieux hostiles et la synthèse d'enzymes (de protéases), de métabolites (exopolysaccharides), de bactériocines, et la résistance aux bactériophages.

Puis, des études basées sur les critères moléculaires ont permis de classer les espèces selon les critères suivants :

- La détermination de la composition des peptidoglycanes (PTG) permet d'observer le type d'espèce selon la nature de la liaison peptidique.
- la composition de l'ADN mesurée par hybridation permet de différencier les genres et les espèces entre eux.
- la comparaison des séquences codant pour les ARN 16 S ribosomiaux

Le pourcentage en bases Guanine+Cytosine (G-C %) permet le rapprochement des genres *Streptococcus* (34-46%), *Leuconostoc* (36-43%) et *Pediococcus* (34-42 %) (Schleifer et al., 1985; Schleifer et Kilpper-Bälz, 1987 ; Farrow et al., 1989). Le pourcentage de G-C des espèces du genre *Lactobacillus* est très hétérogène et varie d'une espèce à une autre de 32 à 53 % (Tableau. ) (Kandler et Weiss, 1986)

**Tableau 07 :** Différents genres de bactéries lactiques

Genres	Cellules		Fermentation	ADN G-C (%)	Références
	Forme	Arrangements			
<i>Streptococcus</i>	Coques	Chaînes	Homolactique	34 - 46	Schleifer (1987)
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Chaînes	Hétérolactique	36 - 43	Farrow et al.(1989)
<i>Pediococcus</i>	Coques	Tétrade	Homolactiques	34 - 42	Schleifer (1985)
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Chaînes	Homolactique et Hétérolactique	32 – 53	Kandler et Weiss (1986)

Appartenant au phylum *Firmicutes* et à la classe des *Bacilli*, les bactéries lactiques sont divisées en six grandes familles :

- *Lactobacillaceae* : regroupe les *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Pediococcus*.
- *Aerococcaceae* qui comprend les genres *Abiotrophia*, *Aerococcus*, *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella* et *Ignavigranum*.
- *Carnobacteriaceae* qui comprend les genres *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Atopostipes*, *Carnobacterium*, *Desemzia*, *Dolosigranulum*, *Granlucateella*, *Isobaculum*, *Lacticigenium*, *Marinilactibacillus*, *Pisciglobus* et *Trichococcus*
- *Enterococcaceae* qui comprend les genres *Bavariicoccus*, *Catelicoccus*, *Enterococcus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*.
- *Leuconostocaceae* comprend les *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weisella*.
- *Streptococcaceae* contient les *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Lactovum* (**Fessard, 2017**)

## II.4. Différents genres de bactéries lactiques

### II.4.1. Genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles sont des bâtonnets ou des coccobacilles à Gram positif, non sporulés avec une teneur en G + C de l'ADN généralement inférieure à 50 mol%. Ils sont strictement fermentatif, aéroto tolérant ou anaérobie, acidurique ou acidophile et ont des besoins nutritionnels complexes, Avec le glucose comme source de carbone, les lactobacilles peuvent être soit homofermentaire, produisant plus de 85% d'acide lactique, ou hétérofermentaire produisant de l'acide lactique, du CO<sub>2</sub>, de l'éthanol

Les colonies des lactobacilles sont généralement de petites tailles, lisses, brillantes non pigmentées et souvent opaques. (**Sánchez et al .,2019**)

Le milieu de culture et d'isolement de base le plus connu est le milieu Man Rogosa et Sharpe (MRS) (**De Man, 1960**)

Elles sont anaérobies facultatifs, mais poussent mieux sous atmosphère enrichie de 5 à 10% de CO<sub>2</sub>, leur pH optimum de croissance est de 5,5 mais ils poussent aussi à pH neutre. Leur température optimale de croissance est généralement de 37°C pour la plupart des espèces.

Les lactobacilles se trouvent là où des substrats riches en glucides sont disponibles, et donc, dans une variété d'habitats, tels que les muqueuses de l'homme et de l'animal (cavité buccale, intestin et vagin), sur les végétaux ou matériels d'origine végétale, dans le fumier et les habitats artificiels tels que comme eaux usées et fermentation ou détérioration des aliments. (Hammes et Vogel, 1995)

#### II.4.2. Genre *Streptococcus*

Le genre *Streptococcus* est constitué de bactéries de forme sphériques ou ovoïdes qui sont généralement disposés en chaînes ou en paires. Ces cocci sont anaérobies facultatives, ne forment pas de spore, catalase-négative, homofermentaires, et ont des besoins nutritionnels complexes. Les cellules individuelles ont généralement un diamètre de 0,8 à 1,2  $\mu\text{m}$  et les longueurs des chaînes varient de quelques cellules à plus de 50, selon la souche et les conditions de croissance. La croissance des *Streptococcus* sur milieu solide nécessite généralement un enrichissement en sang, en sérum ou en glucose. Les colonies de la plupart des espèces dépassent rarement 1 mm de diamètre après 24 h d'incubation à 37 °C sur la gélose sanguine et sont généralement non pigmentées, apparaissant souvent légèrement translucides. La croissance dans les milieux liquides est favorisée par l'ajout de glucose ou d'autres glucides fermentescibles, mais à moins que le milieu ne soit bien tamponné, la baisse du pH deviendra bientôt inhibitrice. Les streptocoques fermentent le glucose et d'autres glucides, produisant du L-lactate comme produit final principal lors de leur croissance rapide dans des conditions d'excès de glucides. Dans des conditions de glucose limité et à de faibles taux de dilution en culture continue, d'autres produits finaux sont détectés, tels que le formiate, l'acétate et l'éthanol, à la suite d'un passage à différentes voies métaboliques. (Hardie et Whiley, 1995)

#### II.4.3. Genre *Pediococcus*

Les pédiocoques sont les seules bactéries lactiques qui se divisent alternativement dans deux directions perpendiculaires pour former des tétrades. Elles produisent de l'acide lactique, mais pas de gaz, à partir du glucose; Dans une seule culture, les cellules des pédiocoques sont sphériques et de taille uniforme, de 0,36 à 1,43  $\mu\text{m}$  de diamètre. Elles ne sont jamais allongées. Les pédiocoques sont immobiles, ne forment pas de spores et ne sont pas capsulés. Lorsqu'elles sont cultivées sur un milieu riche, tel que la gélose de Man, Rogosa, Sharpe (MRS), les colonies ont généralement un diamètre de 1 à 3 mm, généralement à bords lisses et invariablement non pigmentées. (Simpson et Taguchi, 1995)

Dans des conditions anaérobies, les pédiocoques fermentent le glucose pour donner du l'acide lactique (D) ou (L+). Une large gamme de glucides peut être utilisée par diverses espèces, allant des pentoses tels que l'arabinose, le ribose et le xylose; hexoses, comme le fructose et le mannose; disaccharides, tels que le maltose; trisaccharides, tels que le maltotriose; et les polymères, tels que l'amidon. Les pédiocoques poussent mieux dans les milieux riches. La plupart des souches ont besoin d'une gamme d'acides aminés, y compris l'alanine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'arginine, l'histidine, l'isoleucine, la phénylalanine, la proline, la thréonine, la tyrosine, la valine, le tryptophane, la cystine, la glycine et la leucine. Certaines souches ont besoin de lysine, de méthionine et de sérine (**Simpson et Taguchi, 1995**).

#### II.4.4. Genre *Lactococcus*

Les lactocoques sont des bactéries anaérobies coccoïdes à Gram positif se regroupent en paire ou en chaîne qui produisent l'acide L(+) lactique du lactose dans le lait cru fermenté spontanément qui est laissé à des températures ambiantes autour de 20-30°C pendant 10-20 h. Elles ont un optimum de croissance voisin de 30°C et ne poussent pas à pH 9,6 ou en présence de 6,5 % de NaCl. Excepté l'espèce *Lactococcus garvieae*, elles ne sont pas hémolytiques) (**Teuber, 2006**).

Les lactocoques peuvent se trouver dans les aliments comme les produits laitiers, elles sont utilisées dans l'industrie agroalimentaire, les espèces les plus importantes sont : *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* (**Stiles et Holzappel, 1997**).

#### II.4.5. Genre *Leuconostoc*

Le genre *Leuconostoc* est phénotypiquement apparenté aux *Lactobacillus* et aux Pédiocoques et partagent de nombreuses caractéristiques avec les lactobacilles hétérofermentaires

Les *Leuconostoc* ont des besoins nutritionnels complexes et se trouvent dans les plantes, les produits laitiers, la viande et divers produits alimentaires fermentés (**Dellaglio et al., 1995**)

Les cellules sont Gram-positives, non sporulées et immobiles. La morphologie cellulaire varie selon les conditions de croissance (**Garvie, 1986**). Les cellules cultivées en milieu glucose sont allongées et apparaissent morphologiquement plus proches des lactobacilles que des streptocoques. La plupart des souches forment des cellules coccoïdes lorsqu'elles sont cultivées dans du lait. Les cellules peuvent être isolées ou par paires et former des cellules de

longueur courte à moyenne chaînes. Lorsqu'elles sont cultivées sur un milieu solide, les cellules sont allongées et peuvent être confondues avec des bacilles

Les *Leuconostoc* spp. sont des anaérobies facultatifs (**Garvie, 1986**). Toutes les espèces nécessitent un milieu riche avec des facteurs de croissance complexes et des acides aminés

La croissance optimale de ces espèces non acidophiles se situe entre 6 et 7 pH, selon le milieu

La croissance dépend de la fermentation d'un glucide fermentescible (**Dellaglio et al., 1995**)

Les *Leuconostoc* spp. sont hétérofermentaires. Dans des conditions microaérophiles, le glucose est converti en quantités équimolaires de D lactate, d'éthanol et de CO<sub>2</sub> via une combinaison de l'hexose monophosphate (gluconate de 6-phosphate) et voies du phosphate de pentose

#### II.4.6. Genre *Enterococcus*

Certaines caractéristiques du genre telles que décrites par Schleifer et Kilpper-Bälz en 1984 et 1987 sont valables pour toutes les espèces entérocoquiques décrites depuis.

Les *Enterococcus* sont ovoïdes, à Gram positif, se regroupent seules, par paires ou en chaîne.

Ce sont des chimio-organotrophes. Les entérocoques ont une fermentation lactique

homofermentée, le produit de la fermentation du glucose est l'acide L(+)-lactique. Leur

Croissance en 6,5% NaCl est souvent négative. La croissance se produit sur une large gamme de températures pour la plupart des espèces. La capacité de croître à 10°C ainsi qu'à 45°C a été utilisée dans la différenciation du genre, Habituellement 35-37°C est préféré comme température d'incubation. (**Devriese et Pot, 1995**)

En raison de leurs besoins complexes en nutriments, les entérocoques ne peuvent pas être cultivés et étudiés dans des milieux définis. Ils nécessitent plusieurs vitamines, biotine, riboflavine, nicotinate et panthothénate et un besoin absolu de plusieurs acides. (**Devriese et al., 2006**)

#### II.5. Bactéries lactique et sécurité des aliments

Les bactéries lactiques présentent souvent une inhibition vis-à-vis d'autres microbes, ce qui est à la base de leur capacité à continuer à améliorer la sécurité et la qualité de nombreux produits alimentaires. Elles produisent de la bactériocine, désignée comme protéine naturelle ou de qualité alimentaire est largement acceptable pour la conservation des aliments (**Messaoudi et al., 2013**). Les bactéries lactiques en tant que culture protectrice ou microbes de fermentation ont déjà été utilisées dans la production des aliments comme l'une des méthodes efficaces pour prolonger la durée de conservation par simple fermentation. *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Carynebacterium*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus*

sont les genres les plus couramment utilisés comme cultures starter dans les processus de fermentation de la viande, du lait et des produits végétaux (**Sobrin-Lopez et Martin-Belloso, 2008 ; Akbar et Anal, 2014**). L'un des rôles importants des bactéries lactiques est d'inhiber la flore naturelle, y compris les bactéries et agents pathogènes de détérioration (**Akbar et Anal, 2014**). Il existe un groupe de composés bioactifs produits par les bactéries lactiques responsables de son activité antimicrobienne contre d'autres bactéries (**Schillinger et Lucke, 1989 ; Kumaree et al., 2015**). La capacité des bactéries lactiques à produire des antimicrobiens a été utilisée pour conserver différents aliments historiquement. La conservation du lait et des produits laitiers, de la viande et des produits carnés tels que la saucisse par fermentation en sont les meilleurs exemples, l'histoire de la production laitière remonte à environ 6000 av. Le processus de fermentation réduit les glucides disponibles et produit également certains composés organiques qui stimulent l'activité antimicrobienne (**Ross et al., 2002**), les plus courants étant les acides propioniques et l'acide lactique. De plus, la production de ces métabolites primaires inhibiteurs et de nombreux autres composés antimicrobiens peut être produite par différentes bactéries lactiques. La modification de l'environnement, par exemple l'acidification ou la production de toxines contre des concurrents, sont des moyens connus des bactéries lactiques pour inhiber les bactéries concurrentes (**Ross et al., 2002 ; Akbar et Anal 2014**). L'acide lactique est produit par la fermentation d'hexoses par homo-fermentation ou des quantités équimolaires d'acide lactique, d'acide acétique/éthanol et de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) produits par le processus d'hétéro-fermentation (**Ross et al., 2002**). Il a été observé que les acides faibles ont une activité antimicrobienne élevée à pH acide qu'à pH neutre. L'acide acétique est un inhibiteur plus puissant que l'acide lactique et donne une gamme d'activité inhibitrice contre les microbes tels que les bactéries, les moisissures et les levures, tandis que l'acide propionique a une activité antimicrobienne élevée envers les moisissures et les levures (**Malti et Amarouch, 2008; Eklund, 1983**). Dans un mélange d'acides produits par les bactéries lactiques, on prévoit que l'acide lactique contribue à réduire l'acidité, tandis que les acides restants tels que l'acide acétique et l'acide propionique agissent comme des agents antimicrobiens en interférant avec son potentiel de maintien de la membrane cellulaire (**Ross et al., 2002**).

## II.6. Bactéries lactiques et l'inhibition fongique

La plupart des données relatives à l'activité biopréservative des bactéries lactiques sont concentrés sur leurs effets antibactériens. La détérioration des aliments par les moisissures et l'apparition de leurs mycotoxines constituent un danger potentiel pour la santé.



Le développement de la lutte biologique devrait contribuer à améliorer la sécurité des produits en contrôlant la contamination par les mycotoxines. Les données ont en effet montré que un bon nombre de bactérie lactique peut inhiber la croissance des moisissures et que certains d'entre eux ont le potentiel d'interagir avec les mycotoxines.

L'effet antifongique des bactéries lactiques sur certaines moisissures toxigènes a été également rapporté par quelques auteurs (Lowe et Arendt, 2004 ; Saladino et al., 2016 ; Ghazvini, 2016 ; Juodeikiene et al., 2018)

Le genre *Lactobacillus* est le plus retrouvé parmi les bactéries lactiques à caractère antifongique , suivi des genres *Lactococcus* et *Leuconostoc* ainsi que des genres *Pediococcus*, *Enterococcus*, et *Weissella*, les genres *Streptococcus* et *Carnobacterium* sont les moins retrouvés tableau ( Laref et al .,2013)

**Tableau 08 : Bactéries lactiques isolées dotées d'un effet antifongique (Dalié et al ., 2010)**

Genre	Bactérie lactique	Spectre d'activité
<b>Lactococcus</b>	<i>L.lactis</i> C10 <i>L.lactis</i> <i>L.lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> DRCI <i>L.lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CHD 28.3 <i>L.lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Aspergillus parasiticus</i> <i>A.flavus</i> <i>A.parasiticus</i> <i>A.fumigatus</i> , <i>A.parasiticus</i> <i>A.flavus</i> , <i>A.parasiticus</i> , <i>Fusarium spp</i> <i>Penicillium expansum</i>
<b>Lactobacillus</b>	<i>L.acidophilus</i> R <i>L.casei</i> subsp. <i>Rhamnosus</i> <i>L.casei</i> subsp. <i>Rhamnosus</i> LC.705 <i>L.casei</i> subsp. <i>pseudoplantarum</i> <i>L.casei</i> <i>L.casei</i> <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>coryniformis</i> 5i3	<i>A.fumigatus</i> , <i>Penicillium spp.</i> <i>Aspergillus spp</i> <i>A.niger</i> , <i>Fusarium spp</i> , <i>Penicillium spp.</i> <i>A.flavus</i> , <i>Penicillium</i> <i>P.expansum</i> Large spectre
	<i>L. Deibrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i> <i>L.plantarum</i> <i>L.plantarum</i> VIT E-78076	<i>P.expansum</i> <i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus spp</i> , <i>F.avenaceum</i> <i>P.corylophilum</i> ,
	<i>L.plantarum</i>	<i>P.roqueforti</i> <i>P.expansum</i> <i>A.niger</i> , <i>A.flavus</i> , <i>F.gramineacum</i> <i>F.sporotrichioides</i> ,
	<i>L.plantarum</i> MiLAB 393	<i>A.fumigatus</i> , <i>A.nidulans</i>
	<i>L.plantarum</i> MiLAB 14 <i>L.plantarum</i> <i>L.reuteri</i> 1100 <i>L.rhamnosus</i> <i>L.sanfranciscensis</i> CBI	<i>P.roqueforti</i> , <i>P.commune</i> <i>A.nidulans</i> , <i>A.fumigatus</i> <i>A.flavus</i> , <i>F.gramineacum</i> <i>F.gramineacum</i> <i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus spp</i> <i>Fusarium spp</i> <i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus spp</i> <i>Fusarium spp</i>
<b>Genre Leuconostoc</b>	<i>L.mesenteroides</i>	<i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus spp</i>
<b>Genre Pediococcus</b>	<i>P.acidilactici</i> LAB 5	<i>A.fumigatus</i> <i>A.parasiticus</i> <i>F.oxysporum</i> <i>Penicillium spp.</i> ,
	<i>P.pentosaceus</i>	<i>P.expansum</i>



les *Lactobacillus* démontrant une activité antifongique ont été isolés de plusieurs produits tels que les végétaux prêts à l'emploi (les tomates et les carottes), l'ensilage, le lait cru, les saucissons, le levain et les céréales (Magnusson et Schnurer, 2001 ; Sathe et al., 2007 ; Hassan et Bullerman, 2008 ; Ryan et al., 2011 ; Delavenne et al., 2012). Les souches à caractère antifongique proviennent de lait de vache sont 49% et de chèvre sont 43% alors que seulement 8% ont été isolés à partir de lait de brebis et 94% des souches appartenant au genre *Lactobacillus*. Le lait de vache et de chèvre est un réservoir des *Lactobacillus* à caractère antifongique en été et automne. *Lactobacillus plantarum* principalement retrouvé au printemps (Delavenne et al., 2012).

## II.7. Facteurs qui influencent l'activité antifongique des bactéries lactiques

L'utilisation pertinente des bactéries lactiques à activité antifongique nécessite une connaissance approfondie des paramètres qui modulent leurs propriétés antifongiques, de nombreux paramètres ont été pris en compte, y compris la température, le temps d'incubation, le milieu de croissance, le pH et les facteurs nutritionnels (Rouse et al., 2008 ; Dalié et al., 2010)

### II.7.1. Température et période d'incubation

La température et la période d'incubation sont des facteurs essentiels qui modulent la croissance des bactéries lactiques et affectent de manière significative les quantités des métabolites antifongiques produits. (Batish et al., 1997)

Reddy et Ranganathan (1985) ont signalé que la plus grande production de métabolites antifongiques par *Lactococcus. Lactis subsp diacetylactis* a eu lieu après trois à quatre jours d'incubation, le rendement maximal de composés antimicrobiens produits par *Lactococcus. Lactis subsp diacetylactis* S1-67-C a été enregistrée à 25 °C

Des études menées par Sathe et al. (2007) ont démontré que l'activité antifongique de *Lactobacillus. plantarum* CUK501 était maximale à 30 °C, lorsque la culture était à la fin de sa phase logarithmique.

Sur 48 heures d'incubation, une diminution de l'activité antifongique a été observée lorsque la culture est entrée dans la phase stationnaire. Ces résultats concordaient avec ceux obtenus précédemment par Batish et al. (1990), qui ont observé que l'activité antifongique d'une souche de *Lactobacillus. acidophilus* était maximale à 30 °C après 48 h d'incubation, tandis que l'augmentation de la période d'incubation entraînait une activité antifongique plus faible.

Cette diminution a été imputée à une métabolisation des composés actifs ou à leur dégradation enzymatique.

### I.7.2. Effet des milieux de culture

Peu de travaux portent sur l'impact du milieu de croissance sur la production de métabolites antifongiques par les bactéries lactiques. Le bouillon Elliker a été montré pour être le meilleur milieu pour la production de composés antifongiques par *Lactococcus lactis* CHD 28,3 contre *A.flavus* IARI par rapport aux milieux M17 et MRS (Roy et al., 1996), ces résultats concordaient avec ceux obtenus précédemment par Batish et al. (1989), qui ont démontré que *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar* produisait les plus grandes quantités de métabolites antifongiques dans le bouillon d'Elliker. Dans d'autres milieux tels que le bouillon MRS, le bouillon nutritif, l'extrait de levure, le bouillon de dextrose et le milieu modifié de Charmer, la production de métabolites antifongiques était négligeable. De plus, dans les milieux de culture du lait, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis* a produit une petite quantité de composé antifongique contre *A. fumigatus*, qui n'a pas pu être détectée par le test de diffusion du puits d'agar (Batish et al., 1989).

### I.7.3. Effet des facteurs nutritionnels

Effat et al.(2001) ont étudié l'influence des facteurs nutritionnels sur la production de métabolites antifongiques par *Lactobacillus rhamnosus* et *Pediococcus acidilactici*, ils ont indiqué que l'extrait de levure et le glucose, ainsi que le NaCl et le CaCl<sub>2</sub> modulent la production de substances antifongiques, certains composés tels que le xylose, peptone de caséine et la protéase - peptone ont été rapportés pour retarder la production de substances antifongiques par *Lactococcus lactis subsp diacetylactis* (reddy et Ranganathan, 1983)

### I.7.4. Effet du pH

Les conditions de pH fortement modulent la production de métabolites antifongiques par les bactéries lactiques ( Sathe et al., 2007) .La souche *Lactococcus lactis subsp diacetylactis* était capable de produire des quantités importantes de substance antifongique dans une gamme étroite de pH (5,5-7), bien que la production maximale produite à pH 6,8 (Batish et al., 2007), des données similaires ont été obtenues par Corsetti et al .(1998) qui ont fait état d'une production optimale de substances inhibitrices par *Lactobacillus sanfrancisco* CB1 à pH 6.

L'effet du pH est lié à de nombreux facteurs tels que le substrat, la période d'incubation, la température, les souches de moisissures et l'apparition de la microflore concurrente.

### I.8. Substances antifongiques

Les recherches sur l'activité antifongique chez les bactéries lactiques n'ont commencé qu'à la fin des années 50 et au début des années 60, avec **Guillo. (1958)** qui élaborait un produit actif contre *Candida albicans* par *Lactobacillus acidophilus*, ont démontré l'inhibition d'*Aspergillus parasiticus* par *Streptococcus lactis* C10, a été démontré par **Wiseman et Marth (1981)** sans identification de la molécule inhibitrice (**Laref, 2013**)

Plusieurs composés ayant une forte activité antifongique ont été isolés à partir de cultures bactériennes lactiques, À partir de ce moment, la majorité des substances antifongiques identifiées sont des composés à faible poids moléculaire composé d'acides organiques, reutérine, peroxyde hydrogène, les acides gras hydroxylés et les composés phénolique (**Dalié et al 2009**)

L'acide lactique et l'acide acétique ont été les principales substances antifongiques produites par *Leuconostoc citreum* et *Weissella confusa*, ces acides organiques ont été capables d'inhiber la croissance de *Cladosporium sp* et *Penicillium crustosum* à des concentrations supérieures à 17.5 mM (**Baek et al., 2012**)

D'autres acides organiques qui présentent une activité antifongique, comme l'acide phényl-lactique ont été identifiés dans des silos inoculés avec les bactéries lactiques (**Broberg et al., 2007**) cet acide a souvent été impliqué dans une activité antifongique des bactéries lactiques (**Lavermicocca et al ., 2000 ; Strom et al., 2002 ; Magnusson et al., 2003 ; Gerez et al., 2009**) l'acide phényl-lactique a d'abord été isolé à partir de *Lactobacillus plantarum* 21B cet acide est capable d'inhiber la croissance de *Penicillium expansum* IDM/FS2, *Aspergillus niger* FTDC3227 et IDM1, *Aspergillus flavus* FTDC3226 et *Fusarium graminearum* IDM623 à une concentration de 50mg/ml (**Lavermicocca et al ., 2000**)

Selon **Mandal et al .(2007)** des composés phénolique, qui reste à identifier, ont été produits par *Pediococcus acidilactici* LAB 5 et ont des degrés d'activité antifongique variable contre un certain nombre de moisissures d'origine alimentaire et les moisissures phytopathogènes .

Certaines études mettent en évidence les propriétés antifongiques des acides gras et des acides gras hydroxylés produits à partir des bactéries lactiques (**Sjogren et al ., 2003**) *Lb.plantarum* MiLAB 393 produit les acides 3- hydroxydécanoïque, 3- hydroxydodécanoïque, 3- hydroxytétradécanoïque et 3- hydroxy-5-cis-dodécanoïque (**Magnusson,2003 ; Sjogren et al., 2003**) ,ces acides gras hydroxylés ont des concentration

minimales inhibitrices de l'ordre de 10 à 100 µg/ml contre plusieurs levures et moisissures (**Magnusson,2003 ;Sjogren et al., 2003 ; Broberg et al ., 2007**)

Peroxyde d'hydrogène est produit par la plupart des bactéries lactiques en présence d'oxygène (**Kandler,1983**), les bactéries lactiques ne possèdent pas de catalase, elles ne peuvent pas dégrader le peroxyde d'hydrogènes qui après l'accumulation, oxyde les lipides membranaires et les protéines cellulaires de l'organisme cible ( **Lindgren et Dobrogosz, 1990**) des études ont montrées que la croissance de l'espèce fongique *Penicillium expansum* a été complètement réprimée par une solution de peroxyde d'hydrogène à 5% lorsqu'elle est testé par des essais de diffusion sur gélose sa concentration minimale inhibitrice était moins de 0,025% ( **Venturini et al., 2002**)

La reutérine est un produit de fermentation du glycérol produit par *Lactobacillus reuteri*, *L.brevis*, *L.buchneri* et *L. Coryniformis* en anaérobiose ( **Magnusson, 2003**) .Il a été démontré que, dans l'organisme cible, ce composé était capable de supprimer l'activité de la ribonucléase, la principale enzyme impliquée dans la biosynthèse de l'ADN( **Dobrogosz et al., 1989**). Selon **Chung et al .(1989)** la reutérine est capable d'inhiber la croissance d'*Aspergillus* et *Fusarium*,

**Tableau 09** : substances antifongiques identifiées chez les bactéries lactiques

La bactérie antifongique	La substance antifongique	Référence
<i>Pediococcus. halophilus</i>	Acide lactique, acide acétique	<b>Noda et al (1980)</b>
<i>Lactobacillus reutri</i>	Reuterine	<b>Chung et al ( 1989)</b>
<i>Lactobacillus sanfranciscensis CBI</i>	Acide caproïque, acide propionique	<b>Corsetti et al ( 1998)</b>
<i>Lactobacillus casei DSM20312</i>	Peroxyde d'hydrogène	<b>Gourama( 1997)</b>
<i>Lactobacillus sanfranciscensis CBI</i>	Acide caproïque, acide formique, acide propionique,acide butyrique, acide valérique	<b>Corsetti et al (1998)</b>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Acide phenyllactique , acide 4-hydroxyphenyllactique	<b>Lavermicocca et al (2000)</b>
<i>Lactobacillus plantarum Milab393</i>	Acide 3-phenyllactique,cyclo (phe-pro)	<b>Strom et al ( 2002-2005)</b>
<i>Lactobacillus plantarum Milab 14</i>	Acide gras hydroxylé, Acide phenyllactique cyclo (phe-pro)	<b>Magnusson et al (2003) ,Sjogren et al (2003)</b>
<i>Pediococcus acidilactici LAB5</i>	Composé phénolique	<b>Mandal et al ( 2007)</b>
<i>Lactobacillus hammesii DSM16381</i>	Acide mono-hydroxyoctadécénoïque	<b>Black et al (2013)</b>

**Chapitre**

**III**

### III.1. Définition des moisissures

Les moisissures ou champignons filamenteux sont des acteurs importants du monde microbien champignons, ils peuvent être définis comme des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote (Abdollahi et al., 2019) Ces moisissures sont des organites pluricellulaires dont l'appareil végétatif permet la croissance et le développement. L'appareil végétatif est un thalle composé de longs filaments ramifiés et souvent cloisonnés que l'on appelle des hyphes dont l'ensemble constitue le mycélium. (Nguyen, 2007)

La multiplication et la reproduction des moisissures se fait grâce à des spores selon deux mécanismes sexués (champignon téléomorphe) ou asexuée (champignon anamorphe). Certains champignons, chez qui les deux formes coexistent sont appelés holomorphes.

Selon le mode de reproduction sexuée des moisissures et les caractéristiques de leur spore, trois groupes principaux sont définis *Zygomycètes*, *Ascomycètes*, *Basidiomycètes*.

Les moisissures sont ubiquitaires dans les environnements naturels, et leurs effets sur la biosphère ainsi que sur l'activité humaine et la santé sont à la fois substantiels et profonds. Par exemple, de nombreuses moisissures forment naturellement des réseaux complexes de réseaux mycorhiziens qui facilitent les relations symbiotiques plantes-champignons grâce à l'échange de ressources nutritives et moléculaire. La grande majorité des espèces végétales bénéficient de ces dynamiques coopératives. Les humains bénéficient également des champignons de nombreuses façons. Les champignons sont utilisés depuis des millénaires dans le processus de fermentation des produits alimentaires. Les aliments traditionnels tels que les fromages, la sauce soja, le miso, le sonji et le tempeh apportent leurs saveurs uniques aux molécules produites par le métabolisme fongique. Ces mêmes processus métaboliques fongiques ont également trouvé une utilisation industrielle dans la production de quantités massives d'acides lactiques, citriques, acétiques et autres, en plus des antibiotiques, des vitamines, de l'alcool éthylique, des acides aminés, des hormones, des protéines unicellulaires et des graisses (Strycker et al., 2020).

A côté des effets très bénéfiques et positifs des champignons dans la vie courante un large éventail de champignons filamenteux peut contaminer divers produits alimentaires, avec d'importantes pertes économiques dans le monde. L'infection fongique provoque la détérioration des aliments avec un fort impact sur les propriétés organoleptiques ainsi que

la réduction quantitative et qualitative de la denrée. Les effets nocifs sur la santé humaine et animale sont déterminés par la contamination par des mycotoxines produites par des champignons appartenant principalement aux genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* (Matei et Cornea, 2015)

### III.2. Principaux genres fongiques

Les genres les plus importants de point de vue économique et médical sont les *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium* qui représentent les contaminants les plus fréquents des aliments. On les retrouve principalement dans les céréales, mais aussi dans de nombreux autres produits végétaux et d'origine animale.

#### III.2.1. Genre *Aspergillus*

Le genre *Aspergillus* a été décrit pour la première fois par le prêtre Florentine et le mycologue P. A. Micheli en 1729 et nommé sur la base de la similitude structurelle de sa structure conidiophore avec l'aspergillum, un outil liturgique utilisé pour asperger l'eau bénite. (Amaike et Keller, 2011).

Le genre *Aspergillus* représente un groupe diversifié de champignons filamenteux qu'on trouve parmi les moisissures les plus abondants au monde. (Krigsheld et al.,2013)

La plupart des *Aspergillus* sont saprophytes, ils colonisent les végétaux déjà abimés par des blessures, des piqûres d'insectes ou des attaques d'autres champignons, mais ils sont aussi présents à la surface des graines (céréales, oléagineux...), des denrées alimentaires. Ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, les détritux, dans les composts (Toffa, 2015).

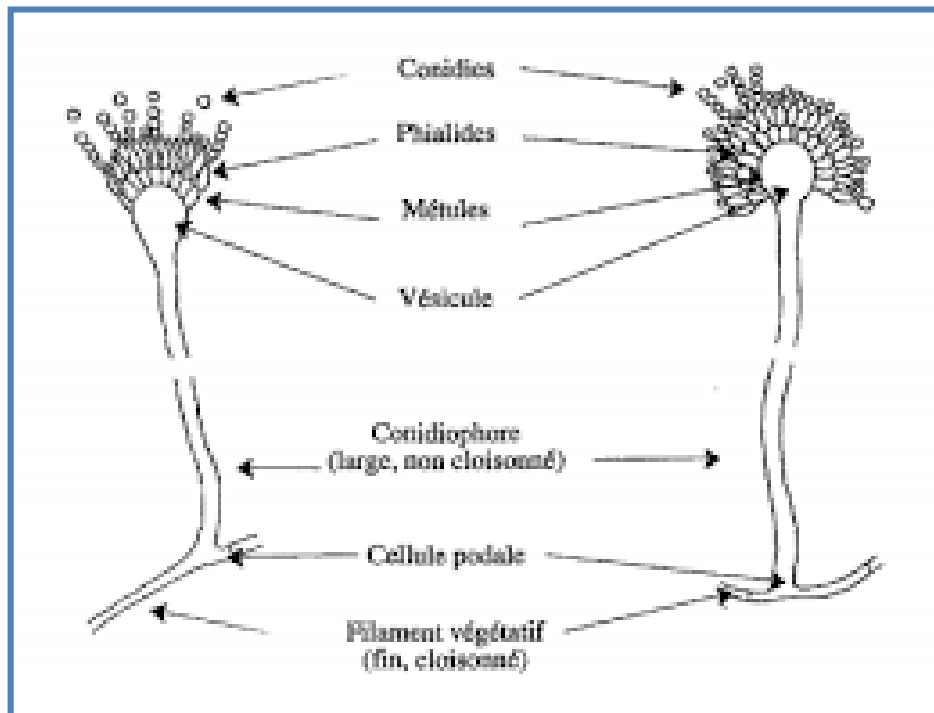
Plusieurs espèces d'*Aspergillus* sont capables de produire une large gamme de mycotoxines responsables de pathologies animales et humaines (Barkai-Golan, 2008).

Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur les milieux de culture classique les colonies sont souvent poudreuses ou granuleuses et vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces. La majorité des *Aspergillus* poussent à 22-25°C (Tabuc,2007).

Microscopiquement, Les *Aspergillus* possèdent un appareil végétatif hyalin , qui présente un mycélium cloisonné et ramifié portant de nombreux conidiophores dressés,

terminés en vésicule de forme variable recouverte d'une couche de phialides en forme de palissade. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule (têtes unisériées) ou portées par des petites structures insérées sur la vésicule (têtes bisériées) nommées métules (Figure 03) (Badillet *et al.*, 1987). L'ensemble vésicule + métules + phialides + conidies constitue la tête aspergillaire caractéristique du genre *Aspergillus* (Tabuc, 2007).

Les principales espèces de ce genre sont : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*



**Figure 03:** Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus*.  
(Botton *et al.*, 1990)

### III.2.2. Genre *Penicillium*

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Il comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (Pitt., 1988).

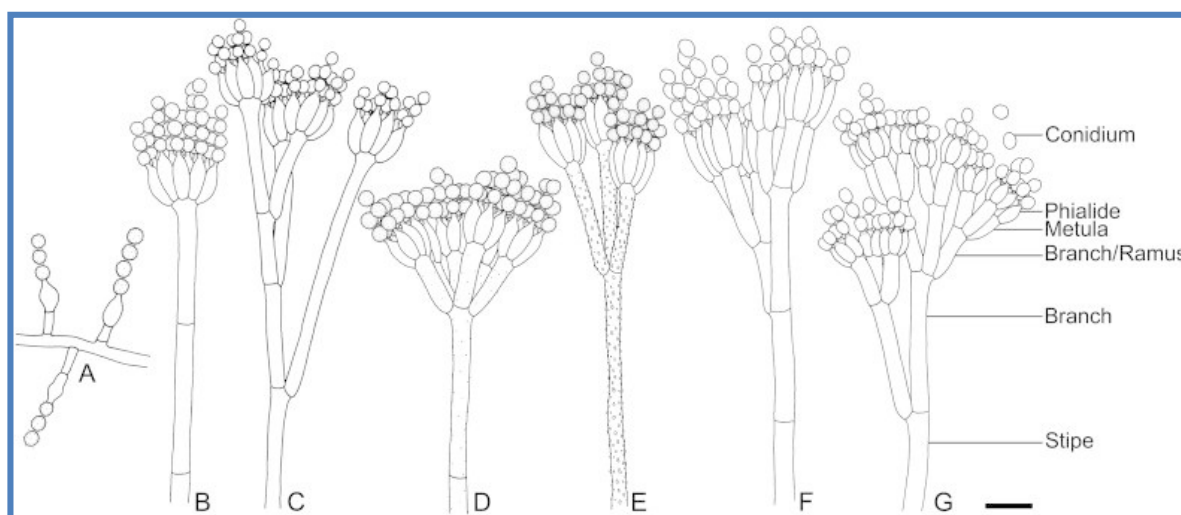
*Penicillium* est bien connu et l'un des champignons les plus communs présents dans un large éventail d'habitats, du sol à la végétation en passant par l'air, les environnements intérieurs et divers produits alimentaires. Il a une distribution mondiale et un impact économique important sur la vie humaine. Sa fonction principale dans la nature est la décomposition des matières organiques, où les espèces provoquent des pourritures dévastatrices en tant qu'agents pathogènes avant et après la récolte sur les cultures



vivrières. (Frisvad et Samson 2004, Pitt et Hocking 2009, Samson *et al.* 2010) ainsi que la production d'une gamme diversifiée de mycotoxines (Frisvad *et al.* 2004) Certaines espèces ont également des impacts positifs, l'industrie alimentaire exploitant certaines espèces pour la production de fromages de spécialité, tels que le camembert ou le roquefort et les saucisses fermentées.

Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses au malt) . Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C. (Tabuc,2007).

La sporulation confère aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose, ou rouge. Cette couleur permet une première orientation dans l'identification d'espèces. (Tabuc,2007)



**Figure 04:** Caractères morphologiques des *Penicillium*.

(Visagie *et al.*,2014)

Au point de vue morphologique les *Penicillium* sont caractérisés par la présence de conidiophores dressés qui vont de simples (phialides solitaires, Figure 4.A) à des motifs très complexes avec plusieurs niveaux de ramification résultant en des modèles symétriques ou asymétriques globaux. Les conidiophores monoverticillaires (Figure 4. B) ont une verticille terminale de phialides et chez certaines espèces, la cellule terminale du conidiophore est légèrement enflée ou vésiculeuse. Les conidiophores biverticillaires (Figure 4. D, E) ont une verticille de trois métules ou plus entre l'extrémité du stipe et les phialides; les métules peuvent être de longueur inégale ou égale, varier dans leur degré de divergence, elles sont généralement plus ou moins cylindriques mais peuvent aussi être

clavées ou légèrement vésiculées. Les conidiophores triverticillaires (Figure 4.F) ont un autre niveau de ramification entre le stipe et les métules, souvent une continuation de l'axe du stipe et une branche latérale, parfois une véritable verticille de trois branches ou plus. Les conidiophores quaterverticillaires (Figure 4.G) ne sont produits que par quelques espèces et ont un niveau supplémentaire de ramification au-delà du motif tertverticillaire. Les conidiophores tertverticillate et quaterverticillate ont tendance à être visiblement asymétriques (**Visagie et al.,2014**)

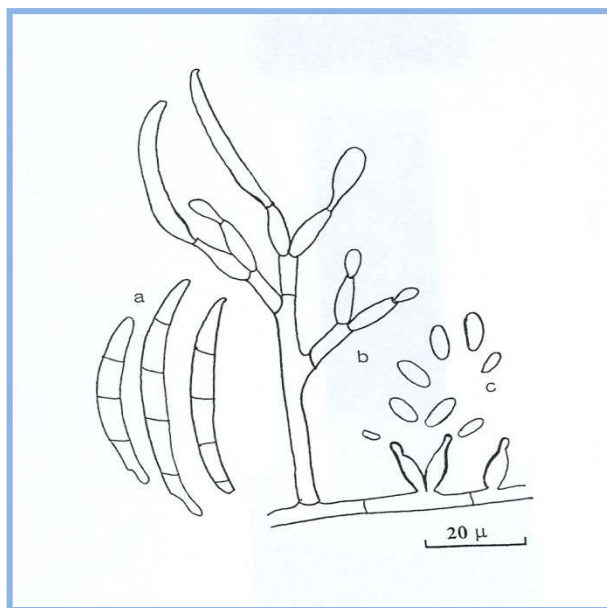
Les conidies produites en grand nombre par les phialides restent en chaîne et contribuent à donner à la tête conidienne un aspect en pinceau.( **Botton et al .,1990**)

### III.2.3. Genre *Fusarium* :

Les Fusaria sont des champignons filamenteux saprophytes appartenant aux deutéromycètes. Certaines formes sexuées (*Gibberella*, *Nectria*) sont connues et rattachées à l'embranchement des Ascomycètes. C'est un genre qui comprend entre 50 et 100 espèces anamorphes. Le genre *Fusarium* tire son nom du latin « fusus » qui signifie fuseau, en référence à la forme des conidies (**Gauthier,2016**).

Le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies (fusarioses) chez de nombreuses plantes. Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), des légumes, La majorité des espèces de *Fusarium* sont susceptibles de produire des mycotoxines (**Tabuc,2007**).

Une croissance vigoureuse, une sporulation et une production de pigments de *Fusarium* peuvent être obtenues sur de nombreuses formulations d'agar. La morphologie des structures fongiques variera considérablement en fonction de la sélection des milieux et des conditions de croissance qui peuvent compromettre le processus d'identification. En outre, il est également fréquent que les *Fusarium* dégénèrent et perdent leur viabilité en culture, en particulier lorsqu'ils sont cultivés sur des milieux riches en nutriments ( **Crous et al .,2021**).



**Figure 05 :** Caractères morphologiques des *Fusarium*  
 a .les macroconidies b. phialides c. les microconidies  
 (Botton et al.,1990)

Microscopiquement le genre *Fusarium* présente un mycélium septé et incolore, les cellules conidiogènes se forment sur des hyphes aériens ou sur des conidiophores courts et densément branchés. les conidiophores peuvent être soit monophialides seulement où à la fois monophialides et polyphialides . Les phialides plus ou moins allongées, présentent, le plus souvent, un site de bourgeonnement, ils produisent deux types de conidies les microconidies et macroconidies (Figure 5) (Roquebert, 1998).

La morphologie des macroconidies est la caractéristique clé pour la caractérisation non seulement de l'espèce mais aussi du genre *Fusarium*. Les macro-conidies des espèces de *Fusarium* sont de formes fusiformes souvent courbées à cloisons seulement transversales et de tailles variaient de 36,3  $\mu\text{m}$  à 47,3  $\mu\text{m}$  x 4,3  $\mu\text{m}$  à 4,7  $\mu\text{m}$ .

La présence ou l'absence de microconidies est un caractère principal de la taxonomie *Fusarium*. Si des microconidies sont présentes, les caractéristiques considérées sont la forme et le mode de formation, que ce soit individuellement, dans de fausses têtes seulement , ou dans de fausses têtes et chaînes.

Les microconidies sont de formes ellipsoïdes, ovoïdes, subsphériques, pyriformes, claviformes ou allantoïdiennes et de dimensions variaient de 30,5  $\mu\text{m}$  ~ 32,5  $\mu\text{m}$  x 4,1  $\mu\text{m}$

~ 5,1  $\mu\text{m}$  généralement unicellulaires et présentent une base arrondie ou tronquée (Hoog, 2011).

Compte tenu de leur fréquence dans les différents substrats, notamment les céréales, de leur potentiel toxigène et de leur pouvoir pathogène, les principales espèces de *Fusarium* sont : *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* et *F. verticilloides* (*F. moniliforme*).

### III.3. Potentiel toxigène des principaux genres fongiques

Il existe de nombreuses espèces appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*, qui sont connues pour leur capacité à produire certaines mycotoxines (Pitt., 2000).

La plupart des *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* peuvent produire une métabolite secondaire dérivée de polypeptides appelée aflatoxine qui sont hautement toxiques, mutagènes et cancérigènes chez l'homme et les animaux (Ruiqian et al. 2004). Bien que *A. fumigatus* ne soit pas connu pour produire de l'aflatoxine, ce champignon est connu pour produire diverses mycotoxines immunosuppressives, y compris la gliotoxine, la fumagilline, l'acide helvolique (fumigacine), la fumitremorgine A et l'asp-hémolysine (Kamei et Watanabe, 2005).

*Aspergillus niger* qui présente un grand intérêt économique et biotechnologique et qui est largement utilisé pour la production d'enzymes extracellulaires et d'acides organiques tels que l'acide citrique. Plusieurs rapports ont indiqué que *A. niger* peut produire de la fumonisine B2 (FB2) ainsi que des OTA (Abarca et al., 1994 ; Frisvad, 2007 ; Logrieco et al., 2009 ; Mogensen et al., 2010). Les fumonisines sont soupçonnées de causer des toxicoses humaines et animales et sont considérées comme cancérigènes.

*Aspergillus ochraceus* est le principal producteur d'ochratoxine A. Les ochratoxines sont des mycotoxines néphrotoxiques, potentiellement cancérigènes dans la nature, l'ochratoxine est un contaminant courant dans les produits alimentaires tels que les céréales, le café, le vin, la bière et les épices (Hua et al., 2014).

La majorité d'espèces du genre *Penicillium* sont capables de produire des mycotoxines : La patuline est une mycotoxine produite par plusieurs espèces de champignons, en particulier *Penicillium expansum*, un agent pathogène répandu dans la pomme, (McCallum et al., 2002) *P. verrucosum* est le principal producteur d'OTA dans les

céréales telles que le blé et l'orge dans les climats tempérés et froids (Cabañes et al.,2010), La citrinine est produite principalement par *P. citrinum* (Heperkan et al.,2009).

Le genre *Fusarium* comprend des espèces capables de produire de nombreuses mycotoxines comme : les trichothécènes, la zéaralénone et les fumonisines.

- *Fusarium poae*, *F. sporotrichioides*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. graminearum* produisent des trichothécènes de types A et B.

- *Fusarium verticillioides*(moniliforme) et *F. proliferatum* synthétisent les fumonisines ;

- *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* *F. oxysporum* et *F. sporotrichioi* des produisent de la zéaralénone.

### III.4. Mycotoxines

Mycotoxine est un terme large pour les substances nocives produites par les moisissures. Les mycotoxines sont les agents chimiques les plus toxiques présents dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, ce qui constitue la plus grande menace pour la santé humaine et animale.

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires qui ne jouent pas de rôle évident dans le développement des moisissures (Royer et Tap, 2004), elles sont sécrétées par des moisissures mycotoxigènes appartenant principalement à trois genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* (Tableau10 ) les espèces de *Fusarium* sont des agents pathogènes végétaux destructeurs produisant des mycotoxines avant ou immédiatement après la récolte, les espèces *Penicillium* et *Aspergillus* sont plus souvent trouvées comme contaminants des produits et des aliments pendant le séchage et l'entreposage ultérieur.

**Tableau 10 :** Quelques espèces fongiques productrices de mycotoxines (Reboux, 2006)

Mycotoxine	Moisissure
Aflatoxines B1, B2, G1 et G2	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>A. flavus</i>
Ochratoxines A, B, C	<i>A. ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. nordicum</i>
Zéaralénone	<i>Fusarium roseum</i> , <i>Fusarium</i> sp.
Déoxynivalénol (DON), Nivalenol, Fusarenone Toxine T2, Diacetoxyscirpenol	<i>F. tricinctum</i> , <i>Fusarium</i> sp.
Fumonisines	<i>F. moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>Fusarium</i> sp.
Citrinine	<i>P. citrinum</i> , <i>Monascus ruber</i>

<b>Patuline</b>	<i>P. patulum, Byssochlamysnivea</i>
<b>Acide pénicillique</b>	<i>A. ochraceus, P. cyclopium, P. puberulum</i>
<b>Moniliformine</b>	<i>F. proliferatum, F. subglutinans</i>
<b>Acide cyclopiazonique</b>	<i>A. flavus</i>

Les mycotoxines peuvent être présentes alors que l'agent responsable a disparu, soit du fait de l'évolution de microflore, soit du fait de traitements technologiques (Belkacem,2008)

En effet, lorsqu'elles sont produites dans les matières alimentaires, leur décontamination est très difficile, par conséquent, ces molécules ne sont pas détruites au cours d'un stockage prolongé et sont souvent résistants aux traitements thermiques ou chimiques (Langseth et al., 1995 ; Cahagnier 1998)

Les mycotoxines sont considérées comme faisant partie des contaminants alimentaires les plus significatifs en termes d'impact sur la santé publique, la sécurité alimentaire et l'économie de nombreux pays (Steyn, 1995 ; Pitt et al, 2000).

#### III.4.1. Différentes mycotoxines rencontrées

Les aflatoxines, les ochratoxines, les fumonisines, les trichothécènes, la patuline, la citrinine et la zéaralénone sont des mycotoxines importantes qui ont été détectées dans la recherche.

##### III.4.1.1. Aflatoxines

Les aflatoxines sont des dérivés de la difuranocoumarine avec un groupe bifurane et un cycle pentanone ou lactone (pour les AFB) ou un cycle lactone (pour les AFG) lié au noyau de la coumarine . Parmi les 20 aflatoxines découvertes, AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2 sont les quatre aflatoxines les plus importants. *A. flavus* génère des types B, tandis que *A. parasiticus* génère des types G (El-Sayed et al.,2022).

Les aflatoxines se trouvent généralement dans un large éventail de repas et d'aliments. Les arachides, les noix, les figues, le maïs, le riz, les épices, les céréales et les fruits secs sont parmi les aliments et les aliments pour animaux les plus durement touchés (Umesha et al.,2017).

Dans les populations humaines et animales, l'aflatoxine a été associée à la toxicité et à la cancérogénicité . Les troubles liés à l'aflatoxine sont familièrement connus sous le nom

d'aflatoxicose. L'aflatoxicose aiguë; l'aflatoxicose chronique provoque le cancer, la suppression immunologique et d'autres maladies pathologiques « lentes ». Le foie est le principal organe affecté par les effets toxiques de l'aflatoxine. Les changements histopathologiques observés dans l'hépatotoxicité aiguë due à la toxicité des aflatoxines sont des changements graisseux dans les hépatocytes, une nécrose hémorragique aiguë et une prolifération des voies biliaires (Dhakal et Sbar, 2021).

#### III.4.1.2. Ochratoxine A

L'ochratoxine A (OTA) est l'une des mycotoxines les plus importantes et les plus délétères (Malir et al., 2016). Elle est produite par métabolisme secondaire de nombreuses espèces filamenteuses appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*, elle se compose structurellement d'un groupe para-chlorophénolique contenant une fraction dihydroisocoumarine liée à l'amide à la L-phénylalanine (El Khoury et Atoui, 2010).

L'OTA contamine les aliments d'origine végétale comme les produits céréaliers, les olives, les haricots, la bière, le vin, le café, les produits à base de cacao, les raisins secs, les figes, la réglisse, les légumineuses, les graines de citrouille et le thé. En général, la concentration moyenne d'OTA varierait de 0,1 à 100 ng/g. (Malir et al., 2016).

Dans les aliments d'origine animale, par exemple dans les abats comestibles, la viande et les abats de poulet et le jambon sec (Malir et al., 2016).

Des études montrent que cette molécule peut avoir plusieurs effets toxicologiques tels que néphrotoxiques, hépatotoxiques, neurotoxiques, tératogènes et immunotoxiques (El Khoury et Atoui, 2010).

#### III.4.1.3. Zéaralénone

La zéaralénone est une fusariotoxine qui appartient à la classe des xénoestrogènes en raison de sa similitude structurelle avec le 17 $\beta$ -estradiol, mais aussi en raison de son affinité de liaison aux récepteurs d'œstrogènes. C'est une lactone acide résorcyclique, produite par *Fusarium graminearum*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium culmorum* et *Fusarium equiseti* qui se lie aux récepteurs d'œstrogènes dans les cellules cibles des mammifères entraînant des troubles de la reproduction en particulier chez les porcs (Bulgaru et al., 2021).

La ZEA se trouve, en particulier, comme contaminant dans le maïs. En outre, elle peut se produire dans l'avoine, l'orge, le blé et le sorgho (Yazar et Omurtag, 2008).

#### III.4.1.4. Fumonisines

Les fumonisines sont produites par un certain nombre d'espèces de *Fusarium*, notamment *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. anthophilum*, *F. nygamai* ainsi que *Alternaria alternata*. Jusqu'à présent, vingt-huit fumonisines ont été isolées et peuvent être divisées en quatre séries connues sous le nom de A, B, C et P. FB1, FB2 et FB3, elles sont les principales fumonisines analysées comme contaminants naturels des céréales. *F. verticillioides* produit plusieurs mycotoxines, dont la plus importante est appelée fumonisine B1 (FB1) (Yazar et Omurtag, 2008).

Les fumonisines peuvent être trouvées dans une variété de céréales et de produits céréaliers, mais elles se trouvent le plus souvent dans le maïs et les produits à base de maïs (riz, blé, orge, maïs, seigle, avoine et millet) (Dall'Asta et Battilani, 2016 ; Cendoya et al., 2018).

Les fumonisines ressemblent structurellement à des bases sphingolipides telles que la sphingosine. La similarité structurelle entre la sphinganine et FB1 suggère que le mécanisme d'action de cette mycotoxine passe principalement par la perturbation du métabolisme des sphingolipides, en inhibant l'enzyme céramide synthétase conduisant à l'accumulation de sphinganine dans les cellules et les tissus. La FB1 est neurotoxique, hépatotoxique et néphrotoxique chez les animaux, et elle a été classée comme cancérogène possible pour l'homme. Les mécanismes cellulaires à l'origine de la toxicité induite par FB1 comprennent l'induction du stress oxydatif, l'apoptose et la cytotoxicité, ainsi que des altérations de l'expression des cytokines (Stockmann-Juvala et Savolainen, 2008).



# **Partie**

# **Expérimentale**

Matériels

et

méthodes

## **I.1. Analyse des denrées alimentaires stockées**

### **I.1.1. Choix d'aliment**

Le blé, le café et le pois-chiche sont les échantillons sélectionnés dans cette étude afin d'isoler les moisissures, car ce sont des produits à large consommation en Algérie. Ces denrées constituent les principaux produits d'importation pour satisfaire les besoins des consommateurs en raison d'une production nationale faible.

Le stockage de ces denrées alimentaires doit assurer leur conservation, mais les produits stockés sont attaqués par divers ennemis. Parmi eux les moisissures qui sont difficiles à reconnaître car elles sont beaucoup moins visibles. Les moisissures se nourrissent de produits stockés sous forme crue ou traitée. La décomposition des tissus altère le goût des denrées alimentaires qui perdent leurs qualités nutritives.

### **I.1.2 Echantillonnage**

Les échantillons du blé tendre local et importé ont été prélevés à partir d'un Moulin Agrodiv – unité Béchar, alors que les échantillons du café vert arabica et robusta proviennent d'une unité de torréfaction, d'une autre part les échantillons du pois-chiche local et importé proviennent de la coopérative des céréales et légumes secs. Tous les échantillons ont été prélevés le mois de février 2016 dans la ville du Béchar

#### **I.1.2.1. Echantillonnage du blé tendre local et importé**

15 échantillons de blé tendre local et importé ont été prélevés dans 2 silos de différents.

Les deux silos possèdent une structure identique ( $\emptyset = 12$  m, hauteur des murs = 12,5 m et hauteur du toit = 3 m), avec un contrôle de la température et une aération automatisée et qui contiennent environ 1000 tonnes de blé dans chacun.

Pour le prélèvement, une sonde pneumatique a été introduite au centre et aux 4 points centraux de chaque quadrant, du haut vers le bas du silo (12 m). Pour le processus d'échantillonnage. Chaque échantillon a été divisé en 3 (tiers supérieur, tiers moyen et tiers inférieur du silo). La sonde pneumatique a été introduite 3 fois en 5 points dans chaque silo. **(European Commission (EC), 2006).**

### **I.1.2.2. Echantillonnage du café vert**

12 échantillons du café vert en grains pour laboratoire proviennent d'une unité de torréfaction qui se situe, à la ville de Béchar.

Les grains du café vert ont été stockés dans des sacs de jute dans un endroit très sec. Le sac de jute est percé à l'aide d'un tube fin à la pointe acérée afin de prélever un échantillon de café vert.

30gr de café vert ont été prélevés à partir d'un seul sac dans un lot de 10 sacs.

Une quantité de 1 500 g de café vert en grains, a été obtenue en réunissant et en mélangeant tous les prélèvements élémentaires effectués à partir de sacs d'un lot, cette quantité constitue un échantillon global ; puis une quantité de 300 gr de café vert en grains a été prélevée à partir de l'échantillon global mélangé constitue l'échantillon pour laboratoire

### **I.1.2.3 Echantillonnage du pois-chiche**

12 échantillons du pois-chiche local et importé en grains pour laboratoire proviennent de la coopérative des céréales et légumes secs de la wilaya de Béchar.

Les grains du pois-chiche ont été stockés dans des sacs fabriqués en polypropylène dans un endroit très sec.

À l'aide d'une pelle à main 300gr de pois-chiche ont été prélevés à partir d'un seul sac dans un lot de 20 sacs .

Une quantité de 6000g de pois-chiche, a été obtenue en réunissant et en mélangeant tous les prélèvements élémentaires effectués à partir de sacs d'un lot, Cette quantité constitue un échantillon global ; puis une quantité de 300 gr de pois-chiche en grains a été prélevée à partir de l'échantillon global mélangé constitue l'échantillon pour laboratoire.

## **I.1.3. Détermination du pH et du taux d'humidité**

### **I.1.3.1. Mesure de pH**

Le pH, qui est l'abréviation de potentiel hydrogène, est un paramètre servant à définir si un milieu est acide ou basique. La valeur du pH d'une solution est directement liée à sa concentration en ions oxonium  $H_3O^+$  qui proviennent de la fixation d'un proton  $H^+$  sur une molécule d'eau. Un milieu acide (correspondant à un pH faible) présente une forte concentration en ions oxonium. Inversement, un milieu basique (correspondant à un pH élevé) se caractérise par la présence d'ions hydroxydes  $HO^-$  qui proviennent de la perte

d'un proton H<sup>+</sup> par une molécule d'eau. Pour la détermination du pH une solution à base de 45 ml d'eau distillée additionnée à 5 g d'échantillon broyé a été préparée. Après une heure de repos avec une agitation continue, la mesure du pH a été réalisée à l'aide d'un pH mètre type (HANNA pH 209) (Multon, 1982).

### **I.1.3.2. Détermination de la teneur en humidité**

La méthode suivante a été utilisée pour l'estimation, de la teneur en humidité des échantillons selon (AOAC, 2007). 10g de chaque échantillon collecté ont été mis dans une boîte de Pétri en verre, puis placés dans un four préréglé à 105 ° C .Les échantillons séchés ont été mis dans un dessiccateur pour le refroidissement .Cette procédure a été répétée jusqu'à ce qu'ils atteignent un poids constant. La perte de masse a été interprétée comme humidité libérée

L'humidité est mesurée par la formule :

$$H \% = \frac{(P0 - Pt) - (P1 - Pt)}{(P0 - Pt)} \times 100$$

- H% : humidité en (%).
- Pt : poids de la tare.
- P0 : poids de la tare avec échantillon.
- P1 : poids constant après séchage multiple.

### **I.1.4. Analyse mycologique :**

#### **I.1.4.1. Dénombrement de la flore fongique par la méthode de dilution**

L'ensemencement après dilution est la méthode appropriée pour l'analyse mycologique des aliments liquides ou en poudre. Il convient également aux grains destinés à la fabrication de farine et à d'autres situations où la contamination fongique totale est pertinente. (JORA N°52, 2015)

- Préparation de la solution mère :

Les grains de café vert, de blé tendre, et de pois-chiche ont été broyés dans un broyeur électrique désinfecté pendant deux minutes. Puis dans des flacons stériles 5g de chaque échantillon a été ajouté à 45ml d'eau peptonée (0,1%), le tout a été mélangé à l'aide d'un agitateur (JORA N°52, 2015)

- Préparation des dilutions décimales :

A partir de la dilution mère, des dilutions décimales allant de  $10^{-2}$  jusqu'à  $10^{-3}$  ont été réalisées pour chaque sous échantillon de blé, café et de pois-chiche. (**JORA N°52, 2015**)

- Ensemencement et incubation :

Trois boîtes de Pétri contenant le milieu DG18 (Gélose Dichloran à 18% de glycérol) pour chaque dilution ont été ensemencées avec 0,1 ml d'inoculum étalé uniformément sur la surface de la gélose. L'incubation a été faite en aérobiose à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 7 jours (**JORA N°52, 2015**)

#### **I.1.4.2. Dénombrement de la flore fongique par la méthode directe**

Cette méthode consiste à placer les particules d'aliments désinfectés en surface directement sur un milieu d'agar solidifié.

La désinfection de surface a été réalisée en immergeant des particules dans une solution de chlore 0.4% pendant 2 minutes en remuant de temps en temps ensuite le chlore a été égoutté, Après avoir éliminé le chlore, les particules ont été rincées une fois avec de l'eau stérile. Pendant 1 min, sous agitation, puis les graines ont été séchées sur un papier stérile. (**Pitt et Hochking, 1998**).

Après la désinfection et le rinçage, les particules ont été déposées à l'aide d'une pince stérile sur la gélose DG18 solidifiée, à raison de 10 particules par boîte. puis l'incubation des boîtes a été réalisée pendant 5 jours à  $25^{\circ}\text{C}$ , Après incubation, les boîtes ont été examinées visuellement, ensuite le nombre de particules infectées a été compté et exprimé en pourcentage (**Pitt et Hochking, 1998**).

#### **I.1.4.3. Purification et conservation des souches**

En vue de l'obtention d'isolats purs servant à l'identification des souches, un petit échantillon d'hyphes ou de spores jugé pur à l'œil nu a été prélevé à l'aide d'une aiguille en acier stérile, et inoculé en plusieurs points dans la gélose de PDA acidifié, les boîtes ont été incubées à  $25^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 5 à 7 jours. La pureté a été ensuite jugée par l'uniformité d'aspect de la colonie qui se forme après incubation.

Les isolats purs ont été repris sur des tubes de PDA acidifié inclinés et incubés à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant une semaine ou plus. Après incubation ces tubes sont ensuite gardés à  $4^{\circ}\text{C}$  afin d'assurer leur conservation (**Pitt et Hochking, 1998**).

#### I.1.4.4. Identification des moisissures

L'identification des moisissures repose sur des critères macroscopiques et microscopiques après isolement et culture sur milieu de culture.

Les critères macroscopiques : reposent sur l'observation des colonies et de leur couleur recto et verso, leur taille, leur relief, leur aspect (filamenteux, collant), leur transparence (opaque, translucide), l'allure des contours et la pigmentation. (Boudihet *al.*, 2011).

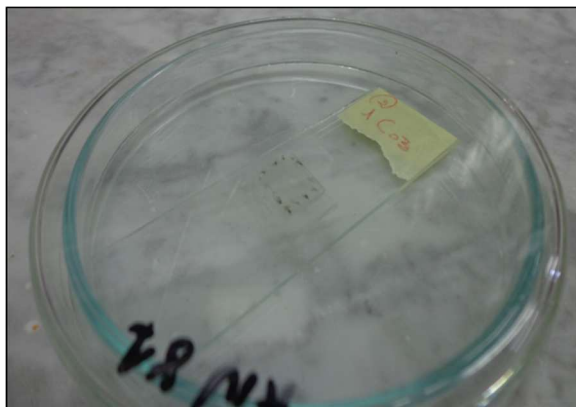
Les critères microscopiques sont fondés sur l'aspect morphologique des différentes structures des champignons : le type de thalle (septé ou non), la couleur des hyphes (foncées ou claires), la forme des spores, l'origine des spores (endogène ou exogène), la forme des têtes (en forme de pinceau, aspergillaire) (Boudihet *al.*, 2011).

##### I.1.4.4.1. Identification des genres par la technique de micro-culture

Sur une lame en verre stérile un petit carreau du milieu PDA acidifié a été déposé, les spores de la souche pure ont été inoculées sur les bords périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène. Le carreauensemencé a été recouvert par une lamelle, l'ensemble a été placé dans une chambre stérile et humide, puis incubé à 25°C pendant 3 à 5 jours (Deacon, 1980).

Après incubation, la lamelle à laquelle s'adhèrent le mycélium a été transférée sur une lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol. (Deacon, 1980)

Les observations microscopiques ont été effectuées aux grossissements  $\times 10$ ,  $\times 40$  et  $\times 100$ . Les genres ont été déterminés par les caractères culturaux et microscopiques en se référant au manuel de Barnett et Hunter (1972).



**Figure 06 :** Micro-culture des moisissures pour l'identification microscopique (Photo originale)

#### I.1.4.4. 2. Identification des espèces

L'identification des espèces isolées a été faite selon une méthode basée sur la relation entre l'activité de l'eau du milieu de culture et la température d'incubation (**Pitt, 1973 ; Ramiraez, 1982**).

##### - Préparation de la suspension sporale

Un volume de 0,5 ml d'agar fondu semi solide (0,2%) et (0,05 %) de Tween 80 a été distribué dans des tubes à hémolyse puis autoclavé, ensuite à l'aide d'une aiguille stérile quelques spores d'une culture jeune pure ont été ajoutées à la suspension semi solide et mélangé légèrement. (**Pitt et Hochking, 1998**)

##### - Inoculation

Trois milieux standards ont été utilisés qui sont

- gélose à l'extrait de levure Czapek (CYA ; **Pitt, 1973**) ;
- gélose à l'extrait de malt (MEA; **Raper et Thom, 1949**)
- gélose au nitrate de glycérol à 25 % (G25N; **Pitt, 1973**).

Pour certains genres qui poussent mal ou ne parviennent pas à sporuler sur les milieux standards, d'autres milieux ont été ajoutés comme la gélose au dichloranchloramphenicol extrait de malt (DCMA; **Andrews, 1992**) qui favorise la sporulation chez les espèces du genre *Alternaria* et la gélose au dichloranchloramphenicol peptone (DCPA ; **Andrews et Pitt , 1986**) qui permet le diagnostic du développement de macro-, micro- et chlamydoconidies des espèces *Fusarium* .

Toutes les boîtes ont été inoculées avec une seule culture en trois points, équidistants du centre et du bord de la boîte et l'un de l'autre.

Toutes les cultures ont été cultivées pendant 7 jours sur les trois milieux standards et sur les milieux spécifiques à 25°C, et sur CYA à 5 et 37°C également.

Les boîtes incubées à 37°C ont été enfermées dans des sacs en polyéthylène pour éviter l'évaporation et le dessèchement du milieu. (**Pitt et Hochking, 1998**)

#### I.1.5. Analyses mycotoxicologiques

En sachant que les mycotoxines sont élaborées par des moisissures. Il serait intéressant d'étudier les moisissures productrices des mycotoxines.



#### I.1.5.1. Recherche des souches productrices d'aflatoxines et d'ochratoxines

Toutes les souches d'*A.flavus*, *A.parasiticus*, *A.ochraceus*, *A.carbonarius* et *A.niger* identifiées des prélèvements analysés ont été cultivées sur milieu PDA acidifié pendant 5 jours à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  et puis soumises aux analyses mycotoxicologiques.

#### I.1.5.2. Ensemencement sur milieu YES:

Les souches d'*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A.ochraceus*, *A.carbonarius* et *A.niger* ont été réensemencées sur milieu YES. Puis l'incubation a été faite à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 14 jours (Samson et al.,2001).

#### I.1.5.3. Extraction des aflatoxines et des ochratoxines

Après 14 jours d'incubation, la biomasse formée a été éliminée en filtrant le milieu YES à travers du papier filtre, puis l'extraction a été faite de la manière suivante:

50 ml de filtrat obtenu sont additionnés à 180 ml de chloroforme ( $\text{CH}_3\text{Cl}$ ), le tout est vigoureusement agité pendant 30 min, ensuite le mélange a été laissé se décanter en utilisant une ampoule à décantation .

La phase chloroformique ainsi obtenue a été filtrée sur du papier filtre plissé puis concentrée par évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapor jusqu'à un volume de 2 à 3 ml. Ce filtrat a été conservé dans des tubes à hémolyse bien fermés (Frayssinet et Cahagnier, 1982).

#### I.1.5.4. Détection des mycotoxines par chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince constitue la méthode de base. Elle permet une séparation efficace des produits, leur identification et leur quantification avec une bonne précision (Frayssinet et Cahagnier, 1982).

Elle se fait sur une plaque de sélicagel sur laquelle sont déposés deux spots de 10  $\mu\text{l}$  et 20  $\mu\text{l}$  de chaque extrait à analyser. La plaque est ensuite placée dans une cuve chromatographique et trempée dans un solvant d'élution (Toluène, acétaldehyde acide formique  $V= 5$ ,  $V= 4$ ,  $V= 1$  respectivement) pendant 1 à 2 heures. (Gimeno,1979)

Après migration et évaporation du produit d'élution à sec, la plaque CCM a été examinée sous UV à 365 nm. La présence d'aflatoxines se traduit par des fluorescences

caractéristiques bleue pour AFB1, verte pour l'AFG et vert pistach pour l'OTA (Gimeno,1979)

## I.2. Analyse microbiologique et physicochimique du lait de chamelle

### I.2.1. Echantillonnage

Les échantillons du lait de chamelle ont été prélevés le mois de mars 2017, qui proviennent de 4 régions différentes du sud-ouest Algérien (Adrar, Béchar, El Bayadh et Tindouf), La figure 07 montre les sites de prélèvement des différents échantillons, ils ont été prélevés sur 48 chameaux (12 chameaux de chaque région), leur poids moyen est de  $455 \pm 14$  kg et leur âge varie de 10 à 14 ans. La race Sahraoui est présente à Tindouf, Adrar et Béchar et la race Targui dans la région d'El Bayadh . Les chameaux de Tindouf et d'Adrar sont élevés dans un système extensif alimenté en *Acacia radiana*. Les chameaux de Béchar et d'El Bayadh sont élevés en mode semi-intensif, où ils sont mis à pâturer le matin et le soir ; ils reçoivent du foin d'orge et d'avoine.

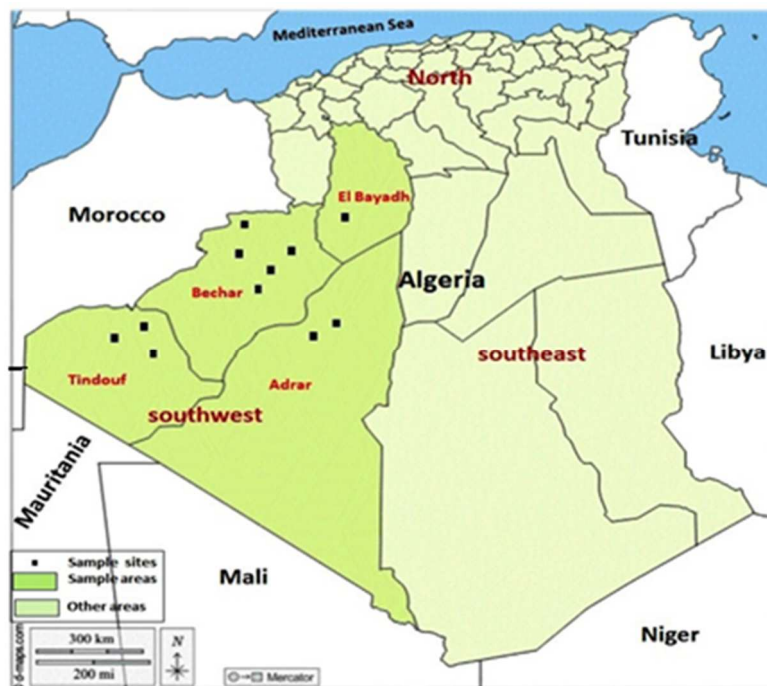


Figure 7: Points de prélèvement du lait de chamelle

Des échantillons de lait de ces chameaux ont été prélevés au début et au milieu de la phase de lactation. La collecte a été faite le soir. Le prélèvement a été effectué en respectant les conditions hygiéniques de la traite. Les échantillons ont été réfrigérés jusqu'au transport au laboratoire.

## **I.2.2. Analyses physicochimiques du lait cru de chamelle**

### **I.2.2.1. Mesure du pH**

Le pH du lait a été déterminé selon la méthode standard de l'AOAC (2000)

Le pH du lait cru a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre numérique. Des tampons de pH 7 et 4 ont été utilisés pour l'étalonnage du pH-mètre.

Après l'étalonnage, un volume de 100 mL d'échantillon de lait a été mis dans un bécher, puis l'électrode a été immergée et conservée dans l'échantillon jusqu'à ce qu'une lecture constante soit atteinte. (AOAC ,2000)

### **I.2.2.2. Détermination de l'acidité titrable**

L'acidité du lait frais a été déterminée par la méthode de titrage donné par **Norme Française 04-206 (Janvier 1969)**. L'acidité a été déterminée en mettant 10 ml d'échantillon de lait camelin cru dans une fiole d'Erlenmeyer et 2-3 gouttes de phénolphthaléine ont été ajoutées et titrées contre (N/9) NaOH jusqu'au virage au rose. L'acidité titrable, l'acidité exprimée en degrés Dornic, est équivalente au nombre de dixièmes de ml de soude Dornic versée pour avoir le virage de l'indicateur. C'est-à-dire par exemple  $1,8 \text{ ml} \times 10 = 18 \text{ }^\circ\text{D}$ .  $1^\circ\text{D} = 0,1 \text{ ml de NaOH à N/9}$ .

### **I.2.2.3. Détermination de la densité du lait**

Le lait camelin cru a été versé dans une éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse ou de bulles d'air, ensuite le lactodensimètre a été introduit doucement dans le lait en le maintenant dans l'axe de l'éprouvette, la lecture a été faite après une minute, cette lecture a été effectuée à la partie supérieure du ménisque. (AOAC ,2000)

### **I.2.2.4. Détermination de la teneur en matière sèche totale**

La teneur en matière sèche totale a été déterminée selon la méthode de l'AOAC (2000). 10 g de chaque échantillon de lait frais ont été placés dans une cuve en aluminium à fond plat propre et séché. Le poids de chaque cuve avec échantillon a été enregistré, chauffé au bain Marie pendant 30 minutes et placé dans un four à 105°C pendant 3 heures. Enfin, les cuves ont été sorties du four et transférées dans des dessiccateurs pour refroidir à température ambiante.

Le chauffage, le refroidissement et la pesée ont été répétés plusieurs fois jusqu'à ce que la différence entre les pesées successives soit inférieure à l'échantillon prélevé. (AOAC ,2000). La matière sèche du lait a été exprimée en pour cent en masse et calculée à partir de l'équation suivante :

$$\frac{(M_1 - M_0)}{(M_2 - M_0)} \times 100$$

Où

- M<sub>0</sub> est la masse, en grammes, de la cuve vide,
- M<sub>1</sub> est la masse, en grammes de la cuve et du résidu après dessiccation et refroidissement.
- M<sub>2</sub> est la masse, en grammes, de la cuve et de la prise d'essai.

#### **I.2.2.5. Détermination du taux de cendre**

La teneur en cendre de lait a été déterminée selon la méthode standard de l'AOAC 2000. Premièrement : les creusets et le couvercle ont été placés dans le four à 550 °C pendant une nuit pour s'assurer que les impuretés à la surface du creuset sont brûlées. Les creusets ont été refroidis dans le dessiccateur, puis pesés aux décimales. Ensuite environ 5 g d'échantillon a été pesé dans le creuset, et amené à une dessiccation complète au bain Marie .

Les échantillons de lait ont été enflammés dans un four à moufle à 550 °C pendant 3 heures jusqu'à disparition complète des particules charbonneuses dans les creusets, puis refroidis dans des dessiccateurs et pesés. (AOAC ,2000)

Enfin, la teneur en cendres a été calculée comme suit :

$$\text{taux de cendre}(\%) = \frac{\text{poids de cendre}}{\text{poids de l'échantillon}} \times 100$$

#### **I.2.2.6. Détermination du taux de la matière grasse :**

La détermination d taux de la matière grasse a été faite selon la méthode de Gerber (Marshall, 1993)

A l'aide d'un doseur automatique 10 ml d'acide sulfurique a été introduit dans un tube de butyromètre, sans mouiller le col du tube. Ensuite à l'aide d'une pipette à lait 10 ml du lait a été coulé dans le tube du butyromètre le long de la paroi latérale sans mouiller le col ; puis 1 ml d'alcool amylique a été ajouté au tube butyromètre puis fermé avec un bouchon, et agité jusqu'à homogénéité en retournant pour un mélange complet de l'acide.

Le tube butyromètre a été maintenu au bain-marie pendant 5 min à 65°C en prenant soin de n'avoir aucune particule de caséine, enfin les tubes ont été centrifugés pendant 4 min à 1100 tr/min.

Après centrifugation les tubes du butyromètre ont été retirés et placés au bain-marie pendant 5 min à 65°C.

Le pourcentage de graisse a été lu après avoir ajusté la hauteur dans le tube par des mouvements du bouchon de verrouillage avec la clé. La lecture de l'échelle correspondant au point le plus bas du ménisque graisseux et à la surface de séparation de la graisse et de l'acide a été notée. (Marshall, 1993)

#### **I.2.2.7.Détermination du taux de protéine totale**

Le taux en protéine totale dans le lait a été déterminée par la méthode de la fédération laitière internationale (IDF 20-1 (2001) ).l'azote provenant de protéines et d'autres sources azotées a été converti en sulfate d'ammonium, puis l'ammonium est distillé dans une solution d'acide borique et titré contre un acide de normalité connue.

3 gr de lait ont été versés dans un tube de digestion avec un comprimé de digestion et 20 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Egalement un autre tube contenant les produits chimiques ci-dessus, à l'exception de l'échantillon du lait a été préparé comme blanc. La digestion s'est faite d'abord par chauffage lent pendant 45 min pour éviter la mousse puis à 80°C jusqu'à l'apparition de couleur claire ou vert pâle.

L'échantillon digéré a été laissé refroidir pendant une demi-heure, puis 100 ml d'eau distillée ont été ajoutés et mélangés progressivement et transférés dans une fiole jaugée de 250 ml ,puis le tube de digestion a été rincée 2-3 fois avec de l'eau distillée, puis le volume a été porté à 250 ml en ajoutant de l'eau distillé. (IDF 20-1 (2001)

Distillation :

10 ml d'échantillon digéré et 10 ml de NaOH (40%) ont été distillés dans un appareil micro kjeldahal. Le produit ammoniac obtenu a été piégé dans une solution d'acide borique à 4% contenant quelques gouttes d'indicateur de rouge de méthyle. Avec l'ajout d'ammoniac, la couleur de l'acide borique est passée du rouge au jaune, la distillation a été poursuivie pendant 2-3 minutes après la première apparition de couleur jaune pour capturer un maximum d'ammoniac. (IDF 20-1 (2001)

Titration :

Le contenu a été titré par rapport à des solutions de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(0,1N) jusqu'à ce que le point final de couleur rose apparaisse, le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> utilisé a été noté. (IDF 20-1 (2001))

**Calcul:**

Le pourcentage total d'azote a été calculé avec la formule mentionnée ci-dessous et cette valeur a été multipliée pour obtenir le taux en protéine totale.

$$\begin{aligned} \text{Azote (\%)} \\ = \frac{\text{Volume de H}_2\text{SO}_4 \text{ utilisé (ml)} \times 250 \times 0,0014}{\text{volume utilisé pour la digestion} \times \text{volume d'échantillon digéré}} \times 100 \end{aligned}$$

$$\text{Taux en protéine totale (\%)} = \text{pourcentage d'Azote} \times 6,38$$

**I.2.2.8. Détermination de la teneur en lactose**

La teneur en lactose a été déterminée par la méthode de Lane et Eynon

40 ml de lait camelin frais a été introduit dans un bécher et chauffé à 65 ° C au bain-marie, puis 5 à 8 gouttes d'acide acétique ont été ajoutées et laissées pendant 5 minutes pour précipiter les protéines.

L'échantillon traité à l'acide a ensuite été filtré et le volume a été porté à 100 ml avec de l'eau distillée.

Le filtrat a été pris en burette et ajouté lentement à la fiole conique contenant 5 ml de de la liqueur de Fehling bouillante A et B jusqu'à fixation complète du bleu, puis 2 gouttes de bleu de méthylène ont été ajoutées et le titrage a été complété au point final de couleur rouge brique. (Lane et Eynon,

Expression des résultats :

Le pourcentage de lactose a été calculé selon la formule ci-dessous

$$\begin{aligned} \text{teneur en lactose (\%)} \\ = \frac{\text{dilution} \times \text{equivalent obtained from lactose}}{\text{volume d'échantillon utilisé pour le titrage} \times 10} \times 100 \end{aligned}$$

### **I.2.3. Analyse microbiologique du lait de chamelle**

#### **I.2.3.1. Préparation des échantillons et des dilutions décimales**

Les échantillons du lait ont été mélangé soigneusement afin d'assurer une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes en retournant rapidement 25 fois le récipient contenant l'échantillon.

Ensuite 1 ml du lait cru a été prélevé avec une pipette stérile, et ajouté à une quantité neuf fois égale de diluant peptone-sel. Cette première dilution a été agitée en utilisant un agitateur vortex pendant 5 secondes à 10 secondes. Pour obtenir une dilution  $10^{-1}$ . Les dilutions décimales ont été poursuivies en utilisant chaque fois une nouvelle pipette pour passer d'une dilution à l'autre. (NF EN ISO 6887-5, 2010)

#### **I.2.3.2. Dénombrement des germes totaux à 30°C**

Le dénombrement a été performé selon la norme française (NF EN ISO 4833-2, 2013)

A l'aide d'une pipette stérile 1 ml de chaque dilution a été ensemencé dans les boîtes de Pétri. Ensuite dans chaque boîte un volume de 10 à 12 ml du milieu PCA au lait écrémé fondu et refroidi à une température de 45 à 47 C° a été versé et immédiatement mélangé par cinq mouvements de va-et-vient, suivis de cinq mouvements circulaires dans le sens des aiguilles d'une montre suivis de cinq mouvements de va-et-vient exécutés perpendiculairement aux premiers et suivis enfin de cinq mouvements circulaires dans le sens contraire des aiguilles d'une montre. Après les boîtes ont été laissées jusqu'à la solidification du milieu

Les boîtes ont été mises à incuber, leur fond étant tourné vers le haut à 30°C pendant 72 heures. (NF EN ISO 4833-2, 2013)

Expression des résultats :

Le dénombrement permet de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivants :

- Pour exprimer les résultats, on tient compte uniquement des boîtes dans lesquelles se sont développées de 20 à 300 colonies.
- La moyenne arithmétique a été calculée à partir des chiffres obtenus dans les boîtes ensemencées avec la même dilution.
- Le nombre trouvé a été multiplié par l'inverse de sa dilution,

- La moyenne arithmétique des colonies a été faite entre les différentes dilutions.

### **I.2.3.3. Dénombrement de la flore psychrotrophe**

Le dénombrement de la flore psychrotrophe a été effectué selon la norme Afnor (NF ISO 17410, 2001)

A l'aide d'une pipette stérile 1 ml de chaque dilution a été ensemencé dans les boîtes de Pétri. Ensuite dans chaque boîte un volume de 10 à 12 ml du milieu PCA au lait écrémé fondu, refroidi à une température de 45 à 47 °C a été versé et immédiatement mélangé par cinq mouvements de va-et-vient, suivis de cinq mouvements circulaires dans le sens des aiguilles d'une montre suivis de cinq mouvements de va-et-vient exécutés perpendiculairement aux premiers et suivis enfin de cinq mouvements circulaires dans le sens contraire des aiguilles d'une montre. Après les boîtes ont été laissées jusqu'à la solidification du milieu.

Les boîtes ont été mises à incuber, leur fond étant tourné vers le haut à 6,5°C pendant 10 jours. (NF ISO 17410, 2001)

### **I.2.3.4. Dénombrement des coliformes totaux**

Le comptage des coliformes totaux a été effectué selon la norme Afnor (NF ISO 4832, 2006).

A l'aide d'une pipette stérile, 1ml de la suspension mère ou de chaque dilution décimale a été transférée dans la boîte de Pétri vide, puis environ 15 ml du milieu VRBL refroidi au bain d'eau à une température comprise entre 44 °C et 47 °C a été coulé dans chaque boîte de Pétri. Ensuite l'inoculum a été mélangé soigneusement au milieu de culture et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface froide et horizontale. Après solidification du mélange, une couche d'environ 5 ml de milieu VRBL a été ajoutée puis laissée se solidifier.

Les boîtes ainsi préparées ont été retournées (couvercle en dessous) et incubées durant 24 h ± 2 h à 37°C .

Après la période d'incubation, les boîtes de Pétri ayant, si possible, un nombre compris entre 10 et 150 colonies ont été sélectionnées.



Les colonies violacées ayant un diamètre minimal de 0,5 mm (parfois entourées d'une zone rougeâtre) ont été considérées comme des colonies typiques de coliformes et ne nécessitent pas de confirmation. (NF ISO 4832, 2006).

Le nombre N de coliformes totaux par millilitre a été calculé, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum^c}{v \times 1,1 \times d}$$

Où :

$\sum^c$  : la somme des colonies caractéristiques comptées sur les deux boîtes retenues ;

v : le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitre ;

d : le taux de dilution correspondant à la première dilution comptée.

#### **I.2.3.5. Dénombrement des coliformes thermotolérants**

Le comptage des coliformes thermotolérants a été effectué selon la norme Afnor (NF V08-060, 2009).

A l'aide d'une pipette stérile 1ml de la suspension mère ou de chaque dilution décimale a été transférée dans les boîtes de Pétri vides, puis environ 15 ml du milieu VRBL refroidi au bain d'eau à une température comprise entre 44 °C et 47 °C a été coulé dans chaque boîte de Pétri. Ensuite l'inoculum a été mélangé soigneusement au milieu de culture et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface froide et horizontale. Après solidification du mélange, une couche d'environ 5 ml de milieu VRBL a été ajoutée puis laissé se solidifier.

Les boîtes ainsi préparées ont été retourné (couvercle en dessous) et les incubé durant 24 h ± 2 h à 44 °C .

Après 24 h d'incubation, les colonies caractéristiques sont violacées, d'un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm et parfois entourées d'une zone rougeâtre. (NF V08-060, 2009).

Expression des résultats :

Les boîtes contenant moins de 150 colonies caractéristiques au niveau des deux dilutions successives ont été retenues.

Le nombre  $N$  de coliformes thermotolérants par millilitre a été calculé, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma^c}{v \times 1,1 \times d}$$

Où :

$\Sigma^c$  : la somme des colonies caractéristiques comptées sur deux boîtes retenues ;

$v$  : le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitre ;

$d$  : le taux de dilution correspondant à la première dilution comptée.

#### **I.2.3.6. Dénombrement des staphylocoques à coagulase positive**

Au moment de l'emploi, 0,25 ml de la solution de tellurite de potassium et 7,5 ml de solution de fibrinogène bovin et 2,5 ml de solution de plasma de lapin et d'inhibiteur de trypsine ont été ajoutés aseptiquement au flacon contenant 90ml du milieu Baird Parker fondu à 48°C , après chaque addition, le milieu a été mélangé soigneusement par rotation, afin de minimiser la formation de mousse. **(NF EN ISO 6888-1)**

A l'aide d'une pipette stérile 1 ml de suspension mère ou de dilution décimale a été transféré dans des boites de Pétri vides. **(NF EN ISO 6888-1)**

Dans la boîte de Pétri le milieu complet utilisé a été coulé de façon à obtenir une épaisseur d'environ 3 mm. L'inoculum a été mélangé soigneusement au milieu de culture et laissé se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface fraîche et horizontale.

Après solidification complète, les boîtes ainsi préparées ont été retournées et incubées à 35°C ou 37°C pendant 18 h à 24 h. **(NF EN ISO 6888-1)**

Après une période d'incubation, les staphylocoques forment de petites colonies noires ou grises ou même blanches, entourées d'un halo de précipitation indiquant une activité de coagulase. **(NF EN ISO 6888-1)**

Expression des résultats :

$$N = \frac{\Sigma c}{V(n_1 + 0,1 n_2) d}$$

Où :

$\Sigma c$  : Somme des colonies de staphylocoques caractéristiques sur l'ensemble des boîtes retenues ;

V : Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

$n_1$  : Nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

$n_2$  : Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue

### **I.2.3.7. Dénombrement des streptocoques fécaux**

La recherche des streptocoques fécaux ou streptocoques du groupe « D » de la classification de Lancfield, a été faite en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable (N P P). Cette technique fait appel à deux tests consécutivement à savoir :

#### **Test de présomption**

Une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe à raison de trois tubes par dilution a été préparée. A partir de chaque dilution décimale, 1 ml d'inoculum a été transféré dans chacun des trois correspondants à une dilution donnée. L'inoculum a été bien mélangé dans le milieu à l'aide d'un vortex.

L'incubation a été faite à 37°C pendant 24 à 48 heures. (Maury, 1987).

Après incubation les tubes présentant un trouble microbien ont été considérés comme positifs, Aucun dénombrement n'a été fait à ce stade, les tubes positifs font l'objet d'un repiquage. (Maury, 1987).

#### **Test de confirmation**

Chaque tube de Rothe positif a fait donc l'objet d'un repiquage par strie à l'aide d'une anse bouclée sur la gélose BEA. L'incubation a été faite à 37°C pendant 24h. (Maury, 1987).

Après incubation les boîtes présentent des colonies noir (Maury, 1987).

#### Expression des résultats :

Le nombre de streptocoques fécaux est exprimé par le NPP selon la table de Mac Grady.

#### I.2.3.8. Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfite réducteurs

Le dénombrement des *Clostridium* sulfite-réducteurs a été réalisé selon la norme Afnor (NF V08-061, 2008) en utilisant de la gélose Tryptone-Sulfite-Cyclosérine (gélose TSC).

Pour dénombrer les *Clostridium* sulfite-réducteurs, une aliquote de lait placée dans un tube stérile a été préchauffée pendant 10 min à 80°C et refroidie dans de la glace fondante pour détruire les formes végétatives et activer les spores. A partir de ces conditions, 1 ml de chaque dilution a été placé aseptiquement dans des tubes à vis stériles. Environ 20 ml de l'agar TSC fondu et refroidie à 45°C a été ajouté, les tubes ont été laissés sur la paillasse pendant 30 min puis une couche de l'huile de paraffine a été ajoutée, les cultures ont été incubées en anaérobiose à 46°C pendant 24 ± 2 heures. (NF V08-061, 2008)

Après la période d'incubation les colonies des Anaérobies sulfite réducteurs apparaissent de couleur noire. (NF V08-061, 2008)

#### Expression des résultats :

- trouver la moyenne arithmétique des colonies pour chaque dilution,
- multiplier les nombres trouvés par l'inverse de la dilution correspondante,
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies des deux dilutions.

#### I.2.3.9. Dénombrement des salmonelles

Le dénombrement des salmonelles a été réalisé selon la norme Afnor (NF EN ISO 6785, 2008)

En général, la recherche de *Salmonella* nécessite 4 phases successives comme indiqué.

- Pré-enrichissement : 25ml du lait a étéensemencé dans l'eau peptonée puis incubé à 37°C pendant 16 à 20 heures.
- Enrichissement : 0,1 ml de la culture résultante a étéensemencée dans le bouillon Rappaport Vassiliadis et 2 ml dans le bouillon Muller-Kauffmann au Tétrathionate-

novobiocine , l'incubation a été faite à 41,5°C et à 37°C respectivement pendant 24h

- Isolement : deux milieux d'isolement ont été utilisés, la gélose xylose lysine désoxycolate et la gélose au vert brillant dans lesquels 0,1 ml de culture résultantes ont été inoculées, puis l'incubation a été faite à 37°C pendant 24h
- Confirmation : les colonies présumées de *Salmonella* isolées ont été confirmées au moyen des essais biochimiques appropriés. (NF EN ISO 6785, 2008)

#### **I.2.3.10. Dénombrement des levures et moisissures**

Les comptages de levures et de moisissures ont été effectués conformément à la norme Afnor (NF ISO 21527, 2008)

Au moment de l'emploi 10 ml de la solution de chlorhydrate d'oxytétracycline a été ajoutée aseptiquement à 90 ml du milieu OGA fondu et refroidi à 45 °C.

A l'aide d'une pipette stérile 1ml de la suspension mère ou de chaque dilution décimale a été transféré dans des boîtes de Pétri vides, puis environ 15 ml du milieu gélosé OGA refroidi au bain d'eau à une température comprise entre 44 °C et 47 °C a été couler dans chaque boîte de Pétri. Ensuite l'inoculum a été mélangé soigneusement au milieu deculture et laissé le mélange se solidifier en posant lesboîtes de Pétri sur une surface froide et horizontale

Après solidification complète, les boîtes ainsi préparées ont été retournées et incubées à 25° C ou 37° C pendant 5 jours

Après incubation les colonies dans chaque boîte, ont été comptées à l'exception de la colonie bactérienne, qui pourrait se développer éventuellement. (NF ISO 21527, 2008)

#### **Expression des résultats :**

Seules les boîtes contenant entre 10 et 150 colonies au maximum ont été retenu.

Si des parties des boîtes sont envahies par des moisissures ou s'il est difficile de compter les colonies bien isolées, compter les colonies dans des boîtes à la dilution suivante plus élevée. (NF ISO 21527, 2008)

### I. 3. Recherche et isolement des bactéries lactiques

#### I.3.1. Isolement des bactéries lactiques à partir du lait de chamelle

Les bactéries lactiques ont été isolées à partir des échantillons de lait de chamelle fermenté à 30°C pendant quelques jours

Des dilutions décimales successive ont été réalisées dans l'eau physiologiques stérile (9ml) jusqu'à une dilution de l'ordre  $10^{-9}$ , 1ml prélevé à partir de chaque dilution ( $10^{-4}$ ,  $10^{-9}$ ) de l'échantillon à analyser a été inoculé en trois exemplaires sur

- une gélose M17 pour l'isolement des *Streptococcus* ;
- une gélose MRS (Man, Rogosa et Sharp) acidifiée pour l'isolement des *Lactobacillus* et *Pediococcus* (De Man et al., 1960) ;
- un milieu gélosé hypersaccharosé pour l'isolement des *Leuconostoc* (Mayeux et al., 1962).
- Un milieu de gélose Elliker pour l'isolement des *Lactococcus* (Elliker et al., 1956)

Tous les milieux ont été additionnés du  $\text{CaCO}_3$  (5g /l) .

Les boites ont été incubées pendant 72 h à 30 °C dans des conditions d'anaérobiose.

Après incubation, 10% des différents types des colonies apparaissent principalement entourées par un halo clair ont été sélectionnées et repiquées dans les Bouillons MRS, M17, Elliker et MSE puis incubés à 30°C pendant 24h.

#### I.3.2. Purification

La purification a été effectuée par repiquage successif sur la surface de gélose des milieux cités précédemment jusqu'à l'obtention des colonies de même taille, même forme et même couleur renseignant sur la pureté des souches. (Karam et Karam , 1994)

#### I.3.3. Pré-identification des souches

Les colonies isolées subissent deux tests, le premier est la coloration de Gram suivi d'une observation microscopique alors que le deuxième est la recherche de l'enzyme catalase. (Gibson et abd el Malek., 1945)

### **I.3.3.1. Coloration de Gram**

La coloration de Gram a été utilisée pour classer les bactéries selon leur Gram et leur morphologie sous microscope optique.

### **I.3.3.2. Recherche de catalase**

À l'aide d'une anse d'inoculation stérile, une colonie bien isolée d'une culture pure (18 à 24 heures d'incubation) a été prélevée et placée sur la lame de microscope stérile. Puis à l'aide d'un compte-gouttes, une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10v a été déposée sur la colonie.

L'apparition de bulles confirme la présence d'une catalase chez la bactérie étudiée et celle-ci est dite catalase positive et le contraire indique l'absence de catalase.

Seuls les isolats catalase négatifs et Gram positifs ont été retenus pour une identification. **(Duke et Jarvis, 1972)**

### **I.3.4. Caractérisation des isolats**

Les critères physiologiques et biochimiques sont basés sur les tests suivants :

#### **I.3.4.1. Croissance à différentes températures**

Ce test permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries thermophiles.

Des tubes à essais contenant le bouillon MRS ont été inoculés et incubés aux températures suivantes : 10°C, 37°C et 45°C pendant 24 heures **(Schillinger et Luck., 1987)**.

#### **I.3.4.2. Croissances à différents pH**

Ce test permet de différencier entre les souches qui croissent dans un milieu acide ou alcalin. Le bouillon MRS a été préparé avec différents pH : 3, 3.5, 4.5, 5.4, 9.6. Puis une colonie jeune a été introduite dans les bouillons préparés, ensuite l'incubation a été faite à 30° C pendant 24 heures **(Carr et al., 2002)**.

#### I.3.4.3. Culture sur milieu hypersalés

La croissance en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl) permet de différencier entre les genres *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Enterococcus* (Stiles et Holzapfel, 1997).

Les cultures jeunes ont étéensemencées sur des bouillons MRS hypersalés à 4 % et 6.5 % de NaCl. Ensuite l'incubation a été faite à 30°C pendant 24h à 72h. (Carr et al., 2002).

#### I.3.4.4. Recherche de l'Arginine dihydrolase (ADH)

Le bouillon M16DCP a étéensemencé par une culture jeune à étudiée, la souche étudiée doit d'abord utiliser le glucose présent pour faire chuter le pH. Ceci est indiqué par un passage du violet au jaune au cours des 24 premières heures d'incubation. Une fois le milieu acidifié, l'enzyme arginine dihydrolase est activée. La culture a été incubée pendant 24 heures supplémentaires à 30°C pour permettre au microbe d'utiliser l'arginine. Les résultats finaux ont été ensuite observés. Le passage du jaune au violet indique un test positif pour l'arginine dihydrolase. Le fait de ne pas redevenir violet à 48 heures indique un résultat négatif (Thomas, 1973).

#### I.3.4.5. Recherche de type fermentaire

La différence des types de fermentation, homo- et hétéro-types, est l'une des clés les plus importantes pour classer le genre de bactéries lactiques.

La mise en évidence de la production du CO<sub>2</sub> à partir du glucose a été faite sur bouillon MRS contenant au préalable une cloche de Durham.

Après inoculation avec de la souche testée et incubation à 30°C pendant 24 heures, le développement d'une souche hétérofermentaire se traduit par l'apparition du gaz dans la cloche du Durham, qui est absent chez les homofermentaires (Gibson et Abd el Malek., 1945).



#### I.3.4.6. Test du lait de Sherman

Ce test montre l'aptitude des bactéries à croître en présence de bleu de méthylène à différentes concentrations.

Des tubes à essais contenant du lait écrémé stérile au bleu de méthylène à 0,1% et à 0,3% ont été inoculés avec des cultures jeunes à tester. Après une incubation à 30°C pendant 24h à 48heures, les observations relatives à la réduction de bleu de méthylène et la coagulation du lait ont été notées. (Joffin et Leyral , 1996)

#### I.3.4.7. Test d'hémolyse

Le caractère hémolytique a été recherché par ensemencement en stries de la gélose au sang additionnée de 5% de sang défibriné stérile préalablement réchauffé à température ambiante.

Après incubation pendant une période de 24h à 30°C, le type d'hémolyse a été examiné :

- alpha- hémolytique ( $\alpha$ ) si une décoloration verte ou brune du milieu entoure la colonie.
- bêta-hémolytique ( $\beta$ ) si une zone claire, se rapprochant de la couleur et de la transparence du milieu de base, entoure la colonie.
- Gamma- hémolytique ( $\gamma$ ) : qui indique l'absence d'hémolyse. Il ne doit pas y avoir de réaction dans le milieu environnant.(Maragkoudakis et al., 2006).

#### I.3.4.8. Recherche de gélatinase

Des tubes contenant la gélatine nutritive ont été inoculés avec une culture à tester puis incubés à 30°C avec un tube de gélatine nutritive non inoculé qui a servi de témoin pendant 48h.

Pour examiner l'hydrolyse, les tubes ont été refroidis dans de l'eau glacée.

Le tube témoin et les tubes dans lesquels aucune hydrolyse n'a eu lieu se solidifieront, la gélatine hydrolysée restera fluide (Prakash, 2010).

### I.3.4.9. Fermentation des hydrates de carbonés

Il s'agit d'apprécier l'aptitude des souches à métaboliser divers substrats carbonés en particulier les sucres. Ce test a été réalisé en galeries API20 STREP pour identifier les genres *Enterococcus* et *Streptococcus* par conséquent pour les Lactobacilles le test a été réalisé en galeries classiques.

#### I.3.4.9.1. La galerie classique

Des tubes sur bouillon MRS sans extrait de viande et sans citrate (MRSc-ev) sont additionnés d'un indicateur de pH (pourpre de bromocrésol à 0.05 g/l), le glucose du milieu MRS est remplacé par l'hydrate de carbone à tester (Leveau et al., 1991)

Les solutions de sucres (mannitol, dextrine, raffinose, xylose, maltose, galactose, fructose, inositol, rhamnose, glucose, lactose, saccharose, arabinose) ont été stérilisées par filtration après ils ont été introduit dans le milieu avec une concentration finale de 3%.

Une culture bactérienne de 24h a été centrifugée à 3000 tr/min pendant 10min, le culot a été rincé 2 fois à l'eau physiologique stérile, une suspension est réalisé avec l'eau physiologique. 0,1 ml de cette suspension estensemencé dans 2ml du MRSc-ev-BCP-sucres recouvrir avec une couche mince d'huile de paraffine stérilisé (Samelis et al., 1994).

Après incubation pendant 48h à 72h le développement de la culture et le virage au jaune de l'indicateur coloré dû à l'acidification du milieu traduit la fermentation du sucre.

#### I.3.4.9.2. La galerie API 20 Strep

Les galeries API20 Strep (Biomérieux, REF , France) permettent une identification des bactéries lactiques au niveau de l' espèce et même parfois de la sous-espèce sur la base de la fermentation de 20 substrats différents.

Premièrement l'inoculum de la galerie a été préparé en cultivant les bactéries sur le bouillon MRS Après 24 h d'incubation, la culture a été récupérée par centrifugation à 3100 tr/mn pendant 10 mn, le culot a été rincé 2 fois à l'eau physiologique stérile.

La galerie est constituée d'une seule bande comprenant 20 tubes numérotés. Sa boîte d'incubation a été préparée en inscrivant la référence de la souche sur la languette latérale puis environ 10 ml d'eau distillée a été répartie dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide.

Après faire sortir la bande de leur emballage, et la déposer dans le fond de la boîte d'incubation, la galerie a été inoculée par la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette stérile au niveau des 20 tubes de la galerie. Après inoculation les cupules ont été remplies avec de l'huile de paraffine stérile.

L'incubation de la galerie a été faite à 30°C pendant 24h .Après la période d'incubation, la fermentation des substrats est indiquée par une couleur jaune exceptée pour l'esculine (brun foncé). Les résultats ont été lus à 24 h et vérifiés après 48 h d'incubation.

L'interprétation des résultats a été faite par le logiciel Api Web (BioMérieux) pour identifier les bactéries lactiques.

### **I.3.5. Identification moléculaire**

Cinq isolats précédemment caractérisés ont été envoyés à un laboratoire privé « Gene Life Sciences, Sidi Belabbas, Algérie », pour effectuer une identification moléculaire. Le séquençage des gènes a été fait selon la technique Sanger.

Le séquençage de Sanger comporte trois étapes principales.

Les séquences du gène de l'ARNr 16S des isolats ont été amplifiées à l'aide d'amorces universelles 27F 5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3') comme amorce avant et 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') comme amorce inverse.

- Les réactions PCR ont été réalisées avec le kit Master Mix et l'enzyme Taq DNA Polymerase Platinum (Invitrogen, Waltham, USA), en triple exemplaire, avec les conditions d'amplification suivantes :

i) PCR 1 : dénaturation initiale à 95 °C pendant 5 min, 25 cycles de dénaturation à 95 °C pendant 45 s, recuit à 55 °C pendant 30 s et 72 °C pendant 45 s, et extension finale à 72 °C pendant 2 min;

ii) PCR 2 : 95 °C pendant 5 min, 10 cycles de 95 °C pendant 45 s, 66 °C pendant 30 s et 72 °C pendant 45 s, et extension finale de 72 °C pendant 2 min.

Les produits PCR ont été purifiés à l'aide d'un kit commercial de purification de l'ADN (AMPureXP®, Indianapolis, États-Unis) et séquencés dans l'équipement du système de séquençage MiSeq (Illumina Inc., San Diego, États-Unis).

#### **- Séparation des fragments par électrophorèse capillaire sur gel**

Dans la deuxième étape, les segments d'ADN ont subi l'électrophorèse en gel. Celle-ci permet de séparer les fragments d'ADN de différentes longueurs.

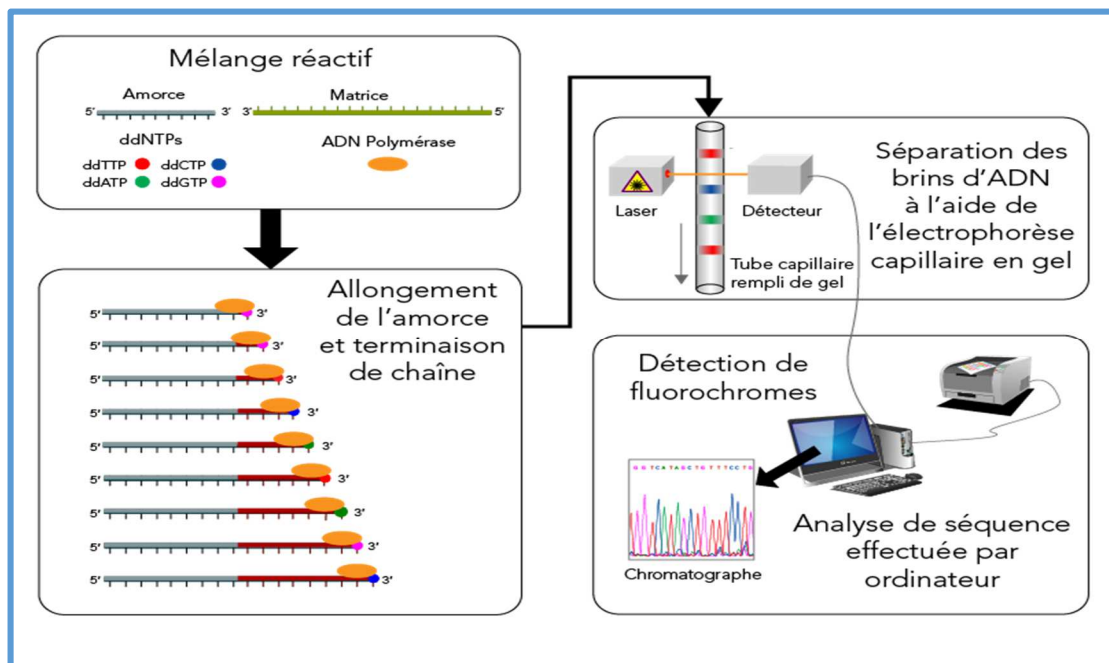
Pour ce faire les fragments d'ADN ont été ajoutés à un excipient de gel, puis y faire passer un courant électrique. Cela fait en sorte que les segments s'alignent dans le gel en fonction de leur taille. Lorsque les fragments ont fini de se déplacer, le gel a été examiné à l'aide d'une lumière UV. Ainsi, chaque segment devient visible.

#### **- Analyse sur gel et détermination de la séquence d'ADN**

La dernière étape consiste simplement à lire le gel pour déterminer la séquence de l'ADN d'entrée. Étant donné que l'ADN polymérase ne synthétise l'ADN que dans la direction 5' à 3' à partir d'un amorce fourni, chaque ddNTP terminal correspondra à un nucléotide spécifique dans la séquence originale (par exemple, le fragment le plus court doit se terminer au premier nucléotide à partir de l'extrémité 5', le deuxième fragment le plus court doit se terminer au deuxième nucléotide de l'extrémité 5', etc.) Par conséquent, en lisant les bandes de gel de la plus petite à la plus grande, nous pouvons déterminer la séquence de 5' à 3' du brin d'ADN d'origine

Dans le séquençage automatisé de Sanger, un ordinateur lit chaque bande du gel capillaire, dans l'ordre, en utilisant la fluorescence pour appeler l'identité de chaque terminal ddNTP. En bref, un laser excite les étiquettes fluorescentes dans chaque bande

et un ordinateur détecte la lumière émise par le résultat. Étant donné que chacun des quatre ddNTP est étiqueté avec une étiquette fluorescente différente, la lumière émise peut être directement liée à l'identité du ddNTP terminal. La sortie est appelée chromatogramme, qui montre le pic fluorescent de chaque nucléotide le long de l'ADN modèle



**Figure 08:** Séquençage de l'ADN à l'aide d'électrophorèse capillaire en gel  
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sanger-sequencing.svg>

#### I.4. Recherche de l'activité antifongique des bactéries lactiques isolées

##### I.4.1. Criblages des bactéries lactiques à caractère antifongique

###### I.4.1.1. Méthode de double couche

C'est une méthode qualitative qui permet d'évaluer l'activité antifongique des bactéries lactique sur la germination des spores

La bactérie lactique à tester a été inoculée en deux lignes de 2 cm sur la gélose MRS puis incubé à 30 ° C pendant 72h en anaérobiose. La boîte a été ensuite recouverte de 10 ml de milieu GYA (0,7%) additionné de 1 ml de suspension sporale (10<sup>6</sup>conidies/ml) d'*Aspergillus fumigatus*. Après 5 jours d'incubation à 25° C en aérobiose. (Magnusson et Schnurer ,2001).

La zone d'inhibition a été mesurée selon l'échelle suivante :

- - pas d'inhibition visible,
- + pas de croissance fongique sur 0,1-3% de la surface de la boîte / strie bactérienne
- ++ pas de croissance fongique sur 3-8% de la surface de la boîte / strie bactérienne,
- +++ pas de croissance fongique sur plus de 8% de la surface de la boîte / strie bactérienne.

Les tests d'inhibition ont été faits en double (**Magnusson et Schnurer ,2001**).

#### **I.4.1.2. Méthode de confrontation**

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antifongique des bactéries lactique sur la croissance mycélienne des souches fongiques.

Les souches lactiques ont étéensemencées jusqu'à couvrant la moitié de la surface de la gélose MRS et incubées dans des conditions optimales à 30 ° C pendant 48 h.

Un disque mycélien d' *A.fumigatus* a été déposé au centre de la surface libre de la gélose MRS , les boîtes ont été incubées en aérobie à 25 ° C pendant 5 jours. La boîte de Pétri avec croissance fongique sans inoculation bactérienne a servi de témoin (**Gerbaldo et al.,2012**) .

L'inhibition de la croissance fongique a été déterminée à la fin de l'incubation selon l'équation suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition} = \left(1 - \left(\frac{a}{b}\right)\right) \times 100$$

Où :

a = la croissance radiale de la colonie fongique sur le milieu avec bactérie lactique.

b = la croissance radial de la colonie fongique sur le milieu sans bactérie lactique.

#### **I.4.2. Test d'inhibition fongique sur milieu liquide**

Pour mettre en évidence l'activité antifongique sur milieu liquide, les cultures bactériennes ont été réalisées dans des flacons stériles de 250 ml contenant 50 ml de bouillon à extrait de levure et glucose (GYB). Le milieu a été ensuiteensemencé avec 0,1

ml de la suspension sporale ( $10^6$  spores/ml) *d'Aspergillus fumigatus*, 2 ml de culture bactérienne jeune de chaque souche de bactérie lactiques et avec 2 ml de bouillon MRS stérile (Gerbaldo et al.,2012) .

Un contrôle négatif contenant le milieu GYB avec la suspension sporale non inoculée par la culture bactérienne a été réalisé.

Les flacons ont été incubés pendant 5 jours à 25°C. Après incubation, les cultures ont été filtrées sur papier filtre, et la biomasse obtenue a été pesée après séchage (Gerbaldo et al.,2012) .

Le pourcentage d'inhibition de la croissance a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = (C_t - C_i / C_t) * 100$$

$C_t$ = le poids de la biomasse fongique sur le milieu liquide sans bactérie lactique.

$C_i$ = le poids de la biomasse fongique sur le milieu liquide avec bactérie lactique.

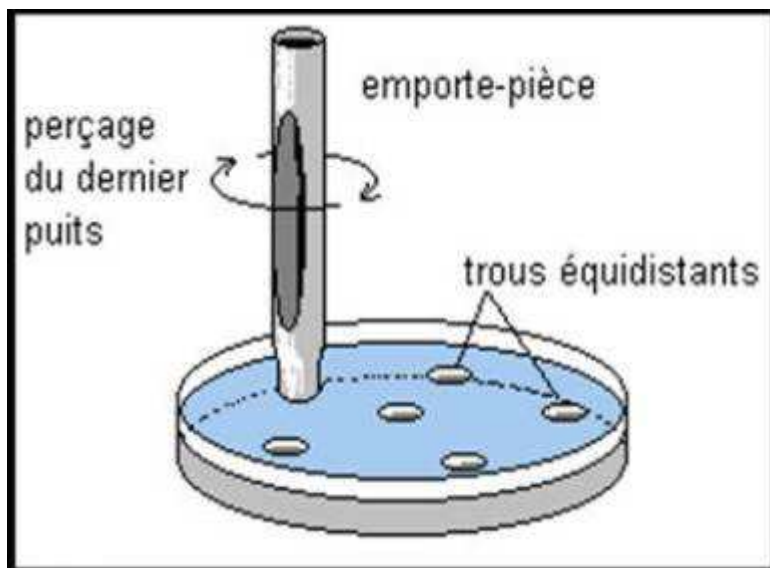
#### **I.4.3.Détermination de l'activité inhibitrice des surnageants acellulaires des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques ont été cultivées en bouillon MRS à 30°C. Après 5 jours d'incubation, les cellules ont été centrifugées à 8000 xg pendant 10 min.

Le surnageant acellulaire de chaque bactéries lactiques a été filtré à travers un filtre Millipore de 0,22  $\mu\text{m}$  (Muhialdin et Hassan, 2011)

Des puits de 8 mm de diamètre ont été réalisés sur la boîte de Pétri contenant 10 ml de la gélose blanche recouverte de 10 ml de GYA (gélose à 0,7 %) contenant 0,1 ml de suspension de spores uniques ( $10^6$  spores/ml) *d'Aspergillus fumigatus* ; puis 50  $\mu\text{l}$  de chaque surnageant acellulaire de bactérie lactique ont été distribués dans les puits et laissés se diffuser dans l'agar pendant 6 heures à 4°C (Muhialdin et Hassan, 2011)

L'inhibition de la zone a été évaluée autour de chaque puits après 5 jours d'incubation à 25°C (Muhialdin et Hassan, 2011)



**Figure 09:** Schéma du test de l'activité antifongique par la méthode des puits

URL : [http://www2.aclyon.fr/enseigne/biologie/ress/immuno/dif\\_imm.html](http://www2.aclyon.fr/enseigne/biologie/ress/immuno/dif_imm.html)

#### I.4.4. Détermination du spectre antifongique

Les souches lactiques à activité antifongique forte et moyenne ont été testées contre *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus Carbonarius*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus clavatus*, *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium greaminirum*, *Cladosporium sp*, *Alternaria alternata* isolées à partir du blé, café et pois-chiche par la méthode de confrontation et la méthode de double couche pour évaluer spectre d'inhibition. (Magnusson et Schnurer, 2001 ; Gerbaldo et al., 2012).

#### I.4.5. Observation de l'aspect microscopique des souches fongiques inhibées

Les critères microscopiques ont été considérés pour évaluer les changements morphologiques des souches fongiques inhibées.

Toutes les cultures fongiques inhibées par les bactéries lactiques révélant des changements macroscopiques, leurs aspects morphologiques ont été vérifiés.

L'examen microscopique a été effectué en prélevant un mycélium en périphérie de la colonie inhibée puis le mettre dans une gouttelette de bleu de lactophénol à 0,1 %, les préparations ont été examinées par microscopie optique.



#### I.4.6. Facteurs influençant l'activité antifongique

##### I.4.6.1. Activité antifongique à différente température d'incubation

Cinq isolats lactiques produisant des molécules antifongiques ont été cultivés à 30 ° C pendant 48 heures avant d'être sous-cultivés dans des aliquotes fraîches de 10 ml de bouillon MRS. Ceux-ci ont ensuite été incubés pendant 48 h à six températures différentes : 10°, 21°, 25°, 30°, 37° et 42°C. Les cultures ont été déposées sur gélose MRS et incubées pendant 72h en anaérobiose à des températures correspondant à leur incubation antérieure. Les boîtes ont ensuite été recouvertes d'*Aspergillus fumigatus* (10<sup>6</sup> spores/ml) dans de la gélose GYA (0,7%), à laquelle du chloramphénicol (Sigma) (10µg/ml) a été ajouté pour arrêter la croissance bactérienne et la production des métabolites antifongiques . Les boîtes ont été incubées pendant 5 jours à 30°C, puis examinées pour l'inhibition de la croissance fongique ( **Rouse et al., 2008**).

##### I.4.6.2. Activité antifongique à différents pH du milieu

Le bouillon MRS a été aliquoté et ajusté à une gamme de valeurs de pH allant de pH 4 à pH 8 en utilisant du HCl (2N) ou du NaOH (2N). Les cinq isolats de bactéries lactiques ont chacun été inoculés dans des milieux à chaque intervalle de pH et incubés pendant 48 h à 30°C avant d'être déposés sur la boîte de gélose MRS à pH ajusté correspondante. Les boîtes ont été recouvertes de gélose GYA (0,7%) ensemencé d'*Aspergillus fumigatus* et contenant du chloramphénicol comme mentionné précédemment (**Rouse et al., 2008**).

##### I.4.6.3. Activité antifongique à différentes source de carbone

Le BSM (bacteriocin screening medium; **Tichaczek et al. 1992**) a été utilisé pour tester si différents sucres, en tant que seule source de carbone et d'énergie, auraient un effet sur la capacité des souches à produire des composés antifongiques. Ce milieu de croissance contient les mêmes ingrédients que le MRS avec un pH fixé à 6.2 et différents sucres peuvent être testés. Les souches lactiques productrices d'antifongiques ont été inoculées dans un bouillon BSM contenant l'un des sucres suivants : glucose, maltose, saccharose, fructose, lactose, mannitol ou sorbitol. Après une incubation de 48 h, les quatre cultures ont été déposées sur de la gélose BSM contenant la source de carbone particulière dans laquelle elles avaient précédemment été cultivées. Les boîtes ont été incubées pendant 72h

à 30°C en anaérobiose avant d'être recouvertes d'*Aspergillus fumigatus* comme mentionné précédemment (Rouse et al., 2008).

### I.5. Caractérisation de l'activité antifongique

Les substances antifongiques produites par les bactéries lactiques ont été caractérisées en fonction de leur sensibilité aux changements de pH, de chaleur et d'enzyme protéase, et d'enzyme catalase.

#### I.5.1. Effet de la neutralisation du pH du surnageant acellulaire

L'effet du pH sur l'activité antifongique a été déterminé en neutralisant le pH du surnageant acellulaire des isolats lactiques à pH =7 avec 2N NaOH, le bouillon MRS stérile ajusté à la même valeur a été utilisé comme témoin (Oliveira et al., 2017)

L'évaluation de l'activité antifongique a été effectuée en utilisant la méthode des puits. (Muhialdin et Hassan, 2011)

#### I.5.2. Effet du traitement par catalase

Pour éliminer un éventuel effet inhibiteur dû au peroxyde d'hydrogène, le surnageant acellulaire a été traité avec de la catalase.

Une solution mère (1mg/ml) de catalase a été préparé dans un tampon Phosphate de Potassium 50mM pH 7, ensuite les aliquotes du surnageant acellulaire ont été incubées (1 :1 v/v) avec des solutions enzymatiques et leurs témoin à 37°C pendant 2 h dans des conditions aérobies (Oliveira et al., 2017). Après ces traitements, l'évaluation de l'activité antifongique a été effectuée en utilisant la méthode des puits. (Muhialdin et Hassan, 2011)

#### I.5.3. Effet du traitement par protéase

La sensibilité des substances antifongiques envers les enzymes protéolytiques a été testée, une solution mère (1 mg / ml) de pepsine a été préparée dans un tampon de glycine 50 mM ajouté à 20mM de Ca Cl<sub>2</sub> (pH 2). La protéase a été ajoutée à la concentration finale de 0,1 mg/ml avant l'incubation pendant 1 h à 37 °C ( Hadji-sfaxi et al., 2011)L'évaluation de l'activité antifongique de ce surnageant traité a été effectuée en utilisant la méthode des puits (Muhialdin et Hassan, 2011)

#### I.5.4. Effet du traitement thermique

Le surnageant acellulaire des six isolats produisant des molécules antifongiques a été soumis à un traitement thermique à 80°C pendant 1h dans un bain-marie et à 121°C pendant 15 min dans un autoclave. Les échantillons ont ensuite été laissés refroidir à température ambiante avant d'être testés. (Hadji-sfaxi et al., 2011) L'évaluation de l'activité antifongique de ce surnageant traité a été effectuée en utilisant la méthode des puits. (Muhialdin et Hassan, 2011)

#### I.6. Evaluation in situ de l'activité antifongique des surnageants acellulaires des bactéries lactiques

Les surnageants acellulaires des souches ont été testées pour leurs activités antifongiques sur la surface des grains de blé tendre, café vert et pois-chiche comme décrit par Mehl et Cotty (2013).

5 g de grains de blé tendre, de café vert et de pois-chiche ont été autoclavés deux fois dans des flacons puis co-inoculés avec 500 µL de 10<sup>6</sup> spores/mL d'espèces *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium digitatum* et avec 500 µL de surnageant obtenu à partir des isolats lactiques. Les flacons ont été doucement agités pour bien infecter les grains de blé, de café vert et de pois-chiche par les spores et surnageant, l'incubation a été faite à 30 ° C pendant 7 jours. Après l'incubation la croissance fongique a été évaluée.

#### I.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées en deux étapes complémentaires :

- Analyses descriptives pour le calcul des moyennes, des écarts-types, des maxima et des minima des paramètres étudiés.
- Ultérieurement, la comparaison des moyennes des paramètres physicochimiques et mycologiques entre grains de blé local et importé, entre pois-chiche local et importé et entre café vert arabica et robusta été réalisées par le test T. de Student.
- la comparaison des moyennes des paramètres microbiologiques et physicochimiques du lait de chamelle a été réalisée par le test Anova.

**Résultats**  
**et**  
**discussions**

La structure de ce chapitre résultats et discussions sera basée sur quatre parties.

- La première partie des résultats présentera l'isolement et l'identification des souches de champignons filamenteux à partir des échantillons prélevés et toutes les informations sur le pouvoir mycotoxinogène des souches cultivées,
- La deuxième présente les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques du lait de chamelle
- La troisième montre les résultats de l'isolement et la caractérisation des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle
- La quatrième détaille les résultats de l'activité antifongique des bactéries lactiques contre la croissance des isolats fongiques isolés du blé tendre, café vert et pois-chiche

## II.1. Résultats de l'analyse des denrées alimentaires stockées

### II.1.1. Résultats des mesures du pH et d'humidité

#### II.1.1.1 Mesure de pH

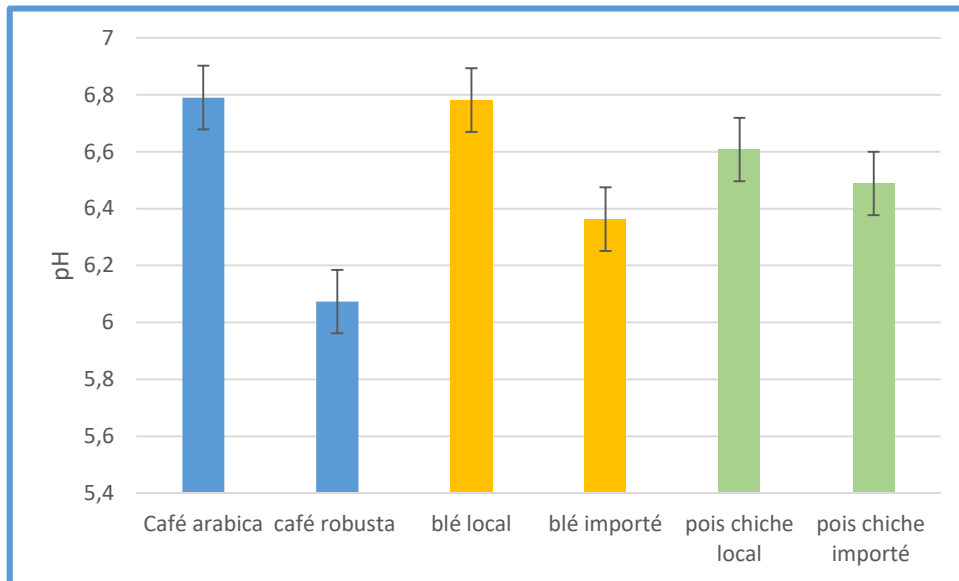
Les résultats de mesure de pH des différents échantillons analysés sont présentés sur la figure 10 qui indique que tous les échantillons ont un pH proche à la neutralité.

Le café arabica a une valeur moyenne de pH égale à  $6,79 \pm 0,12$  qui est significativement supérieure à celle du café robusta qui égale  $6,07 \pm 0,09$ .

Les résultats de mesure de pH obtenus pour les échantillons du café vert arabica sont supérieurs à ceux cités par **Ramalakshmi et al.(2007)** qui varient de 5,77 jusqu'à 6,10. Par contre les valeurs de pH du café vert robusta se rapprochent à celles citées par le même auteur.

Les valeurs moyennes du pH des différents échantillons du blé tendre, sont légèrement acides avec des valeurs moyennes  $6,36 \pm 0,14$  pour le blé tendre importé et  $6,78 \pm 0,08$  pour le blé tendre local. Cette différence entre les deux valeurs moyennes est significative ( $p < 0,05$ ).

La valeur moyenne du pH du blé local obtenue se rapproche à celle obtenue par **Gacem et al.(2011)** soit 6,60, par contre **Boulal et al.(2011)** ont cité des valeurs légèrement inférieurs qui varient de (6,42-6,41). D'une autre part la valeur moyenne de pH du blé tendre importé est légèrement inférieure à celle citée par **Gacem et al.(2011)** soit de 6,71.



**Figure 10:** valeurs moyennes de pH des différents échantillons analysés.

La valeur moyenne du pH du pois-chiche local est égale à  $6,60 \pm 0,16$  et celle du pois-chiche importé est égal à  $6,48 \pm 0,06$ . Cette différence est significative avec ( $P < 0,05$ ).

En général, le pH des produits céréaliers est proche de la neutralité. Cela peut être dû à l'effet tampon exercé par les protéines.

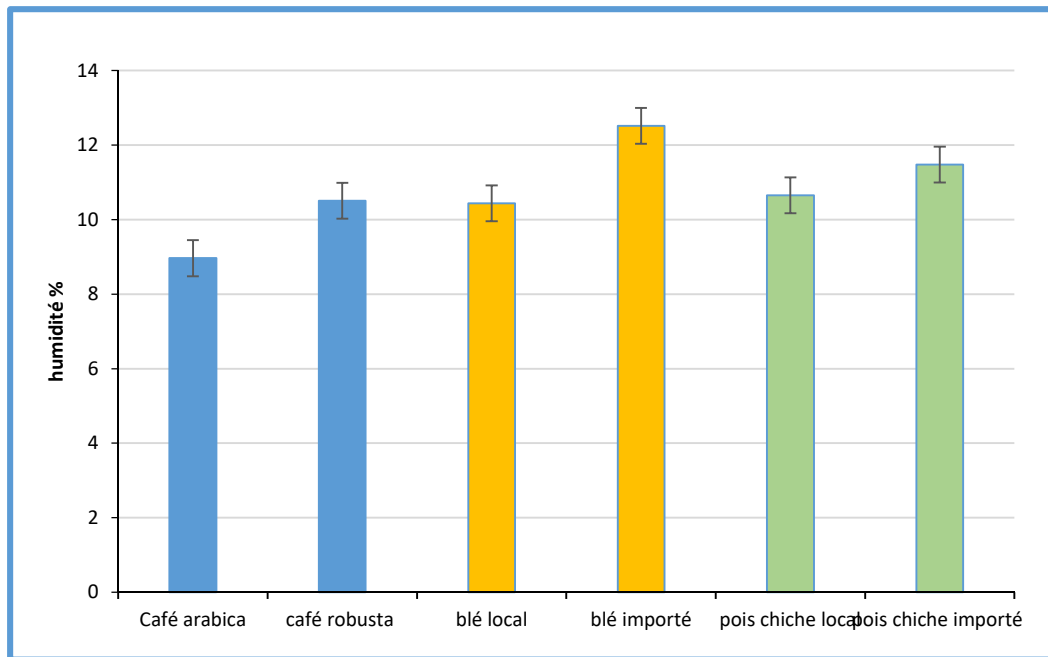
Selon Duron, les champignons peuvent se développer à des pH compris entre 3 et 8 avec un optimum de croissance compris entre 5 et 6, donc les échantillons de la présente étude constituent un milieu favorable pour le développement des champignons.

### II.1.1.2 Mesure de taux d'humidité

Le taux d'humidité est un paramètre d'une très grande importance qui conditionne le démarrage des manifestations microbiologiques. Il explique les différents comportements grains - microflore, il reflète les conditions de stockage et nous permet de connaître, la quantité d'eau présente dans l'échantillon.

Les résultats d'analyses concernant l'humidité illustrés sur la figure 11 révèlent que le café vert robusta possède une valeur moyenne d'humidité égale à  $10,50 \pm 0,22\%$ , alors que le café vert arabica a une humidité moyenne égale à  $8,98 \pm 0,53\%$ . La différence entre les deux échantillons est significative ( $p < 0,05$ ).

Ces valeurs sont inférieures à la norme algérienne fixée de 12,5%.



**Figure 11:** Résultats du taux d'humidité des différents échantillons analysés.

Le résultat obtenu concernant le café vert robusta se rapproche à celui cité par **Nemlinet al. (2009)** ( $10,97 \pm 0,62\%$ ) en Côte d'Ivoire par contre **Ramalakshmi et al. (2007)** ont cité des valeurs plus inférieures comprises entre  $6,51\%$  et  $7,04\%$ .

Le taux d'humidité est un paramètre important à contrôler dans le café vert car il gouverne les réactions de fermentation et de développement de moisissures durant le stockage et le transport des grains, qui peuvent entraîner le développement d'arômes indésirables ou la formation de mycotoxines, et donc altérer la qualité du café (**Reh et al., 2006**).

Le blé local a une humidité moyenne qui égale  $10,43 \pm 0,17\%$ , tandis que le blé importé a une valeur moyenne d'humidité égale à  $12,51 \pm 0,16\%$ . Cette différence entre les deux échantillons est significative ( $p < 0,05$ ).

Ces valeurs sont inférieures à la norme algérienne fixée à  $15,5\%$

Les valeurs obtenues concernant le blé local se rapprochent à celles rapportées par **Gacem et al. (2011)** soit  $10,23\%$ , cependant **Boulal et al. (2011)** ont rapporté des valeurs plus faibles (comprises entre  $6,12\%$  et  $7,12\%$ ), d'une autre part **Lanouari et al. (2015)** ont cité une valeur moyenne plus élevée égale à  $(14,60 \pm 0,04\%)$  dans le blé tendre Marocain.

La valeur moyenne d'humidité de blé importé obtenue est élevée à celle rapportée par **Gacem et al. (2011)** soit 11,57% .

D'une autre part le pois-chiche local a une valeur moyenne d'humidité égale à  $10,65 \pm 0,20\%$ , tandis que le pois-chiche importé a une valeur moyenne d'humidité égale à  $11,47 \pm 0,24\%$ . Cette différence est significative ( $p < 0,05$ ).

Les valeurs moyennes obtenues sont inférieures à la norme algérienne fixée à 15,5%. Ces valeurs obtenues sont supérieures à celles rapportées par **Tripathi et al. (2018)** soit (8,14%- 9,50%).

Le taux d'humidité élevé enregistré pour le blé tendre importé et le pois-chiche importé peut être dû au transport maritime des céréales et légumineuse d'importations et les conditions climatiques des pays d'exportation.

Les teneurs en humidité obtenus dans la présente étude permettent de classer nos échantillons dans la catégorie des produits peu hydratés ; avantage qui n'exclut pas leur contamination par une flore fongique xérotolérante prépondérante.

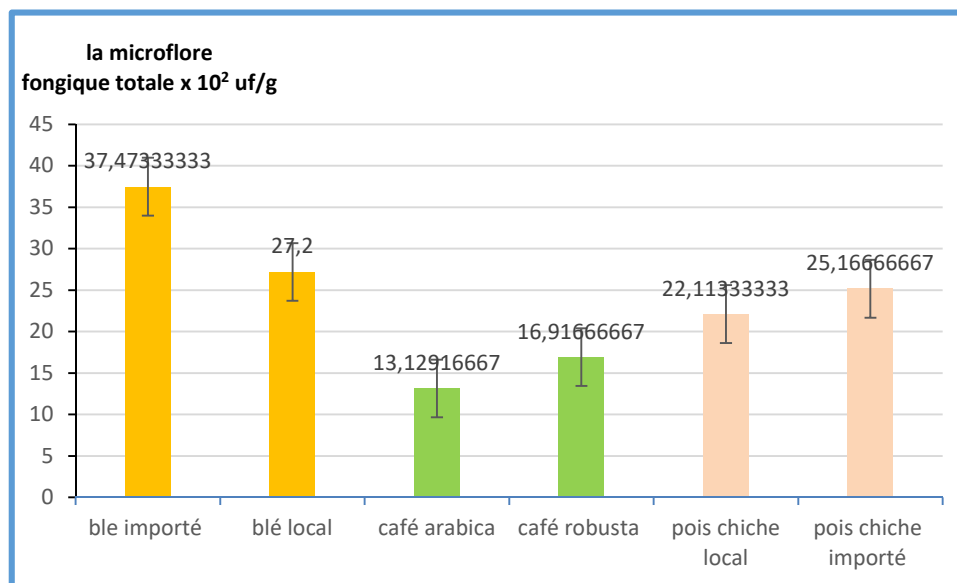
## II.1.2. Résultats de l'analyse mycologique

### II.1.2.1. Résultats de dénombrement de la flore fongique par la méthode de dilution

Les résultats illustrés sur la figure 12 indiquent des différences dans les taux de contamination selon les espèces de graine.

Le blé tendre importé et le blé tendre local possèdent la plus grande charge de point de vue quantitative et qualitative avec des taux de contaminations correspondant à  $37,43 \times 10^2$  et  $27,2 \times 10^2$  UFC/g respectivement. Ensuite le pois-chiche importé et local avec une charge fongique égale à  $25,16 \times 10^2$  UFC/g et  $22,11 \times 10^2$  UFC/g respectivement et après le café vert robusta avec un taux de contamination égal à  $16,91 \times 10^2$  UFC/g ; le café arabica est le moins contaminé avec une charge fongique égale à  $13,12 \times 10^2$  UFC/g.





**Figure 12:** taux de la microflore fongique totale présente dans les différents échantillons

Les résultats du taux de contamination du blé restent inférieurs à ceux rapportés par **Riba et al. (2010)** qui ont cité des taux de contamination fongique inférieurs pour le blé stocké qui varient de 275 UFC/g jusqu'à 1277 UFC/g. Cependant **Gacem et al.(2011)** ont rapporté une valeur supérieure à savoir (45,46x10<sup>2</sup> UFC/g).

D'une autre part les résultats du taux de contamination du café vert arabica et robusta sont en accord avec les résultats rapportés par **Viegas et al.(2017)** qui ont cité (1215 UFC/g et 1170 UFC/g) pour le café robusta et arabica respectivement, alors que **Noonim et al.(2008)** ont cité des valeurs supérieures pour le café vert arabica et robusta du Thailand à savoir (2,5x 10<sup>3</sup> et 1,8x 10<sup>3</sup> UFC/g), tandis que **Nogaim et al.(2013)** ont rapporté un taux inférieur égal à 6,17x10 UFC/g.

La différence de contamination fongique observée entre les deux variétés de blé tendre, du pois-chiche et entre le café arabica et robusta est significativement différente avec  $p < 0.05$ , cette différence peut être expliquée par la durée de stockage, l'origine des grains, la composition biochimique des grains et même les paramètres régulant la croissance fongique, on cite principalement la charge initiale en microflore, la présence de grains brisés, le taux d'humidité relative élevé, le pH et la température de stockage des grains.

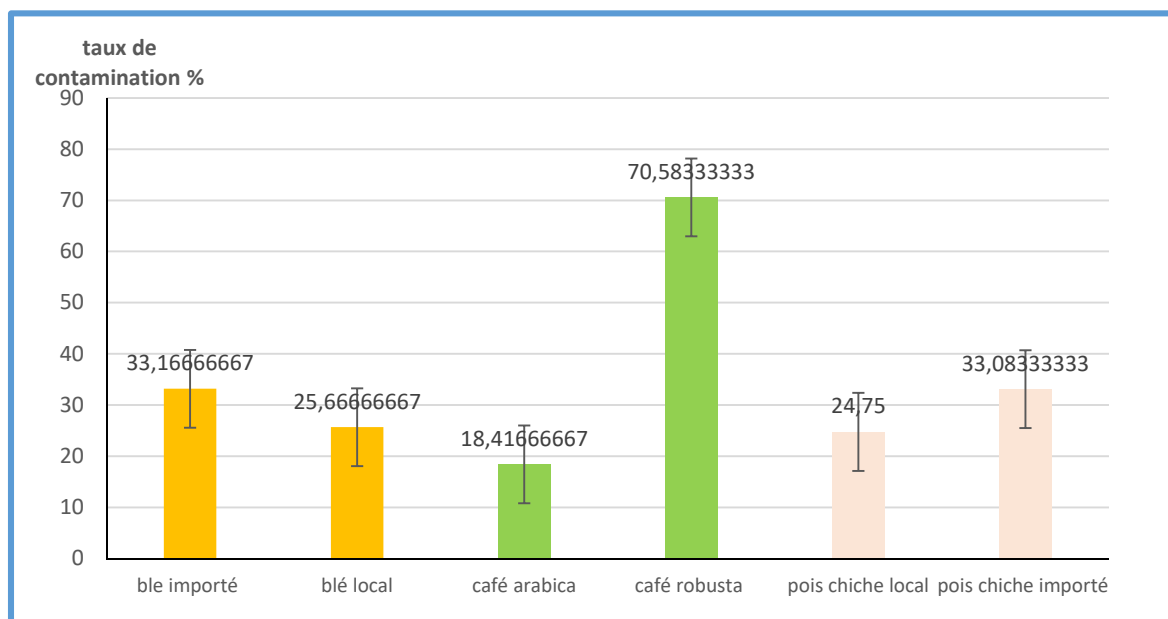
La flore fongique présente dans nos échantillon dépend de nombreux facteurs, tels que le climat, la sensibilité des grains, la manipulation post-récolte, l'infestation par les ravageurs, le séchage, le stockage, etc. Cependant, les pratiques culturelles telles que la lutte contre les maladies et les ravageurs et les bonnes pratiques agricoles avant et après récolte jouent également un rôle déterminant dans la contamination.

### II.1.2.2. Résultat de dénombrement de la flore fongique par la méthode directe

Les résultats de dénombrement de la flore fongique interne par la méthode directe sont illustrés dans la figure 13 qui montre que la contamination fongique globale des grains après désinfection était de 70,58% pour le café robusta et 18,41% pour le café arabica, 31,16% et 25,66%, pour le blé importé et local respectivement 33,08% et 24,75% pour le pois-chiche importé et local.

Toutes les différences trouvées entre le café robusta et arabica, le blé local et importé, le pois-chiche local et importé sont significatives avec  $p < 0.05$ .

Nos résultats des taux de contamination fongique après désinfection des grains se diffèrent à ceux rapportés par plusieurs auteurs : **Nogaim et al. (2013)** et **Alvandia et Guzman (2016)** ont annoncé des pourcentages de contamination supérieurs dans les graines du café arabica et robusta, **Javaid et Khan (2019)** ont rapporté des valeurs inférieures du taux de contamination des pois-chiche qui varient entre 4- 18%, **Jedidi et al. (2018)** ont cité un pourcentage de contamination fongique des grains de blé stockés inférieur correspond à  $25.38 \pm 5.01\%$



**Figure 13 :** Taux de contamination fongique interne dans les différents échantillons

Selon **Tucker et Talbot (2001)** la flore fongique interne des grains stockés provient d'une infection fongique qui commence par l'adhésion des conidies à la surface du grain, ceci est suivi par l'émergence du tube germinale et le développement d'un réseau hyphale qui

dégrade les barrière protectrice externe des grains par une activité des lipases et xylanases, ce qui donne un accès à endosperme des grains qui est une source des nutriments . La pénétration des hyphes jusqu'à l'endosperme des grains active la production des enzymes hydrauliques par le champignon provoquant la dégradation de l'amidon , des protéines et des polysaccharide ce qui conduit à la perte de la qualité nutritive et aux paramètres de la qualité technologiques des grains (**Schmidt et al.,2016**)

### II.1.2.3. Résultat de dénombrement des souches identifiées

L'utilisation du milieu DG18 a permis de révéler une diversité des souches fongiques chez les différents échantillons.

Les échantillons du blé tendre importé s'est révélés contaminés par différents genres de moisissures la figure 14 montre que *Penicillium* qui est le plus dominant avec un pourcentage égal à 47%. Le genre *Aspergillus* (représenté par trois espèces *A. flavus*, *A. niger* et *A. fumigatus*) contamine cet échantillon avec un pourcentage correspondant à 37%. Les genres *Fusarium* et *Alternaria* contaminent l'échantillon avec des pourcentages équivalants à 5% et 1%.

Presque les mêmes genres se sont révélés contaminants de l'échantillon de blé local dont le genre *Aspergillus* est le plus dominant 62% (figure 14) qui était représenté par cinq espèces : *A. fumigatus*, *A.niger*, *A. flavus* , *A.ustus* et *A.parasiticus* . Le genre *Penicillium* contamine cet échantillon avec 26%. Les genres *Cladosporium* , *Alternaria* et *Fusarium* contaminent l'échantillon du blé local avec des fréquences d'apparition correspondant à 9%, 2% et 1% respectivement

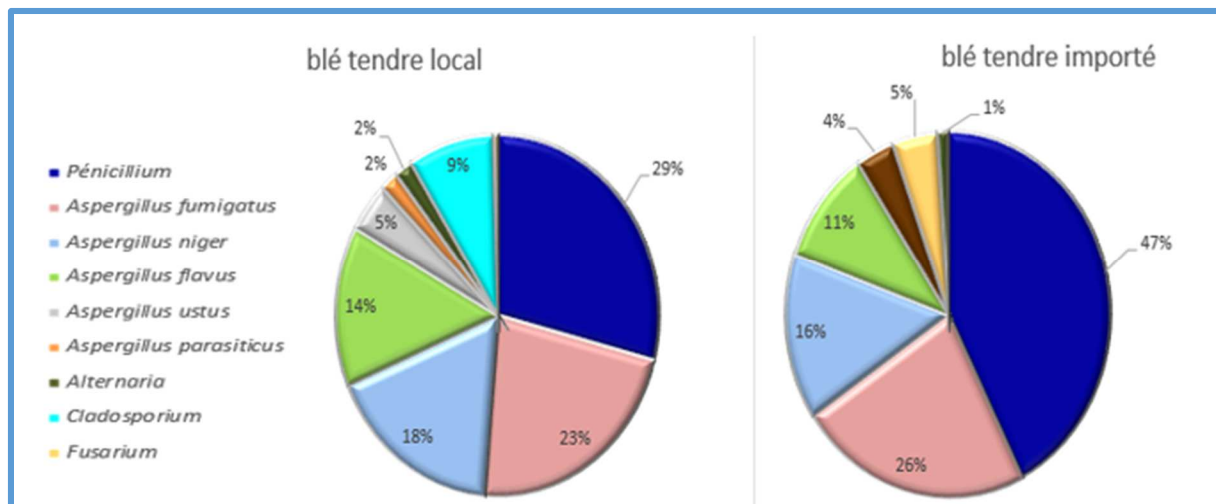
Du point de vue diversité des souches isolées, les mêmes genres ont été retrouvés dans les deux échantillons avec des proportions différentes. Les genres les plus dominants sont les *Aspergillus* et les *Penicillium*, ces deux genres prolifèrent principalement pendant le stockage sur des substrats dont l'humidité est assez basse (**Pitt et Miscamble,1995**).

Le taux de *Penicillium* est souvent élevé, probablement reflétant la croissance pendant la période de séchage

Selon **Riba et al.(2008)** le manque de ventilation couplé à une température élevée favorise la croissance des champignons dits xérotolérants , comme les *Aspergillus* et *Penicillium*

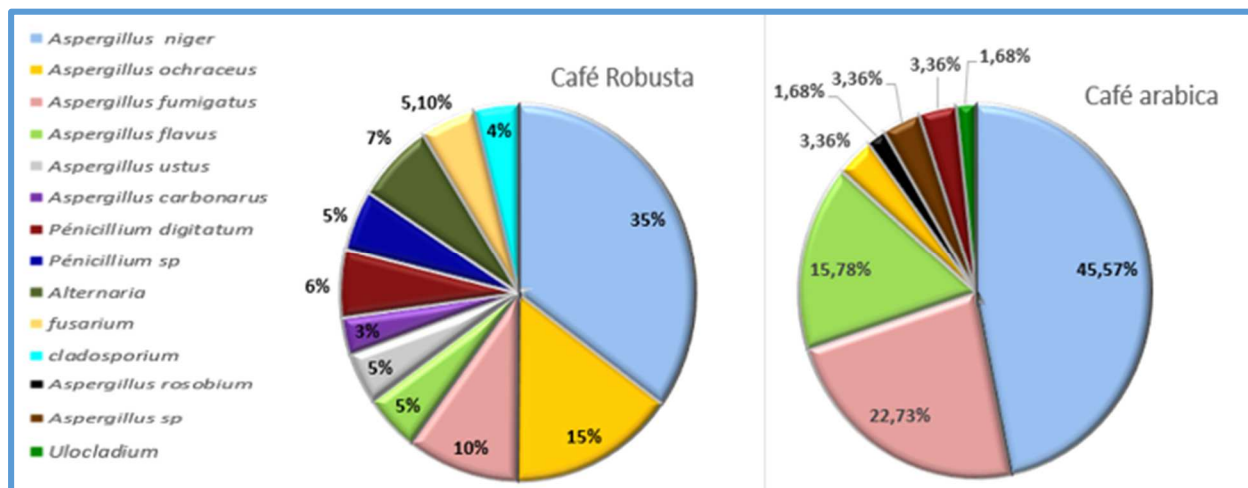
Ces résultats se concordent avec les travaux de **Tahani et Elamrani (2008)** ; **Gacem et al. (2011)**,qui avaient rapporté la dominance des souches appartenant à ces deux genres

Les genres *Cladosporium*, *Alternaria*, *Ulocladium* et *Fusarium* sont révélés sur les deux variétés de blé tendre appartiennent à la flore du champ et la flore intermédiaire. Pour le *Rhizopus*, il était est difficile de dénombrer ce genre à cause de son aspect cultural.



**Figure 14 :** Pourcentage des souches fongiques identifiées dans le blé tendre local et importé

Les résultats de biodiversité pour le café vert présentés sur la figure 15 ont montré une nette dominance du genre *Aspergillus* dans le café vert arabica et le café vert robusta avec un pourcentage égal à 95,43% et 73% respectivement qui était représenté par *A. niger* l'espèce la plus abondante et par *A. ochraceus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. carbonarius*, *A. fumigatus*



**Figure 15 :** Pourcentage des souches fongiques identifiées contaminant le café vert

Le genre *Penicillium* est relativement faible dans le café vert arabica par rapport au café robusta avec un pourcentage égal à 3,36% et 11% respectivement, le genre *Penicillium* était représenté par *P. digitatum*.

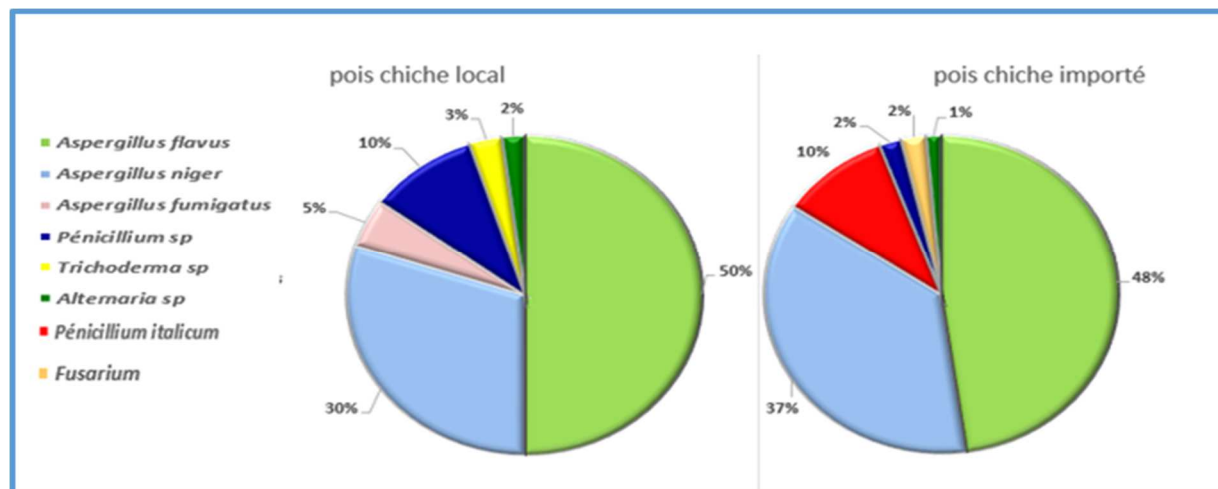
Les genre *Fusarium* ,*Ulocladium* , *Cladosporium* ont été retrouvé sur la variété du café vert avec une très faible fréquence d'apparition correspondant à 5 et 10%.

La microflore diversifiée présente dans les grains du café vert se classe en trois catégorie : mycoflore pathogène, mycoflore intermédiaire et mycoflore de stockage.

La flore fongique mise en évidence dans nos différents échantillons analysés est comparable à celle identifiées sur les grains de café depuis des années par plusieurs chercheurs notamment ( **Silva et al.,2000** ; **Urbano et al., 2001** ; **Noomin et al., 2008** ;**Nogaim et al., 2013**) en plus ils ont reporté que les *Aspergillus noir* sont des contaminants dominants dans l'échantillon du café vert Tailladai surtout l'*Aspergillus niger* qui est connu pour être largement distribué dans l'environnement (**Pitt et Hocking, 1998**). Par contre **Taniwaki et al. (2003)**et **Batista et al.(2003)** ont reporté que l' *Aspergillus ochraceus* était l'espèce la plus dominante dans le café vert Brésilien.

Des études sur la mycologie des grains de café ont montré que les principaux genres fongiques (*Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*) sont des contaminants naturels du café et sont présents dans les champs et à l'entreposage.

Les résultats de biodiversité fongique pour le pois-chiche sont donnés sur la figure 16 qui montré que le genre dominant dans tous les échantillons des pois-chiche est l'*Aspergillus* qui est représenté par *A. flavus* (50% et 48%) *A. niger* (30% et 37%), *A. fumigatus*. Le genre *Penicillium* est présent mais avec une faible fréquence par rapport au genre *Aspergillus* (10%), les genres *Fusarium*, *Alternaria* , *Trichoderma* ont été présents dans la flore fongique contaminants mais avec un très faible pourcentage qui correspond à (3 %, 2 % et 1%) respectivement.



**Figure 16** : Pourcentage des souches fongiques identifiées contaminant le pois-chiche

Ces résultats sont en accord avec plusieurs études mycologiques faites sur le pois-chiche qui ont rapporté qu'il est contaminé par la flore du stockage en particulier l'*A. flavus* qui a été l'espèce la plus dominante dans tous les échantillons analysés du pois-chiche Pakistanai, Indien, Libien, Saoudien (Singh et Ahmad, 1989 ; Alwakeel et Nasser, 2001 ; Youcef et al, 2008 ; Mushtaq et al., 2015). Par contre dans le pois-chiches Australien, Sarantinos et al. (1996) ont trouvé que les champignons dominants étaient *Stemphylium botryosum* et *Botrytis cinerea*, suivi d'*A. flavus*, *Alternaria alternata*, *Eurotium chevalieri* et *E. amstelodami*.

Il a été montré que la contamination fongique des graines de pois-chiche au moment de la récolte était très élevée. Au fur et à mesure que les graines étaient conservées, un changement dans le spectre de la population fongique a été observé : les espèces *Alternaria*, *Cladosporium*, *Botrytis* et *Fusarium*, qui sont portées dans les graines du champ disparaissent progressivement et ont été remplacées par *A. flavus*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *Penicillium*, *Absidia*, *Chaetomium* et *Rhizopus*.

Selon Ramirez et al. (2018) Les champignons les plus répandus dans les pois-chiches dans le monde sont les espèces appartenant à *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria spp* et *Rhizopus*. Ces genres fongiques sont présents sur le sol, leur présence est favorisée par les dommages mécaniques produits lors de la récolte, un transport inadéquat, des problèmes lors de la transformation, etc. Ils constituent des contaminants importants, en raison de la richesse nutritionnelle de la graine de pois-chiche et de la texture du tégument qui peut causer une détérioration de la graine pendant le stockage. (Ahmed et Singh, 1991)

La flore fongique totale des différents échantillons est constituée essentiellement de moisissures filamenteuses, très sporulantes, dotées d'un grand pouvoir de dissémination dont les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les plus rencontrés. Ce sont des contaminants des denrées alimentaires maltraitées mais surtout mal conservées, ils sont considérés comme contaminants de stockage (Multon, 1982 ; Berthieret Valla, 1998). Ces deux genres prolifèrent principalement pendant le stockage sur des substrats dont l'humidité est assez basse (10 à 15%) (Pitt et Miscamble, 1995).

Dans l'ensemble, le taux de contamination élevé, ainsi que la biodiversité assez importante constatés dans les différentes variétés peuvent être expliqués probablement par la qualité, la durée et les conditions de stockage.



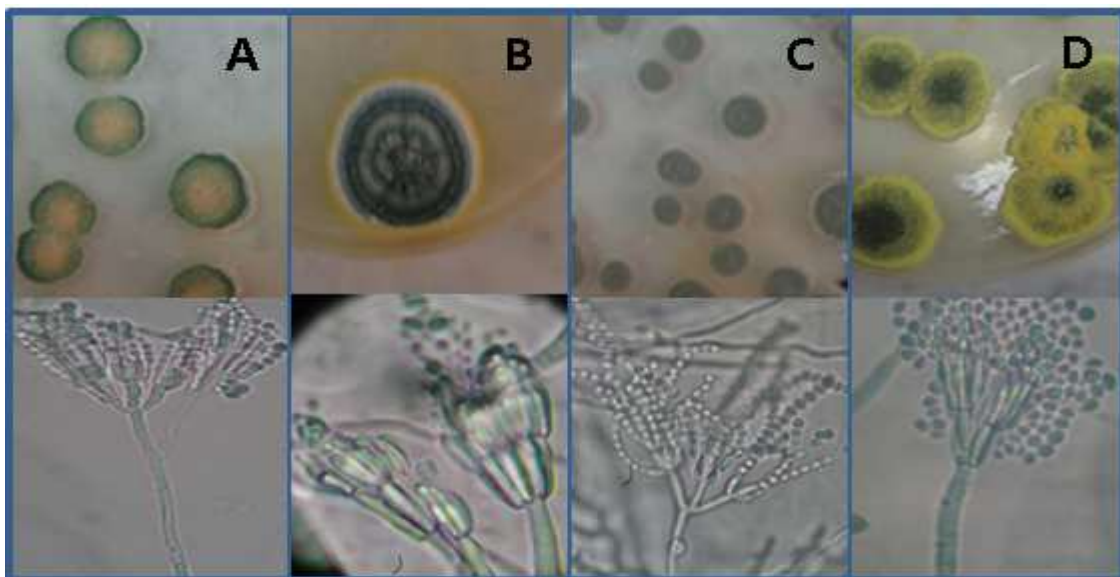
#### II.1.2.4. Caractéristiques phénotypiques des principaux genres de moisissures

L'identification des champignons filamenteux est essentiellement basée d'une part sur la description des caractères morphologiques de la colonie obtenue sur le milieu PDA et d'autre part, sur la description des caractéristiques microscopiques : le mycélium septé ou non septé, la forme des différentes structures de reproduction asexuée, la taille, la forme et la couleur des conidies.

Les principaux genres isolés ont été *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium* et *RhizoMucor*,

##### II.1.2.4.1. Caractéristiques phénotypiques des *Penicillium*

Les souches de *Penicillium* isolées ont un thalle poudreux allant du bleu au vert, du jaune au bleu. Les structures de reproduction asexuée des *Penicillium* se présentent sous forme de pinceau, parfois ,monoverticillé ,biverticillé, triverticillé. Le mycélium porte des conidiophores lisses ou granulés long simple ou ramifiés terminés par des métules portant des phialides qui donnent naissance à des conidies globuleuses , la figure 17 illustre l'aspect macroscopique et microscopique des différentes espèces appartenant au genre *Penicillium*



**Figure 17** : Photo de structure macroscopique et microscopique des *Penicillium*  
(agrandissement des photo microscopique A,C,D : 400x et B :1000x)

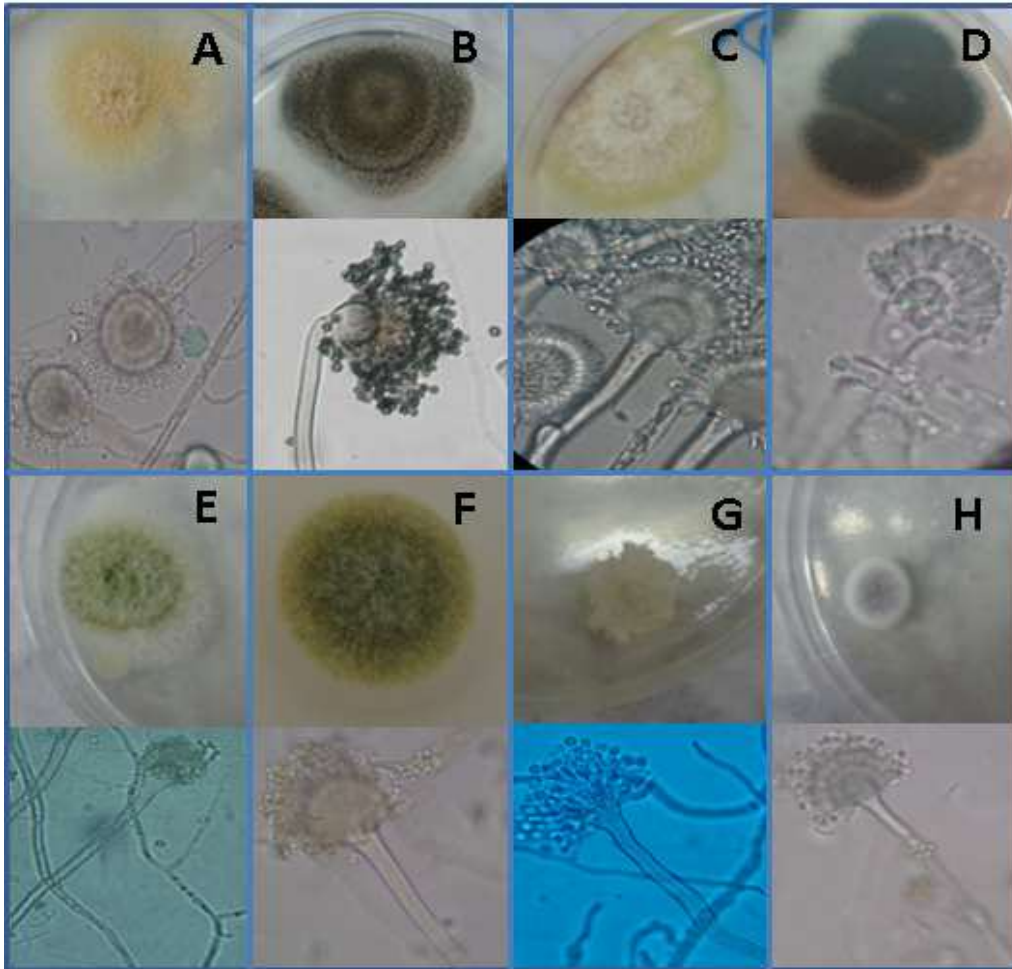
#### II.1.2.4.2. Caractéristiques phénotypiques des *Aspergillus*

Dans ce chapitre nous présentons les *Aspergillus* isolés au cours de nos travaux. La principale caractéristique microscopique permettant d'identifier les *Aspergillus* est la vésicule globuleuse ou claviforme qui peut être unisériée ou bisériée.

La figure 18 illustre l'aspect macroscopique et microscopique des différentes espèces appartenant au genre *Aspergillus*

- Les colonies de l'*Aspergillus*( A) sont jaunes et poudreuses sur l'ensemble du thalle. Au microscope optique les têtes conidiennes de cette souche sont bisériées globuleuses, le conidiophore est rugueux, jusqu'à 1mm de long, pigmenté en jaune ou brun clair. La vésicule est globuleuse. Les phialides sont formées sur des métules. Les conidies sont globuleuses, finement rugueuses,
- Les colonies l'*Aspergillus*( B) sont formées par un mycélium compact blanc à jaunâtre recouvert par une couche dense de conidiophores noirs (parfois bruns), à bordure blanche. Revers incolore. Au microscope optique les têtes conidiennes sont d'une couleur brun foncé à noir, radiées à l'état jeune, puis se séparant en colonnes plus ou moins bien définies à maturité, le conidiophore est lisse, de 1,5 à 3 mm de long, hyalin et brunâtre dans sa moitié supérieure. La vésicule globuleuse supporte deux séries de stérigmates sur toute sa surface. Les phialides formées sur des métules généralement brunes fréquemment septées. Les conidies sont brunes globuleuses et ornementées





**Figure 18 :** Photo de structure macroscopique et microscopique des *Aspergillus* (agrandissement des photos microscopiques A, C, D : 400x et B : 1000x)

- Les colonies d'*Aspergillus* (D) : sont bleu-vert à vert-gris, veloutées, à bordure blanche. Revers incolore, ou jaune à gris-vert pâle. Au microscope optique cette souche possède des têtes conidiennes bleu vert à gris bleuté, en longues colonnes compactes. Le conidiophore est court et lisse, y est teinté de vert dans sa partie supérieure. La vésicule d'aspect spatulé (faible élargissement du conidiophore pour former une vésicule), supporte une seule série de stérigmates. Les phialides sont vertes et densément groupées sur la moitié supérieure de la vésicule. Les conidies sont globuleuses à subglobuleuses, finement rugueuses (échinulées),
- Les colonies d'*Aspergillus* (E) sont vert-pistach, au microscope optique cet *Aspergillus* présente des têtes conidiennes exclusivement unisériées, radiées, d'un vert plus foncé avec des conidiophores plus courts et des conidies globuleuses très verruqueuses,

- Les colonies d'*Aspergillus* (F), sont granuleuses, d'une couleur vert jaune à vert-olive, floconneuses, plus denses vers le centre, lâche en périphérie. Au microscope les têtes conidiennes sont bisériées, de couleur vert jaune à vert olive, radiées, les conidiophores sont nettement rugueux, incolores. La vésicule est globuleuse ou subglobuleuse bisériée. Les phialides sont verdâtres, formées le plus souvent sur des métules, groupées sur les trois quarts supérieurs de la surface de la vésicule. Les conidies sont subsphériques à ellipsoïdales, d'une couleur vert pâle et sont légèrement rugueuses.
- Les colonies d'*Aspergillus* (H) sont plus au moins cotonneuses, d'une couleur brun – noir à revers incolore. Au microscope cette souche a des têtes conidiennes bisériées, radiées à subcylindriques. Les conidiophores sont sinueux, septés. La vésicule est hémisphérique, les métules sont verruqueuses.

#### II.1.2.4.3. Caractéristiques phénotypiques du *Fusarium*

L'aspect macroscopique et microscopique de ce genre est présenté dans la figure 19 qui montre que les colonies de cette souche sont floconneuses, ont mycélium peu dense blanc au départ, puis il devient rose pâle, Le revers est rouge à pourpre avec une texture fine, l'étude microscopique effectuée sur cette souche, a montré que cette espèce étudiée possède des macroconidies fusiformes, courbées, Les microconidies sont absentes. La cellule terminale est longue et pointue. Cette souche dispose d'un filament septé.



**Figure 19:** Aspect morphologique et microscopique de la souche *Fusarium*  
(agrandissement de la photo microscopique est 400x)

#### II.1.2.4.4. Caractéristiques phénotypiques d'*Alternaria*

L'aspect macroscopique et microscopique du genre *Alternaria* est présenté dans la figure 20 qui montre que les colonies apparaissent avec un centre noir puis dégradé de vert foncé à clair entouré de mycélium blanc et fin et ont une texture épaisse, revers de boîte noir.

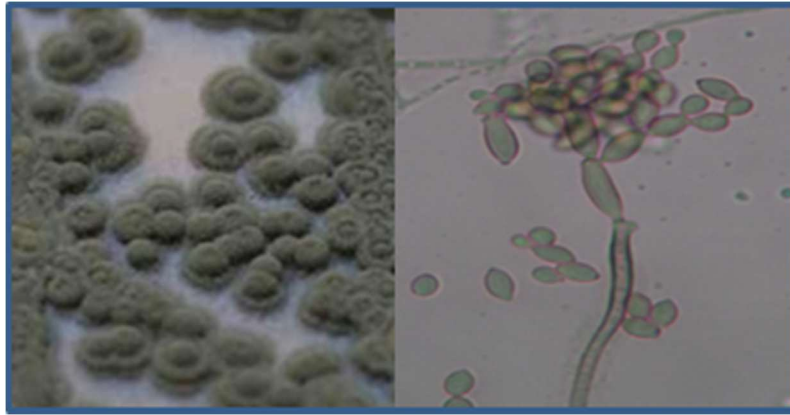
Au microscope ce genre possède un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores noir foncés septés qui se terminent par une chaîne simple de conidies de couleur brune, cloisonnées longitudinalement et transversalement



**Figure 20** :Photo de structure macroscopique et microscopique d'*Alternaria*  
(agrandissement de la photo microscopique est :1000x)

#### II.1.2.4.5. Caractéristiques phénotypiques du *Cladosporium*

L'aspect macroscopique et microscopique du genre *Cladosporium* est présenté dans la figure 21 qui montre que les colonies de ce genre sont veloutées, vert-olive à brun-olive, avec un revers noir à reflets verts . Microscopiquement , les conidiophores sont d'une couleur brune à paroi lisse présentant parfois des renflements, ils naissent en position latérale sur l'hyphe , les conidies sont en longues chaînes acropétales. ellipsoïde à cylindrique, arrondies aux extrémités, jaune-brunes, plus ou moins verruqueuses, possèdent une cicatrice d'insertion bien marquée.



**Figure 21** :Photo de structure macroscopique et microscopique de *Cladosporium*  
(agrandissement de la photo microscopique est :1000x)

#### II.1.2.4.6. Caractéristiques phénotypiques d' *Ulocladium* :

L'aspect macroscopique et microscopique du genre *Ulocladium* est présenté dans la figure 22 qui montre que les colonies de ce genre sont denses, d'une couleur vert olive foncée, le revers est noir . L'observation microscopique de ce genre montre qu'elle se caractérise par un mycélium septé brun portant de nombreux conidiophores lisses ,droits peu ramifiés portant des renflements foncés correspondant au point d'attache à des conidies. Les conidies sont ovoïdes à ellipsoïdales possédant 1 à 3 cloisons transversales et plusieurs cloisons longitudinales les conidies sont insérées sur le conidiophore par leur extrémité la plus étroite.

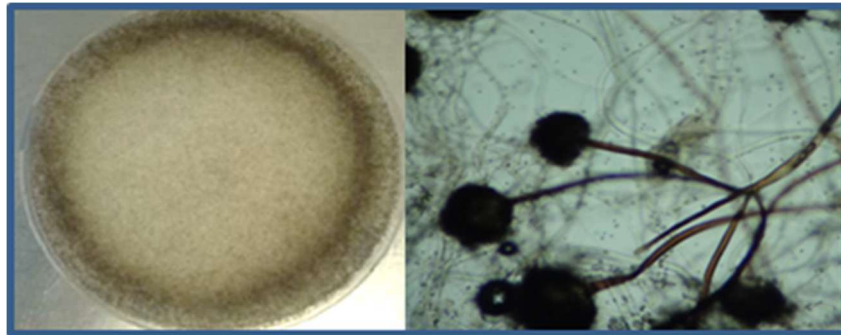


**Figure 22**: Photo de structure macroscopique et microscopique d' *Ulocladium*  
(agrandissement de la photo microscopique est :1000x)

#### II.1.2.4.7. Caractéristiques phénotypiques de *Rhizomucor*

L'aspect macroscopique et microscopique du genre *Alternaria* est présenté dans la figure 23 qui montre que toutes les souches de *Rhizomucor* qui ont été isolées lors de cette étude

semblent appartenir à la même espèce. Les *Rhizomucor* donnent des colonies très envahissantes à la surface des milieux gélosés.



**Figure 23 :** Photo de structure macroscopique et microscopique de *Rhizomucor* (agrandissement de la photo microscopique est :400x)

Leurs caractéristiques morphologiques macroscopiques se présentent comme suit : le thalle est blanc, filamenteux et aérien ; les spores sont rondes, lisses, et noires. Au niveau microscopique les spores appelées sporangiospores sont enfermées dans des structures dites *Sporangium*.

#### II.1.2.5. Résultats d'identification des espèces fongiques

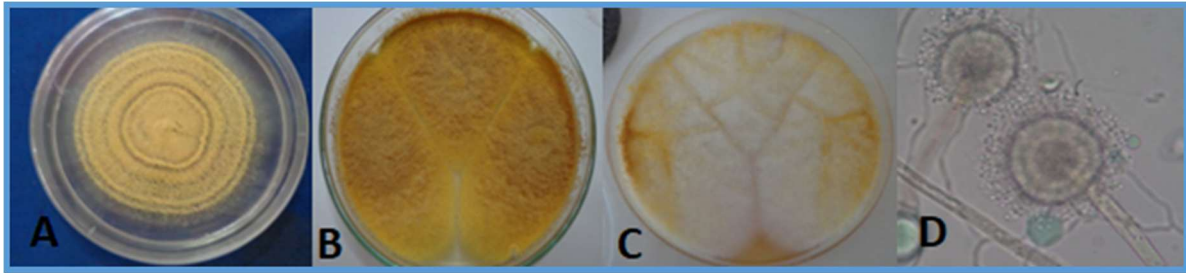
Suivant la méthode de single spore et en se référant aux clefs d'identification de **Pitt (2020)** et **Ramirez (1982)** ; les espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ont été identifiées suivant la détermination des espèces qui a été faite après la lecture des diamètres, l'observation de la couleur des mycéliums et des métabolites produites .

##### *Aspergillus ochraceus*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus ochraceus* donné dans la figure 24 montre que :

- Les colonies sur CYA sont de 37 mm de diamètre , plates légèrement floconneuses de couleur jaune doré , présentent un mycélium blanc; avec des sclérotés blancs , le revers est de couleur orange grisâtre au brun. Pas de croissance à 5 °C. À 37 °C, les colonies atteignent jusqu'à 30 mm de diamètre.
- Les colonies sur MEA sont de 37 mm de diamètre , plates , similaires à celles sur CYA mais peu denses; avec un revers brun .
- Les colonies sur G25N sont de 20 mm de diamètre , peu denses et floconneuses, colorées comme sur CYA; avec un revers jaune pâle .



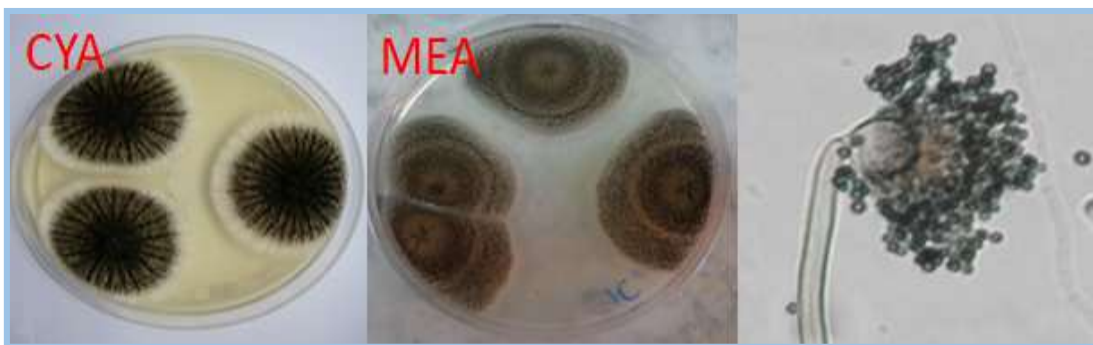


**Figure 24** : Aspect culturels et microscopiques de l'espèce *Aspergillus ochraceus*  
( A : milieu CYA ,B :milieu MEA ,C :milieu MEA, D : agrandissement de la photo microscopique est :1000 x)

### *Aspergillus niger*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus niger* donné dans la figure 25 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur CYA ont de 60 mm de diamètre , recouvrant toute la boîte de Pétri, granuleuses, de mycélium blanc bas, généralement souterrain, surmonté d'une couche de têtes conidiales étroitement emballées, brun foncé à noires, d'environ 2–3 mm de haut; revers généralement pâle. Pas de croissance à 5 °C. À 37 °C, les colonies sont de 60 mm de diamètre , couvrant l'espace disponible, similaires à celles de CYA à 25 °C.
- Les colonies sur MEA atteignent 30 mm de diamètre , elles sont plus petites que celles sur CYA et peu denses .
- Les colonies sur G25N sont de 30 mm de diamètre, granuleuses, avec un mycélium jaune pâle, visibles aux marges, le revers est pâle.



**Figure 25**: Aspect culturels et microscopiques de l'espèce *Aspergillus niger*  
(agrandissement de la photo microscopique est :400x)

### *Aspergillus candidus*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus candidus* donné dans la figure 26 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur CYA ont de 20 mm de diamètre, denses, elles présentent une texture de surface granuleuse à floconneuse de couleur blanche , le

mycélium est blanc, le revers est de couleur orange pâle . Pas de croissance à 5 °C et à 37 °C.

- Les colonies sur MEA sont de 15 mm de diamètre , semblables à celles sur CYA sauf que le leur couleur est brune claire avec un revers brun terne .
- Les colonies sur G25N sont de 10 mm de diamètre , semblables à celles sur CYA peu denses , le revers est jaune.



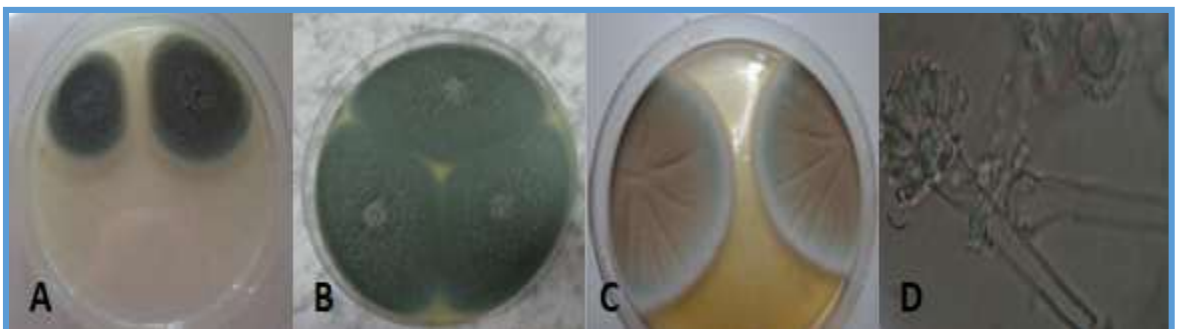
**Figure 26 :** Aspect cultureux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus candidus*

( A : milieu MEA ,B :milieu CYA ,C : agrandissement de la photo microscopique est :400 x)

### *Aspergillus fumigatus*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus fumigatus* donné dans la figure 27 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieu CYA sont de 37 mm de diamètre, denses et veloutées présentant un mycélium discret, blanc; les têtes conidiales sont portées en une couche continue et densément tassée, de couleur beige. Pas de croissance à 5 °C. A 37 °C, des colonies couvrant la surface disponible, d'apparence similaire à celles de milieu CYA à 25 °C, mais avec des colonnes conidiales plus longues et des conidies plus foncées, gris verdâtre à gris pur.
- Les colonies sur MEA sont de 33 mm de diamètre , similaires à celles sur milieu CYA mais moins denses et avec des conidies de couleur plus foncée
- les colonies sur G25N sont de moins de 10 mm de diamètre, de mycélium blanc.



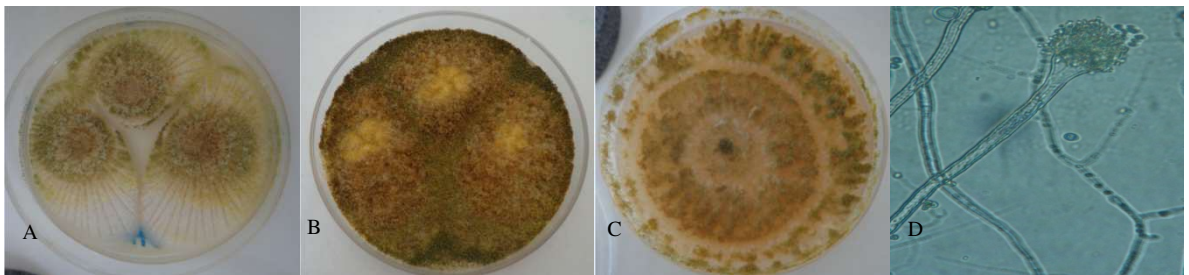
**Figure 27:** aspect cultureux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus fumigatus*

( A : milieu G25N ,B :milieu MEA ,C :milieu CYA, D : agrandissement de la photo microscopique est :400 x)

***Aspergillus parasiticus***

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus parasiticus* donné dans la figure 28 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieu CYA sont de 60 mm de diamètre, plates, et de texture dense et velouté de couleur vert foncé; le mycélium est discret, blanc. Pas de croissance à 5 °C. À 37 °C, colonies couvrant la surface disponible, semblables à celles de CYA à 25 °C, ou avec des conidies vert foncé
- les colonies sur milieu MEA sont de 50 mm de diamètre, similaires à celles sur CYA mais moins denses et avec un revers non coloré.
- Les Colonies sur milieu G25N sont de 30 mm de diamètre, plates, basses et veloutées, généralement similaires à celles sur CYA; revers non coloré.



**Figure 28:** Aspects culturaux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus parasiticus*

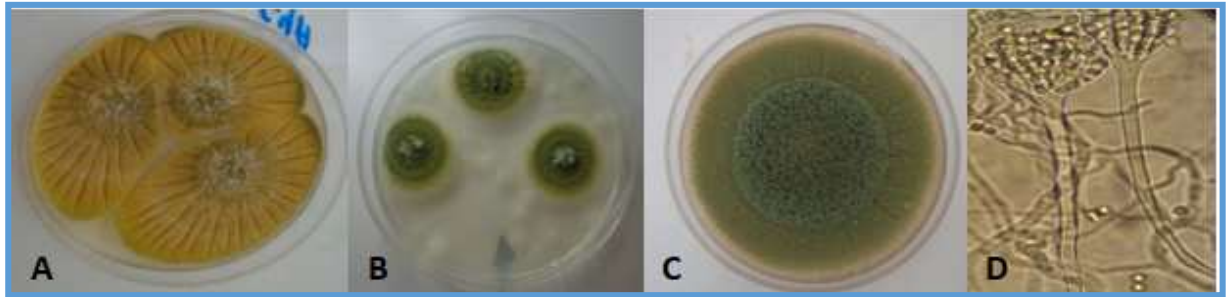
(A : milieu MEA, B : milieu CYA, C : milieu G25, D : agrandissement de la photo microscopique est :400 x)

***Aspergillus flavus***

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus flavus* donné dans la figure 29 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieu CYA sont plates floconneuses au centre et veloutées au périphérie, atteignant 40mm de diamètre et remplissant toute la boîte de Pétri, elles sont de couleur vert jaunâtre, présentant un mycélium peu dense, blanc visible seulement dans la zone floconneuse, produisant des sclérotés blanches. Pas de croissance à 5 °C. À 37 °C, les colonies sont généralement de 65 mm de diamètre, semblables à celles de CYA à 25 °C, mais plus velouté, avec des sclérotés plus abondantes.
- Sur MEA les colonies sont similaires à celles sur CYA bien que elles sont généralement moins denses, elles atteignent 41 mm diamètre de couleur verte.
- Les colonies sur G25N 25–40 mm diam, semblables à celles sur CYA, floconneuses et avec peu de production conidiale, présente un revers pâle à orange.





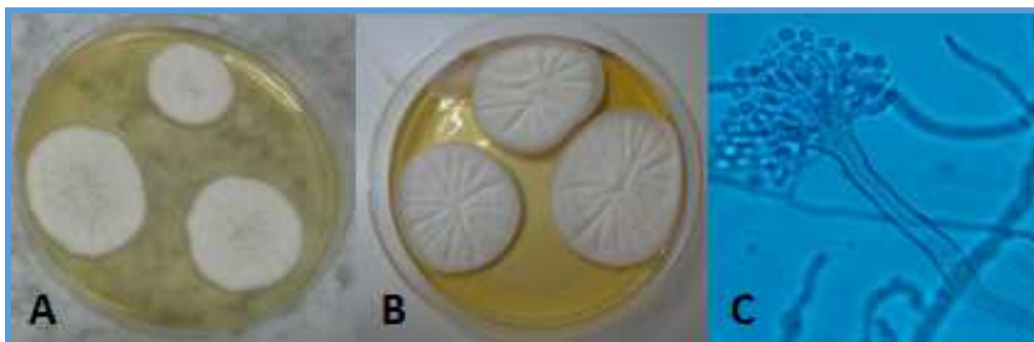
**Figure 29** : Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus flavus*

( A : milieu CYA ,B :milieu G25N ,C :milieu MEA, D : agrandissement de la photo microscopique est :400 x)

### *Aspergillus niveus*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus niveus* donné dans la figure 30 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieu CYA sont de 15 mm de diamètre , plates , denses et veloutées de couleur blanches avec mycélium blanc, et des sclérotés jaune vif . Pas de croissance à 5 °C. À 37 °C, les colonies sont généralement de 30 à 45 mm de diamètre, semblables à celles de l'CYA à 25 °C.
- Les colonies sur milieu MEA sont de 25 mm de diamètre , plate, similaires à celles sur milieu CYA mais avec une texture granulaire à floconneuse.
- les colonies sur milieu G25N sont de 10 mm de diamètre, denses et floconneuses, blanches.



**Figure 30** : Aspects cultureux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus niveus*

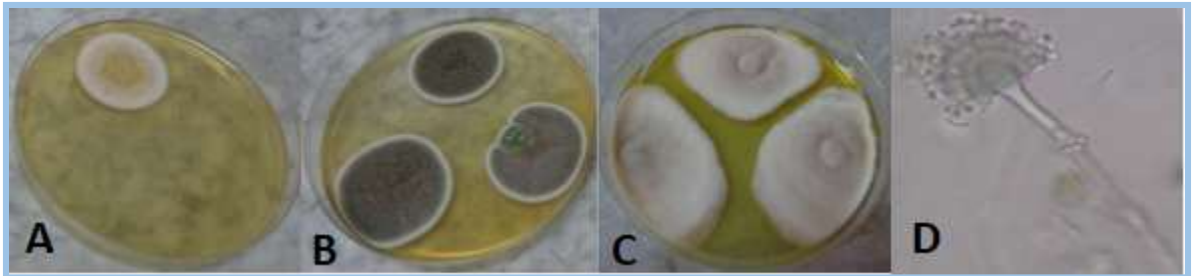
( A : milieu CYA ,B :milieu MEA ,C : agrandissement de la photo microscopique est :1000 x)

### *Aspergillus ustus*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus ustus* donné dans la figure 31 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur CYA sont de 30 mm de diamètre, plates ou légèrement bombées, denses, et floconneuses ;de couleur gris pur à gris brunâtre ,présentant un mycélium blanc à grisâtre; revers jaune terne à jaune vif provenant de pigments solubles. Cette espèce peut germer À 5 °C. Pas de croissance à 37 °C.

- Les colonies sur MEA sont de 33 mm de diamètre ,plates, de texture dense et velouté de couleur grise ; mycélium blanc; le revers est vert pâle .
- Les colonies sur G25N sont de 14 mm de diamètre, denses; revers verdâtre .



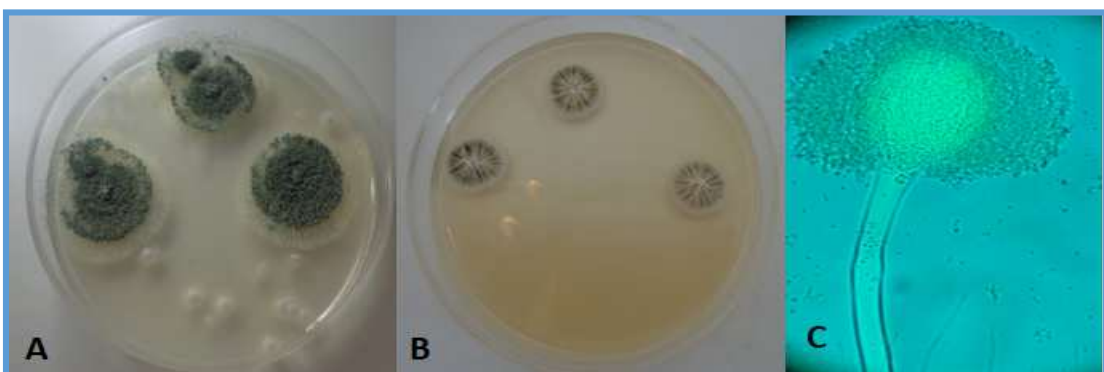
**Figure 31 :** Aspect culturaux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus ustus*

( A : milieu G25N ,B :milieu CYA ,C :milieu MEA, D : agrandissement de la photo microscopique est :400 x)

### *Aspergillus clavatus*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus clavatus* donné dans la figure 32 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieux CYA et MEA sont de 30–45 mm de diamètre, plates et granuleuses, de couleur bleu grisâtre , le mycélium de surface est blanc peu dense surmonté d'amas réguliers de conidiophores facilement visible sous la loupe atteignant 3 mm de long avec des têtes comme des têtes d'allumettes, Pas de croissance à 5 °C. À 37 °C, les colonies sont de 30 mm de diamètre, de mycélium blanc, avec de petites têtes bleues grises.
- Les colonies sur G25N sont de 12 mm de diamètre, de mycélium blanc peu dense , floconneux et de petits conidiophores dispersés.



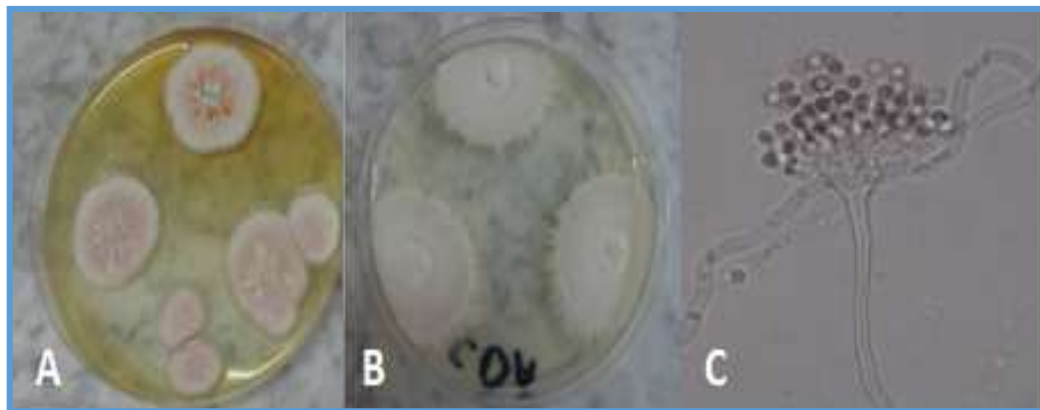
**Figure 32:** Aspect culturaux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus clavatus*

( A : milieu CYA ,B :milieu G25N ,C : agrandissement de la photo microscopique est :1000 x)

### *Aspergillus roseus*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus roseus* donné dans la figure 33 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur CYA sont de 30 mm de diamètre, plates, denses et veloutées de couleur blanche, le mycélium est blanc invisible. Pas de croissance à 5 °C. À 37 °C, les colonies sont généralement de 45 mm de diamètre, semblables à celles du CYA à 25 °C.
- Les colonies sur MEA sont de 25 mm de diamètre, denses et de texture veloutée de couleur rose, le mycélium est blanc peu dense avec des sclérotés orange.
- Les colonies sur milieu G25N sont de 40 mm de diamètre, denses et veloutées, blanches.



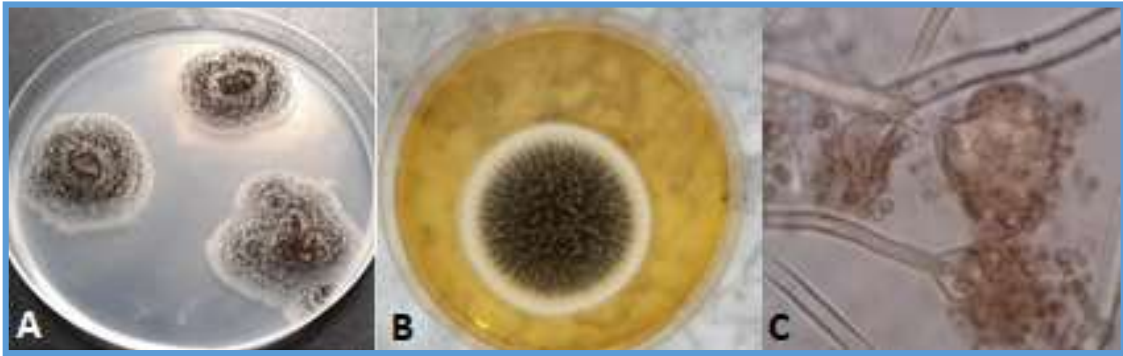
**Figure 33** : Aspect culturaux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus roseus*

( A : milieu MEA ,B :milieu CYA ,C : agrandissement de la photo microscopique est :1000 x)

### *Aspergillus carbonarius*

L'aspect macroscopique d'*Aspergillus carbonarius* donné dans la figure 34 montre que :

- Les colonies sur CYA sont de 60 mm de diamètre, constituées de mycélium blanc superficiel, surmontées d'une couche de conidiophores; près des marges les têtes de conidies sont individuelles visibles à l'œil nu, couvrant plus ou moins les zones centrales, noir, revers incolore à jaune pâle. Pas de germination à 5 °C
- Les colonies sur MEA de 60 mm de diamètre, semblables à celles sur CYA mais moins denses; mycélium sous la surface et peu visible; têtes de conidies généralement visibles individuellement sur toute la colonie, noir; revers incolore.
- Les colonies sur G25N sont de 25 mm de diamètre, de mycélium blanc surmonté de têtes de conidies noires; revers incolore.



**Figure 34:** Aspect culturaux et microscopiques de l'espèce *Aspergillus carbonarius*

( A : milieu MEA ,B :milieu CYA ,C : agrandissement de la photo microscopique est :1000 x)

### *Penicillium expansum*

L'aspect macroscopique *Penicillium expansum* donné dans la figure 35 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieu CYA sont de 30 mm de diamètre, légèrement sillonnées radialement, de texture velouté à floconneuse, de couleur vert foncé ; le dessous est mycélium blanc ; le revers est pâle à brun foncé . À 5 °C, des colonies de 2 mm de diamètre se sont formées. Pas de croissance à 37 °C.
- Les colonies sur MEA, sont de 40 mm de diamètre, plates, veloutées ; légèrement plus grise ; le mycélium est entièrement souterrain; le revers est brun orangé .
- Les colonies sur G25N sont de 17 mm de diamètre, bombées et denses, de texture velouté à granuleuse ; le revers est brun rougeâtre.



**Figure 35 :** Aspect culturaux et microscopique du *Penicillium expansum*(A : milieu CYA

, B : sur milieu MEA , C : agrandissement de la photo microscopique est :400 x)

### *Penicillium digitatum*

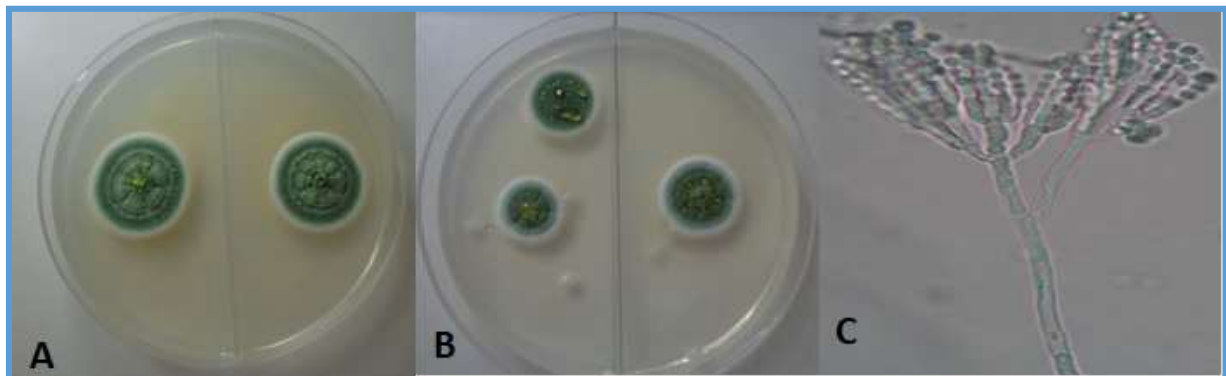
- Les colonies sur CYA sont de 55 mm de diamètre, plates, de texture velouté, de couleur vert grisâtre à olive; le mycélium est blanc et le revers est pâle. germination à 5 °C. Pas de croissance à 37 °C.
- Les colonies sur MEA sont 35 mm de diamètre, plates, strictement veloutées, de couleur verdâtre; revers pâle ou brunâtre.

- Les colonies sur G25N sont de 12 mm de diamètre , plates, le revers est pâle

### ***Penicillium verrucosum***

L'aspect macroscopique *Penicillium verrucosum* donné dans la figure 36 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieu CYA sont de 15 mm de diamètre, généralement étroitement sulquées, de texture veloutée, de couleur verte ; le mycélium est blanc; avec une formation conidienne légère à modérée, le revers est jaune brun . À 5 °C, formation de microcolonie de 2 mm de diamètre Pas de croissance à 37 °C.
- Les colonies sur MEA sont de 15 mm de diamètre, bombées, denses et veloutées floconneuses au centre , colorées comme sur milieu CYA ; le mycélium est blanc , le revers est brun terne .
- Les colonies sur G25N sont de 16 mm de diamètre , plates , veloutées ; le mycélium est blanc; le revers est pâle à jaune.



**Figure 36:** Aspects culturels et microscopiques du *Penicillium verrucosum* (A : sur milieu CYA ,B : sur milieu MEA ,C :L'agrandissement de la photo microscopique est :1000x)

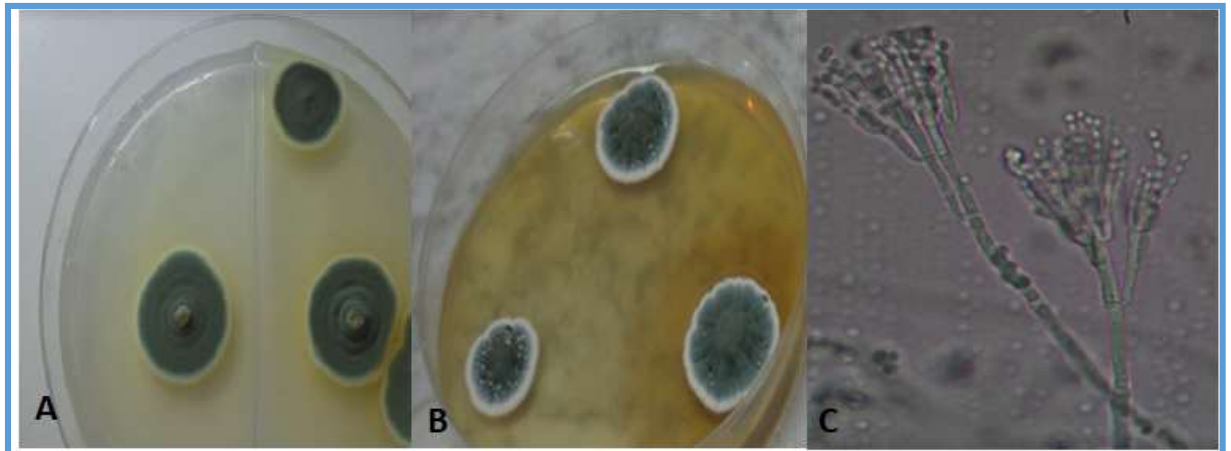
### ***Penicillium viridicatum* :**

L'aspect macroscopique *Penicillium viridicatum* donné dans la figure 37 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur CYA sont de 25 mm de diamètre, bombées, denses, veloutées de couleur vert jaune; le mycélium est discret, blanc; exsudat jaune pâle, le revers est brun orangé, À 5 °C, des colonies macroscopiques se sont formées, généralement de 2 mm de diamètre. Pas de croissance à 37 °C.
- Les colonies sur MEA sont de 25 mm de diamètre , plates veloutées à granulaires et centralement floconneuses, de couleurs jaune-vert semblables à celles de CYA; le mycélium est blanc ;le revers est brun orangé .



- Les colonies sur G25N sont de 18 mm de diamètre, finement et radialement bombées, denses, de texture veloutée ; de couleur bleu gris; le revers est jaune.

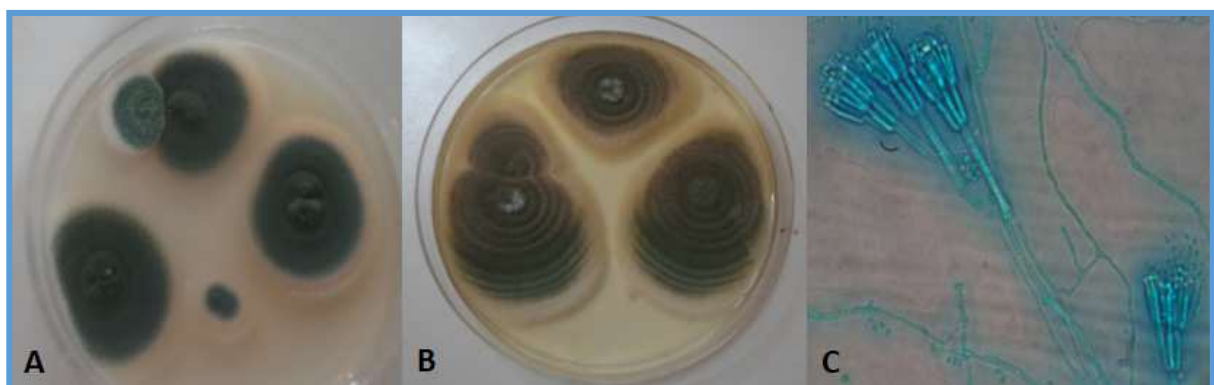


**Figure 37:** Aspects culturels et microscopiques du *Penicillium viridicatum* (A : sur milieu MEA, B : sur milieu G25N, C : L'agrandissement de la photo microscopique est :1000x)

### *Penicillium italicum*

L'aspect macroscopique *Penicillium italicum* donné dans la figure 38 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieu CYA sont de 30 mm de diamètre, plates et radialement sillonnées, denses, veloutées à granuleuses, de couleur vert grisâtre, le mycélium est blanc; le revers est brun grisâtre. - A 5 °C, des microcolonies à des colonies de 4 mm de diamètre sont produites. Pas de croissance à 37°C.
- Les colonies sur MEA sont de 35 mm de diamètre, plates strictement veloutées, colorées comme sur CYA
- Les colonies sur G25N sont de 12à 17 mm de diamètre, plates ; le revers est jaune brun à brun foncé.

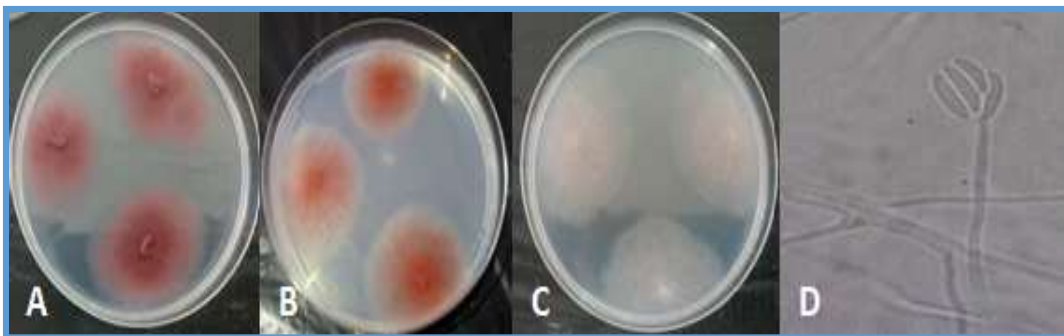


**Figure 38:** Aspects culturels et microscopiques de l'espèce *Penicillium italicum*(A : milieu MEA, B :sur milieu G25N, C : L'agrandissement de la photo microscopique est :400x)

***Fusarium graminearum***

L'aspect macroscopique *Fusarium graminearum* donné dans la figure 39 montre que :

- Les colonies de cette espèce sur milieu CYA ont rempli toute la boîte de Pétri, présentent un mycélium peu dense de couleur rose pale
- Sur milieu MEA les colonies remplissent aussi la surface de la gélose, elles présentent un mycélium dense de couleur rose foncé.
- Sur G25N les colonies atteignent un diamètre de 25mm, et aucune croissance n'a été observée à 5°C et à 37°C.



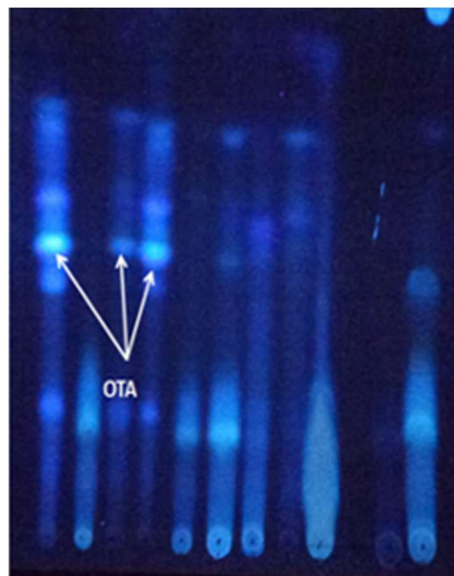
**Figure 39 :** Aspects culturels et microscopiques de l'espèce *Fusarium graminearum*

(A : sur milieu MEA ,B : sur milieu G25N ,C :L'agrandissement de la photo microscopique est :1000x)

### II.1.3. Résultats des analyses mycotoxicologiques

#### II.1.3. 1.Recherche des souches productrices d'aflatoxines et de ochratoxine A

Après avoir identifié les espèces fongiques, on a recensé la présence de moisissures réputées productrices de mycotoxine par la méthodes CCM. La figure 40 illustre les résultats de détection des isolats toxigènes



**Figure 40 :** Photos de plaque CCM des isolats des différentes souches cultivées sur milieu YES

### II.1.3.1.1. Potential mycotoxinogène des espèces d'*Aspergillus* isolées du blé tendre local et du blé tendre importé

Parmi les souches suspects d'*Aspergillus* du groupe (*flavus-parasiticus*) isolées de blé tendre local, les résultats de CCM donnés dans le tableau 11 ont révélé que 58,33% des isolats sont producteurs d'aflatoxine dont 50% sont producteurs et d'AFB1 (fluorescence bleue), et 8,33% (2 isolats) sont deux producteurs d'AFG1 (fluorescence verte) et d'une autre part 22,58% (7 isolats) d'*A. flavus-parasiticus* isolés du blé tendre importé sont producteurs d'aflatoxine B1 parmi 31 souches.

Ces résultats se différencient de ceux rapportés par certains auteurs en particulier **Schabo et al. (2020)** qui ont montré que 2 souches d'*A. flavus* isolées du blé stocké sont productrices d'aflatoxine B1 et B2. **Al-Wadai et al. (2013)** ont rapporté que parmi 19 isolats d'*A. flavus* testés 15 souches ont montré leur capacité à produire l'aflatoxine alors que 4 souches sont négatives, **Riba et al. (2010)** ont rapporté que 72% des isolats d'*A. flavus* du blé sont productrices d'AFB.

D'une autre part aucune souche d'*A. niger* parmi 27 souches isolées du blé tendre local et importé n'est productrice ni de ochratoxine A ni d'aflatoxine. Ce résultat se concorde avec celui de **Schabo et al. (2020)** qui ont montré qu'aucune des cinq isolats d'*A. niger* isolés du blé n'ont montré la capacité de produire l'OTA par contre **Ennouari et al. (2018)** ont rapporté que 26 isolats d'*A. niger* isolés du blé marocain sont tous capables de produire l'OTA, alors que **Riba et al. (2008)** et **Jedidi et al. (2018)** ont montré que certains isolats d'*A. niger* sont producteurs d'OTA (28% et 15,38%) respectivement.

**Tableau 11:** Répartition des souches productrices de mycotoxines isolées du blé tendre

	Blé tendre local		Blé tendre importé	
	Nombre d'isolats	Isolats toxino-gènes	Nombre d'isolats	Isolats toxino-gènes
<i>Aspergillus flavus</i>	24	58,33%	31	22,58%
<i>Aspergillus niger</i>	15	0%	12	0%

### II.1.3.1.2. Potential mycotoxinogène des espèces d'*Aspergillus* isolées du café vert robusta et café vert arabica

Parmi 82 isolats d'*Aspergillus* isolés à partir du café vert robusta et café vert arabica testés pour leur production de mycotoxine les résultats de CCM donnés dans le tableau 12 ont montré que tous les isolats d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus carbonarius* ne sont pas producteurs ni de OTA ni de aflatoxine alors que 61,53% et 42,85% des isolats d'*Aspergillus flavus* isolés du café vert arabica et café vert robusta respectivement sont producteurs d'AFB,



en plus 50% et 40% d'isolat d'*Aspergillus ochraceus* isolé du café vert arabica et café vert robusta sont producteur d'OTA

Ces résultats sont en accord à ceux de **Batista et al.(2003)** et **Leong et al. (2007)** qui ont reporté qu' aucune souche d'*Aspergillus niger* isolée de café vert arabica n'est productrice d'OTA par contre des études similaires sur les espèces d'*Aspergillus* présentes dans les grains de café ont démontré au cours des dernières années qu'*Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus niger* sont une source importante d'OTA (**Noonim et al. ,2008 ;Nogaim et al .,2013**) la production d'OTA par *Aspergillus ochraceus* et l'AFB par *Aspergillus flavus* a été reporté par plusieurs auteur : **Slimani et al.(2019)** ont réporté que 66,66% des souches d'*Aspergillus ochraceus* et 85,71% des souches d'*Aspergillus flavus* isolées du café vert importé en Algérie sont productrices d'OTA et de aflatoxine B1 respectivement , de la même manière **Nogaim et al. (2013)** ont trouvé que 40% des souches d'*Aspergillus ochraceus* isolées de café vert arabica sont productrices d'OTA et 30 % d'*Aspergillus flavus* sont productrices d'aflatoxine B1 et B2 , **Batista et al.(2003)** ont montré que 66% d'*Aspergillus ochraceus* sont productrices d'OTA et 30% d'*Aspergillus flavus* sont productrices d'aflatoxine B1 et B2.

**Tableau 12 :** Répartition des souches productrices de mycotoxines isolées du café vert

Les isolats	Nombre d'isolats	Isolats OTA positifs	Isolats AFB Positif	Source
<i>A.niger</i>	25	0%	0%	Café vert robusta
	30	0%	0%	Café vert Arabica
<i>A. ochraceus</i>	12	50%	0%	Café vert robusta
	5	40%	0%	Café vert arabica
<i>A.carbonarius</i>	2	0%	0%	Café vert robusta
<i>A. flavus</i>	13	0%	61,53%	Café vert arabica
	7	0%	42,85%	Café vert robusta

### II.1.3.1.3. Potential mycotoxinogène des espèces d'*Aspergillus* isolées du pois-chiche

Le potentiel mycotoxinogène de 49 souches d'*Aspergillus* représentées par *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus* a été testé par CCM qui a montré que tous les isolats d'*Aspergillus niger* isolés du pois-chiche local et importé n'ont pas la capacité de produire l'OTA ,alors que 66,66 % et 69% des isolats d'*Aspergillus flavus* isolés du pois-chiche local et importé respectivement sont producteurs d'aflatoxine (tableau 13 )

**Tableau 13** : Distribution des isolat mycotoxinogènes isolés du pois-chiche

Les isolats	Nombre d'isolats	Isolats OTA POSITIFS	Isolats AFB Positif	Source
<i>Aspergillus niger</i>	10	0%	0%	Pois-chiche local
	11	0%	0%	Pois-chiche importé
<i>Aspergillus flavus</i>	15	0	66,66%	Pois-chiche local
	13	0	69%	Pois-chiche importé

Ces résultats sont en accord avec **Ahmed et Singh (1991)** qui ont rapporté qu'au cours de l'étude de la flore fongique des grains de pois-chiche stockés, environ 569 isolats d'*A. flavus* et 61 isolats d'*Aspergillus parasiticus* ont été isolés, parmi lesquels plus de 84 % des isolats d'*A. parasiticus* étaient toxinogènes, tandis que 64 % d'*A. flavus* étaient capables de produire de l'aflatoxine.

## II.2.Résultat des analyses physicochimiques et microbiologiques du lait de chamelle

### II.2.1. Résultats d'analyses physicochimiques

Les résultats d'analyses physicochimiques sont donnés dans les tableaux (14, 15,16)

#### II.2.1.1.Résultats de mesure du pH

Les résultats de la détermination du pH sont donnés dans le tableau 14, qui montre que les échantillons de lait cru de chamelle sont légèrement acides et varient de 6,27 à 6,50. La différence de pH des échantillons de lait de chamelle est statistiquement non significative ( $p > 0,05$ ) entre eux.

Ces résultats sont comparables à ceux de **Raghvendar et al. (2004)**, **Alaoui et al. (2016)**, **El Hosseney et al. (2018)** et **Hadef et al. (2018)**. En même temps, ils sont supérieurs à ceux rapportés par **Khaskhli et al. (2005)**, **Siboukeur (2007)**, **Merzouk et al. (2013)** et **Legesse et al. (2017)**.

**Tableau 14:** Résultat de mesure du pH, acidité titrable et la densité

		Béchar	Tindouf	El Bayadh	Adrar	P-value
pH	Moyenne±écartype	<b>6,50±0,19</b>	<b>6,27±0,17</b>	<b>6,43±0,08</b>	<b>6,39± 0,41</b>	0.174
	Min	6,26	6	6,28	5,55	
	Max	7,04	6,45	6,55	6,89	
	cv	2,95%	2,78%	1,38%	6,55%	
Acidité titrable (D°)	Moyenne± ecartype	<b>18,75±2,35</b>	<b>17,66±0,77</b>	<b>17,83±0,71</b>	<b>19,96±1,08</b>	0.00073 ***
	Min	18,5	17	17	18	
	Max	23	19	19	21,5	
	cv	12,58%	4,40%	4,02%	5,44%	
Densité	Moyenne±ecartype	<b>1,027±0,004</b>	<b>1,025±0,004</b>	<b>1,031±0,01</b>	<b>1,032±0,02</b>	0.00011 ***
	Min	1,020	1,020	1,030	1,027	
	Max	1,032	1,030	1,033	1,035	
	cv	0,46%	0,44%	0,13%	0,23%	

Le pH du lait peut dépendre de la nature du fourrage et de la disponibilité en eau. (**Gorban et Izzeldin, 1997**). De plus, le faible pH du lait de chamelle peut être corrélé à sa teneur élevée en vitamine C (**Mal et Pathak, 2010**).

#### II.2.1.2. Résultats de mesure de l'acidité

L'acidité titrable du lait de chamelle est la mesure de l'acide lactique formé dans le lait de chamelle. Les valeurs moyennes d'acidité mesurées dans cette étude étaient de 17,66 °D, 17,83 °D, 18,75 °D et 19,96 °D pour les échantillons de Tindouf, El-Bayadh, Béchar et Adrar respectivement, la différence d'acidité des échantillons de lait de chamelle était statistiquement significative ( $p < 0,05$ ).

Nos résultats sont conformes à ceux rapportés par **Khaskheli et al. (2005)** en Inde, **Siboukeur, (2007)** en Algérie (**Sboui, 2009**) en Tunisie, **Boudjenah, (2012)** qui étaient : 18 °D , 17,2 °D± 1,03, 17 °D, 18,2 °D respectivement.

Cependant, ils sont différents de ceux rapportés par certains auteurs, notamment par **Raghvendar et al. (2004)** ; **Jaydeep et al.(2014)** ; **Sanayei et al. (2015)** qui ont signalé des valeurs d'acidité inférieures dans le lait de chamelle indien et iranien, qui étaient respectivement de 15,4 °D, 14,4 °D et 12 °D. En revanche, **Konuspayeva (2007)** ; **Siboukeur (2007)** dans le sud-est de l'Algérie et **Faye et al. (2008)** au Kazakhstan ont signalé des valeurs plus élevées qui étaient de 26°D, 24,4°D et 21°D.

Ces variations des valeurs d'acidité sont généralement dues à la variation de l'alimentation, des conditions environnementales et de la période de lactation (**Abutarboush, 1996**). La variation de l'acidité du lait cru de chamelle pourrait être aussi due aux conditions d'hygiène, à la traite et à la charge initiale de flore microbienne présente dans le lait cru de

chamelle (Al-Haj et Al-Kanhal, 2010). Ces microorganismes acquièrent une acidité dite développée car elle est due à l'acide lactique et autres acides résultant de la dégradation des sucres par les micro-organismes (Badaoui, 2000)

### II.2.1.3. Résultats de mesure de la densité

D'après les résultats de densité donnés dans le tableau 14 , les valeurs moyennes étaient de 1,032 dans les échantillons d'Adrar, de 1,027 dans les échantillons de Béchar, de 1,025 dans les échantillons de Tindouf et de 1,031 dans les échantillons d'ElBayadh. La différence entre ces valeurs moyennes des densités est significative ( $p > 0,05$ ).

Les résultats obtenus dans la présente étude sont en accord avec ceux rapportés par (Sanayei, 2015 ;Maha et al., 2016 et Legesse, 2017 ), qui étaient de 1,025,1,026 ; 1,030et 1,026 Cependant, ils diffèrent de ceux rapportés par Siboukeur (2007)(1,023), Alloui-Lombarkia et al.(2007)(1,038) et Sboui et al.(2009)(1,020) .

Cette variation de densité peut être attribuée à des facteurs tels que le stade de lactation, le régime alimentaire, la race, la fréquence d'abreuvement, la fréquence de traite et l'âge de l'animal (Siboukeur, 2007 ; Legesse, 2017) , La densité dépend aussi de la teneur en matière sèche, en matière grasse, de la température et de l'alimentation de l'animal.

### II.2.1.4. Résultats de mesure de la teneur en matière sèche

Le tableau 15 illustre également les données obtenues pour la teneur en matière sèche. qui montre que la teneur moyenne en matière sèche du lait camelin collecté à El Bayath (14,81 %) était significativement plus élevée que celle du le lait collecté à Adrar (13,28 %) suivi du lait de camelin collecté à Béchar (13,02 %). Cependant, la teneur moyenne en matière sèche du lait collecté à Tindouf (11,52 %) était la plus faible.

Ces résultats sont comparables à ceux deMohamed et al. (2014) ; Sanayei et al. (2015) qui étaient de 12,7 %, 11,24 %, alors qu'ils étaient supérieurs à ceux de Seher et al.(2013) ,Ahmed et Rasha (2014) ; Alaoui et al. (2016) et Hedefet al.( 2018) qui étaient respectivement (10,9% ,10,8%, 9,99%, et 10,42%).

**Tableau15** : Résultat de mesure de la matière sèche et le taux de cendre.

		Béchar	Tindouf	El Bayadh	Adrar	P-value
Matière sèche totale (%)	Moyenne±écartype	13,03±1,19	11,52±1,52	14,81±1	13,22±0,94	5.36e <sup>-07</sup>
	Min	11,4	9,58	13,01	11,3	
	Max	14,8	13,43	14,81	14,49	***
	cv	9,17%	13,21%	6,79%	7,11%	
Taux de cendre( %)	Moyenne±écartype	1,80±0,13	2±0,11	1,53±0,10	1,81±0,12	8.67e <sup>-06</sup>
	Min	1,51	1,82	1,14	1,59	***
	Max	1,97	2,18	2,04	2	
	cv	7,59%	5,65%	20,63%	6,97%	

Plusieurs auteurs ont montré que la variation de la teneur en extrait sec total était due à divers facteurs tels que la qualité de l'eau et sa quantité disponible pour les animaux (Khaskheli *et al.*, 2005).

Selon Ereifej *et al.* (2011), la variabilité génétique et l'effet de l'origine géographique influent sur la composition du lait de chamelle. En outre, il a été montré que le passage d'un régime hydraté à un régime pauvre en eau entraîne une chute de la teneur en matière sèche totale de 8.8 à 14.3 % et qu'en cas de privation ou d'abreuvement insuffisant, la teneur en eau du lait camelin augmente et passe de 87 à 91 %. Ceci constitue selon Yagil *et Etzion* (1980), une réponse physiologique au stress hydrique, permettant d'assurer la survie du chamelon.

La teneur en matière sèche du lait varie également en fonction du stade de lactation (Bengoumi *et al.*, 1994 ; Khaskheli *et al.*, 2005), des facteurs saisonniers, de l'environnement, du rang de lactation, du nombre de vêlages (Yagil, 1982 ; Khaskheli *et al.*, 2005).

#### II.2.1.5. Résultats de mesure de taux de cendre

La teneur en cendres du lait collecté à Tindouf est d'environ 2,18% et, par conséquent, semble être élevée par rapport au lait des régions d'El Bayedh, Adrar et Béchar; ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par différents travaux : 0,87 % (Alaoui *et al.*, 2019) 0,7 % (Abdul Raziq *et al.*, 2011).

Selon Khaskheli (2005), La raison de la teneur plus élevée en cendres observée dans nos résultats pourrait être due au libre pâturage du chameau sur des arbustes ou des plantes cultivées sur un sol salin.

### II.2.1.6. Résultat de la détermination de la teneur en protéines totales

Le lait de chamelle est considéré comme une source abondante de protéines pour les personnes vivant dans les zones arides du monde (Ahmed et Rasha, 2014). Les résultats résumés dans le tableau 16 montrent que la teneur en protéines la plus élevée dans le lait de chamelle était de 6,23 % dans les échantillons de Tindouf, suivi par le lait de chamelle de Béchar et Adrar. La teneur en protéines totales du lait de chamelle de Adrar et de Béchar est presque similaire, avec une différence non significative ( $p > 0,05$ ). En revanche, la teneur en protéines la plus faible était de 3,4% dans le lait de chamelle d'El Bayadh.

**Tableau 16:** Résultat de mesure du taux de la matière grasse, protéines totales et lactose

		Béchar	Tindouf	El Bayadh	Adrar	P-value
Matière grasse (%)	Moyenne±écartype	4,30±2,4	4,45±0,56	3,08±0,33	3,03± 0,71	0.0107
	Min	1,1	4	2,6	1,8	*
	Max	8,1	5,4	3,9	4,1	
	cv	55,83%	12,59%	10,94%	23,72%	
Proteine totale (%)	Moyenne±écartype	3,90±0,24	6,23±0,95	3,45±0,57	3,97±0,31	3.87e <sup>-15</sup>
	Min	3,5	4,01	2,89	3,77	***
	Max	4,2	7,8	4,62	4,3	
	cv	6,28%	15,39%	16,54%	3,32%	
Lactose (%)	Moyenne±écartype	3,85±0,39	3,80±0,40	4,35±0,44	3,34±0,23	1.28e <sup>-06</sup>
	Min	3,24	3,07	3,69	2,92	***
	Max	4,52	4,29	4,83	3,63	
	cv	10,23%	10,58%	10,33%	6,98%	

Ces valeurs sont comparables à celles rapportées par Mehaia (1995) pour le lait de chamelle Saoudien (41 g/- 49 g/l). De plus, les résultats obtenus sont supérieurs aux valeurs obtenues par Kamoun(1994) ; Wangoh (1997) ; Attia et al.( 2001) ; Kamal et al. (2007) ; Siboukeur(2007) ; Shamsia (2009) et Sboui et al.(2009) qui étaient (34,15 g/l, 34,3 g/l ; 30,72 g/l), (30,8 et 33,1 g/l).

Cependant, les variations observées dans la composition du lait de chamelle pourraient être attribuées à plusieurs facteurs tels que la situation géographique, les échantillons prélevés sur différentes races, le stade de lactation et l'âge. Plusieurs auteurs ont rapporté que le régime à base d'herbe diminue la teneur en protéines du lait. Selon Wolter (1997), une alimentation à base de blé induit une augmentation modérée de la teneur en protéines du lait par rapport à une alimentation à base d'herbes conservées ou pâturées.

### II.2.1.7. Résultat de la détermination de la teneur en matière grasse

Les résultats présentés dans le tableau 16 ont révélé que la teneur moyenne en matières grasses du lait de chamelle d'Adrar, de Béchar, d'El Bayadh et de Tindouf était de 3,03 %, 4,30 %, 4,45 % et 3,08 %, respectivement. La différence entre ces valeurs moyennes est significative ( $p > 0,05$ ), où le lait de chamelle d'El Bayadh a la teneur en matières grasses la plus élevée, suivi du lait de chamelle de Béchar, mais le lait de chamelle d'Adrar a la plus faible teneur en matières grasses.

Ces résultats se situent entre des valeurs extrêmes, relevées pour la race Somali (56 g/l) selon **Karue(1994)** et pour la race Wadah (24.6 g/l) selon **Mehaia et al.(1995)**.

Il a été observé que la variation de la teneur en matières grasses est directement liée à la teneur en matière sèche totale du lait de chamelle.

Selon **Kamoun (1994)**, l'état d'hydratation de l'animal et le type de fourrage consommé affecteraient également la teneur en matière grasse du lait. La matière grasse du lait, qui est une source d'énergie essentielle, se compose principalement de lipides et de substances lipoprotéiques. C'est également une source importante d'acides gras essentiels et de vitamines liposolubles (**Khaskheli et al., 2000**).

### II.2.1.8. Résultat de la détermination de la teneur en lactose

Cette étude montre que le lait de chamelle de la région d'El Bayadh a la teneur en lactose la plus élevée de 4,34%, suivi du lait de chamelle de Béchar et Tindouf. Cependant, une faible teneur en lactose était dans le lait de chamelle d'Adrar, qui est de 3,34%.

Ces valeurs se rapprochent de celles rapportées par **Konuspayeva et al. (2009)**, **Abdul Raziq et al. (2011)** et **Alaoui et al. (2019)** et qui ont déclaré des moyennes de 4,46 %, 4,37 % et 3,11 %, respectivement. Des teneurs plus élevées en lactose ont été signalées : 5,43 % (**Khan et Appanna, 1964**), 5,8 % (**El-Agamy, 1983**), 5,61 % (**Gnan et Sheriha, 1986**), 5,24 % (**Farah et Ruegg, 1989**), une étude a fait état d'une teneur en lactose plus faible : 2,56 % (**Gorban et Izzeldin, 1997**).

Ces variations de teneur en lactose dans notre étude sont responsables des variations du goût et de la saveur du lait de chamelle. Ces différences de teneur en lactose du lait de chamelle s'expliquent par la différence de race entre les régions mais aussi par le stade de lactation et l'état d'hydratation. Selon **Khaskheli (2005)**, la grande variation pourrait être due

au fait que les chameaux broutent généralement des plantes halophiles, par exemple Atriplex, Acacia.

## II.2.2. Résultats des analyses microbiologiques

### II.2.2.1. Flore aérobie totale

Les résultats du dénombrement de la flore aérobie totale dans le lait cru de chamelle sont présentés dans le tableau 17 qui montrent que le lait de chamelle de Tindouf est le plus contaminé par ces germes avec une moyenne de  $(2,50 \pm 1,06) 10^5$  UFC/ml. Il est suivi par le lait de chamelle de Béchar et El Bayedh avec des valeurs moyennes de contamination égales à  $(1,45 \pm 0,79) 10^5$  UFC/ml et  $(7,7 \pm 3,61) 10^4$  UFC/ml, respectivement. En revanche, la contamination moyenne la plus faible atteint  $(1,77 \pm 1,7) 10^4$  UFC/ml dans le lait de chamelle d'Adrar.

Dans ce contexte, des résultats presque similaires ont été précédemment rapportés par **Younan (2004)** ( $10^3$ - $10^5$  UFC/ml). En revanche, une charge bactérienne plus élevée a été donnée dans d'autres études par certains auteurs, à savoir **El-Ziney et Al-Turki (2007)**, **Benkerroum et al., 2003** et **Semereab et Molla, 2001** avec ( $4 \times 10^5$ -  $10^6$  UFC/ml); **Sela et al., 2003** avec ( $8 \cdot 10^4$  -5,  $3 \cdot 10^8$  UFC/ml).

La charge microbienne élevée dans le lait de chamelle de Tindouf et de Béchar est due aux mauvaises conditions d'hygiène lors de la traite. En revanche, la faible charge en flore aérobie totale dans le lait de chamelle d'El Bayadh pourrait probablement être attribuée à une manipulation appropriée des échantillons pendant la traite.

**Tableau 17:** Dénombrement de la flore aérobie totale et la flore psychrotrophe

		Tindouf	El Bayadh	Adrar	Bechar	P-value
Flore aérobie totale (ufc/ml)	Moyenne $\pm$ écartype	$(2,50 \pm 1,06) 10^5$	$(7,7 \pm 3,61) 10^4$	$(1,77 \pm 1,7) 10^4$	$(1,45 \pm 0,78) 10^5$	1.42e-09 ***
	min max cv	1,35.10 <sup>5</sup> 4,5.10 <sup>5</sup> 42,4%	2,5.10 <sup>4</sup> 1,31 .10 <sup>5</sup> 46,88 %	1.10 <sup>3</sup> 4,70 .10 <sup>5</sup> 96,04 %	7,4.10 <sup>4</sup> 3.10 <sup>5</sup> 53,79%	
Flore Psychrotrophe (ufc/ml)	Moyenne $\pm$ écartype	$(3,58 \pm 0,99) 10^4$	$(7,68 \pm 6,78) 10^3$	$(11,5 \pm 6,78) 10^3$	$(22,08 \pm 17,97) 10^3$	8.26e-07 ***
	min max cv		1,45.10 <sup>3</sup> 2.10 <sup>4</sup> 88,28%	1.10 <sup>3</sup> 2,3.10 <sup>4</sup> 58,9%	5.10 <sup>3</sup> 6,7.10 <sup>4</sup> 81,38%	



### II.2.2.2. Résultats de dénombrement de la flore psychrotrophe

Le taux de la flore psychrotrophe dans le lait de chamelle de Tindouf est de  $2,3 \cdot 10^4$  UFC/ml à  $5,6 \cdot 10^4$  UFC/ml, et la valeur moyenne est de  $(3,58 \pm 0,99) \cdot 10^4$  UFC/ml. De plus, la flore psychrotrophe dans le lait de chamelle de Becher était de  $5,10^3$  ufc/ml à  $6,7 \cdot 10^4$  UFC/ml et la valeur moyenne était de  $(22,08 \pm 17,97) \cdot 10^3$  UFC/ml. De même, dans le lait de chamelle d'Adrar, la flore psychrotrophe variait de  $1 \cdot 10^3$  UFC/ml à  $2,3 \cdot 10^4$  ufc/ml et la valeur moyenne était de  $(11,5 \pm 6,78) \cdot 10^3$  UFC/ml tandis que dans le lait de chamelle d'El Bayadh, la flore psychrotrophe variait de  $1,45 \cdot 10^3$  UFC/ml à  $2 \cdot 10^4$  UFC/ml et la valeur moyenne était de  $(7,68 \pm 6,78) \cdot 10^3$  UFC/ml. Ainsi, le lait de chamelle de Tindouf avait la plus forte teneur en flore psychrotrophe, suivi du lait de chamelle de Bechar, du lait de chamelle d'Adrar et du lait de chamelle d'El Bayadh. La différence de comptage de la flore psychrotrophe dans le lait de chamelle (Adrar, Bechar, El Bayadh et Tindouf) était statistiquement significative.

Ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Alaoui et al. (2019)** à savoir  $(9,84 \times 10^7)$ . Les microorganismes psychrotrophes sont principalement des contaminants environnementaux à partir desquels ils contaminent l'animal (chameau), les ustensiles, l'eau et les mains du trayeur et représentent un pourcentage important des microorganismes d'altération. Les caractéristiques importantes des micro-organismes psychrotrophes tels que les *Pseudomonas* sont leur capacité à produire de grandes quantités d'enzymes extracellulaires ou intracellulaires résistantes à la chaleur (protéases, lipases et phospholipases) qui hydrolysent les protéines et les lipides du lait. Ils peuvent provoquer une détérioration du lait (**Odongo et al., 2016**).

### II.2.2.3. Résultats de dénombrement des coliformes totaux

Les résultats de dénombrement des coliformes totaux sont illustrés dans le tableau 19 qui montre que le lait de chamelle de Tindouf avait le plus grand taux en coliformes totaux  $(1,74 \pm 0,35) \cdot 10^5$  UFC/ml, suivi du lait de chamelle de Béchar et du lait de chamelle d'Adrar  $(2,74 \pm 0,54) \cdot 10^3$  UFC/ml et  $(1,45 \pm 0,63) \cdot 10^3$  UFC/ml. Dans le même temps, le lait de chamelle El Bayadh ne contenait pas de coliformes totaux.

Le taux de coliformes totaux dans tous les différents laits de chamelle sont significativement différent les uns des autres.

Ces résultats sont presque similaires à ceux donnés par **Elhosseney et al. (2018)**. Cependant, **El-Ziney et Al-Turki (2007)** ont signalé des niveaux plus faibles de taux de

contamination. Au contraire, **Benkerroum et al. (2003)** ont déterminé un taux moyen élevé. L'existence de bactéries coliformes n'indique pas nécessairement une contamination fécale directe du lait, mais précisément comme un indicateur de mauvaises pratiques sanitaires pendant la traite et les processus de manipulation ultérieurs.

**Tableau 18 :** Dénombrement des coliformes totaux, coliformes thermotolérants et streptocoques fécaux

		Tindouf	El Bayadh	Adrar	Béchar	P-value
Coliformes totaux (ufc/ml)	Moyenne±SD	(1,74±0,35)10 <sup>5</sup>	0	(1,45±0,63)10 <sup>3</sup>	(2,74±0,54)10 <sup>3</sup>	2e-16
	Min	1,32.10 <sup>5</sup>		10 <sup>2</sup>	2,02.10 <sup>3</sup>	
	Max	2,4.10 <sup>5</sup>		4,3.10 <sup>3</sup>	3,66.10 <sup>3</sup>	
	cv	20%		43,44%	19%	
Coliformes thermotolérants (ufc/ml)	Moyenne±SD	(1,50±0,39)10 <sup>5</sup>	0	(0,51±0,46)10 <sup>3</sup>	(1,63±0,93)10 <sup>3</sup>	2e-16
	Min	1.10 <sup>5</sup>		0	1,1.10 <sup>2</sup>	
	Max	2,01.10 <sup>5</sup>		1,3.10 <sup>3</sup>	2,6.10 <sup>3</sup>	
	cv	26%		90,19%	57,05%	
Streptocoques fécaux (uft/ml)	Moyenne±SD	(71,5±70,83)10 <sup>2</sup>	0	(20,25±11,97)10 <sup>2</sup>	(7,25±5,10)10 <sup>2</sup>	0.00155
	Min	1,4.10 <sup>2</sup>		9.10 <sup>2</sup>	1.10 <sup>2</sup>	
	Max	2.10 <sup>4</sup>		4.10 <sup>3</sup>	2,5.10 <sup>3</sup>	
	cv	99,06%		59%	70,34%	

#### II.2.2.4. Résultats de dénombrement des coliformes thermotolérants

Le tableau 18 présente les résultats de dénombrement de coliformes thermotolérants dans les échantillons de lait prélevés à Tindouf, Béchar, Adrar et El Bayadh. Ces résultats ont montré que le lait de chamelle de Tindouf présente un taux de contamination le plus élevé (1,50±0,39) 10<sup>5</sup>UFC/ml, tandis que le lait de chamelle d'Adrar présente un taux de contamination plus faible (0,51±0,46)10<sup>3</sup>UFC/ml. Cependant, le lait de chameau El Bayadh ne contient pas de coliformes thermotolérants.

Les taux moyens de contamination en coliformes thermotolérants observés dans cette étude sont inférieurs à ceux rapportées par **Alaoui et al. (2019)** (3,2,10<sup>6</sup>UFC/ml).

La charge des coliformes thermotolérants est plus importante au niveau du lait de chamelle de Tindouf. Cette contamination était attribuée aux conditions non conformes de traite et la multiplication rapide et massive de la flore fécale initialement présente dans le lait cru qui peut être transmise par les mains du trayeur, par l'animal lors de la traite, par la queue et les éclaboussures (**Hamama, 1989; Faye et Loiseau, 2002**).

Ces germes sont absents dans les échantillons d'El-Bayadh, ce résultat peut suggérer que cette flore est absente ou probablement inhibée par d'autres facteurs présents dans le lait tels que les protéines et peptides à activités antimicrobiennes qui sont produites par la flore

lactique. En effet, la présence de ces facteurs dans le lait camelin et leur rôle a été signalées par différents auteurs à savoir **Desmazeaud et Roissard (1994)** et **Kamoun(1994)**.

#### II.2.2.5. Résultats de dénombrement des streptocoques fécaux

Le tableau 18 présente les résultats du dénombrement des streptocoques fécaux. Le lait de chamelle de Tindouf est le plus chargé en streptocoques fécaux ( $71,5 \pm 70,83$ ) $10^2$ UFT/ml. Suivi de ce du le lait de chamelle de Adrar , tandis que le lait de chamelle de Béchar présente un taux de contamination en streptocoques fécaux très faible ( $7,25 \pm 5,10$ ) $10^2$ UFT/ml. Cependant, le lait de chamelle d' ElBayadh n'est pas contaminé par les streptocoques fécaux.

La différence entre ces valeurs moyennes est significative ( $p > 0,05$ ). Le taux moyen de streptocoques fécaux du lait de chamelle cru observé dans cette étude est plus élevé que celui rapporté par **Kaindi et al.(2011)**( $1,7 \times 10^2$ UFT/ml). Les Streptocoques fécaux sont très répandus dans la nature , Selon **Waes (1973)**, ils sont des indicateurs de contaminations fécales, et de manipulations non hygiéniques. **Dubois et al. (1982)** constatent également que les streptocoques fécaux ne sont pas totalement inhibés par les ferments lactiques.

#### II.2.2.6. Résultats de dénombrement des moisissures et des levures

Les résultats des dénombrements de levures et de moisissures sont présentés dans le tableau 19. Les résultats ont montré que le lait de chamelle de Tindouf a le taux de contamination par les levures et les moisissures le plus élevé ( $35,67 \pm 15,98$ )  $10^2$  UFC/ml. En revanche, le lait de chamelle Adrar a montré le plus faible taux de contamination par les levures et les moisissures ( $8,63 \pm 3,22$ ) $10^2$ UFC/ml,

Ces valeurs se rapprochent à celles rapportées par **El -Ziney et Al-Turki (2007)** ; **Torkar et Teger (2008)** qui ont cité une valeur de  $\log 1,9$  UFC/ml , et  $\log 1,7$  UFC/ml respectivement par contre certains auteurs ont cité des valeurs plus élevées que celle-ci comme **Barbour et al.(1984)** qui ont trouvé une charge moyenne de contamination par levure et moisissure égale à  $\log 4,6$  UFC/ml dans le lait camelin Saoudien

**Lavoie et al. (2012)** montrent que les environnements de l'étable et de la salle de traite à la ferme sont d'importantes sources de champignons dans le lait.

Ces valeurs sont beaucoup plus inférieurs à celles rapportées par **Neamatallah et al .(2012)** à Jeddah qui ont cité une valeurs de  $10^2$  UFC /ml

**Tableau 19** : Dénombrement des levures et moisissures

		Tindouf	El Bayadh	Adrar	Bechar	P-value
Levures et moisissures	Moyenne±SD	(35,67±15,98)10 <sup>2</sup>	(13,61±10,80)10 <sup>2</sup>	(8,63±3,22)10 <sup>2</sup>	(12,91±5,37)10 <sup>2</sup>	1.79e
	min	8,13.10 <sup>3</sup>	1,57.10 <sup>3</sup>	4,4.10 <sup>3</sup>	5,63.10 <sup>3</sup>	-10
	max	6,15.10 <sup>4</sup>	3,58.10 <sup>4</sup>	14.10 <sup>3</sup>	23,2.10 <sup>3</sup>	
cv	44,79 %	79,35%	37,31 %	41,59%		

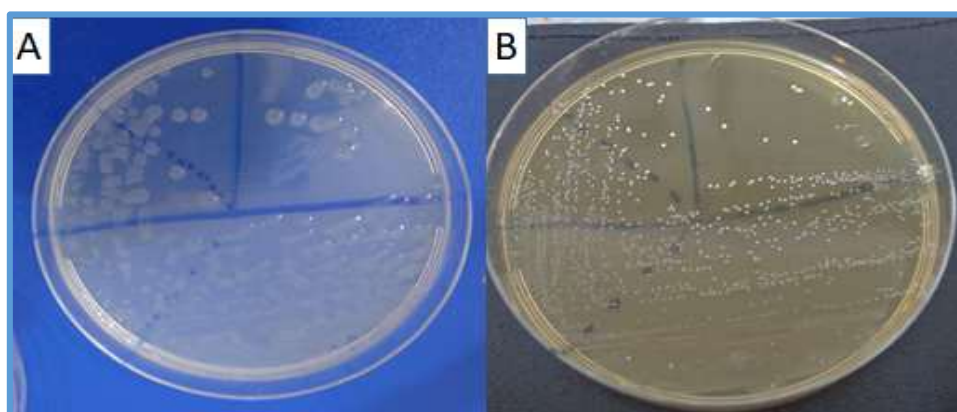
### II.2.2.7. Résultats de dénombrement de la flore pathogène

Les salmonelles, les spores de *Clostridium* sulfato-réductrices et les staphylocoques à coagulase positive n'ont pas été détectés dans aucun des échantillons testés dans cette étude. Diverses études publiées ont rapporté l'absence de flore pathogène dans le lait cru de chamelle (Konuspayeva, 2007 ; Omer et Eltinay, 2008 ; Merzouk et al., 2013).

### II.3. Isolement et purification des bactéries lactiques

Parmi 250 isolats purs issus de échantillons de lait cru de chamelle de Béchar , Tindouf ,Adrar et El Bayadh 98 ont été retenus, tous sont Gram positives, catalase négatif.

L'examen macroscopique réalisé sur les milieux de cultures illustré par la figure 41 solides a permis d'observer des petites colonies blanches, transparentes, lisses, lenticulaires avec un pourtour régulier et irrégulier .

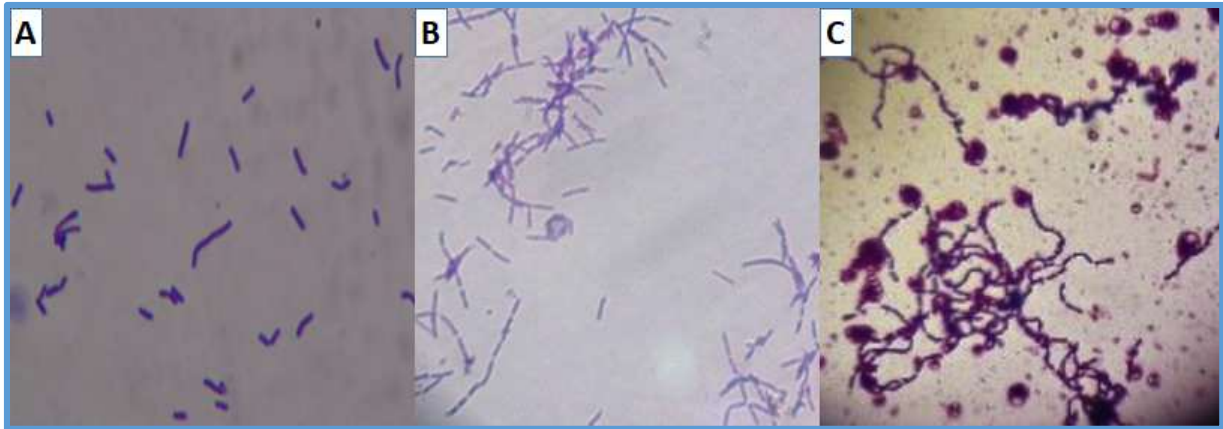


**Figure 41:** Aspect macroscopique des bactéries lactiques

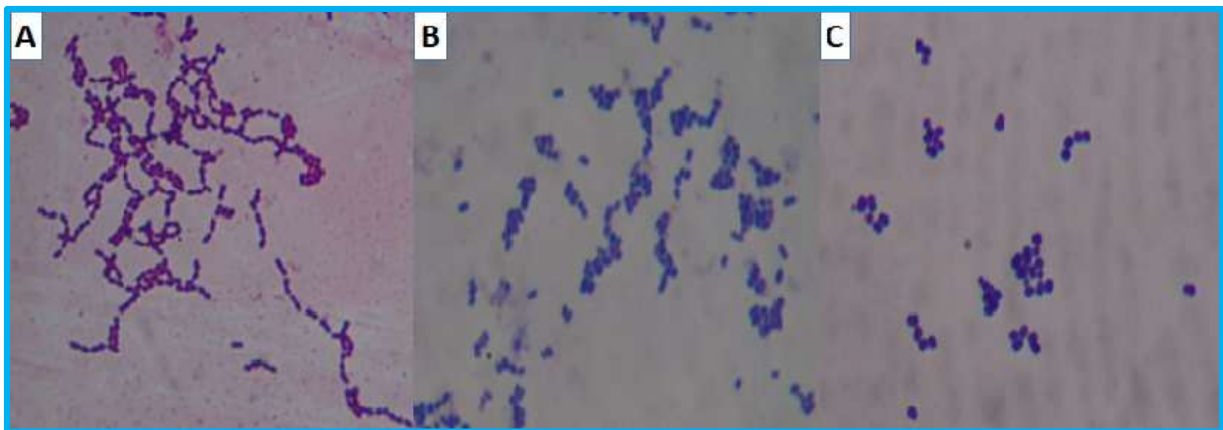
(A) bactéries isolées sur milieu MSE (B) bactéries isolées sur milieu MRS

L'examen microscopique illustré par les figures 42 et 43 a révélé deux formes de cellules (coques et bâtonnet).

Les bactéries sous forme de cocci se disposent en petites chainettes ou en diplocoques, en tétracoque et parfois isolées, cependant les bactéries ayant une forme bacillaire se disposent en courte ou longues chainettes .



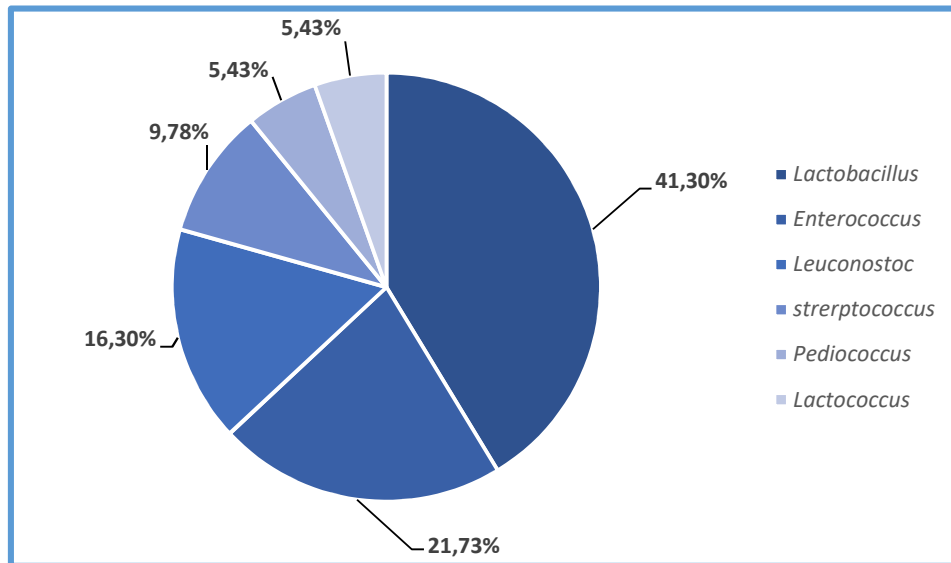
**Figure 42:** Aspect microscopique des lactobacilles



**Figure 43:** Aspect microscopique des coques lactiques

### II.3.1. Distribution des genres de bactéries lactiques dans le lait de chamelle

Les résultats des tests biochimiques et physiologiques ont permis de diviser un total de 92 isolats lactiques en plusieurs groupes comme indique dans la figure 44, les isolats ont été identifiées au stade du genre en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques

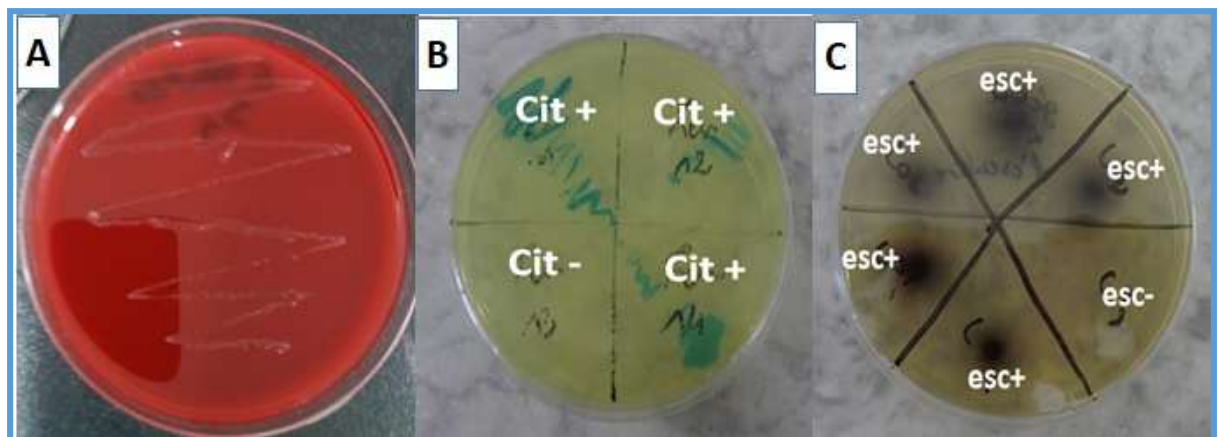


**Figure 44 :** Distribution des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle selon les genres

- Groupe des *Enterococcus* qui constitue 21,73% de l'effectif total les isolats de ce groupe sont des cocci Gram positive, catalase négative ; homofermentaires, qui se développent à 10°C et à 45°C, en présence de 6,5% de NaCl et à pH 9,6 et peuvent aussi croître à 1% lait de Sharman. tous les isolats ont donné des résultats positifs pour l'hydrolyse de l'esculine, des résultats négatifs pour le test de la dégradation de la gélatine et l'hémolyse et 70% des isolats du genre *Enterococcus* ont donné des résultats positifs pour le test de l'ADH en plus que 35% des souches *Enterococcus* peuvent utiliser le citrate.
- Groupe des *Leuconostoc* qui constitue (16,30%) de l'effectif total , les isolats de ce groupe sont des coques de forme ovoïde , Gram positive , se groupant en paires ou en chaînes , catalase négative , hétérofermentaires , mésophiles et qui n'ont pas la capacité à hydrolyser l'arginine . Toutes les souches ont donné des résultats positifs pour le test d'utilisation de citrate, et des résultats négatifs pour le test d'hémolyse et la recherche de gélatinase.

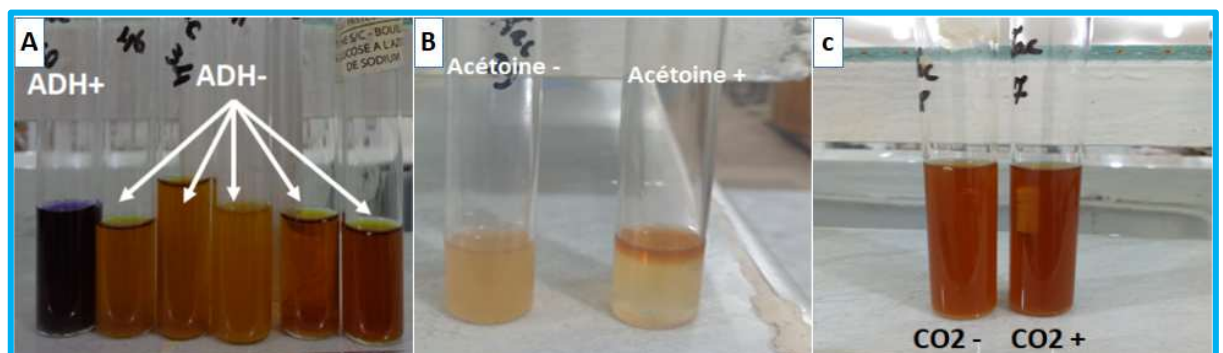


- Groupe de streptocoques qui constituent 9,78% de l'effectif total, les isolats de ce groupe sont des cocci Gram positive groupés en paire et en chaînette, catalase négative, homofermentaires qui se développent, à 45 °C et ne se développent pas à pH 4. Toutes les souches sont capables d'hydrolyser l'esculine, et ont présenté des résultats négatifs pour le test de gélatinase et le test d'hémolyse.



**Figure 45:** Résultats de tests : A ) hémolyse, B) utilisation du citrate, C) hydrolyse de l'esculine

- Groupe des pédiocoques qui constitue 5,43% de l'effectif total, dont les isolats sont diplocoques ou tétracoques à paroi Gram positive, catalase négative, homofermentaires, se multiplient à 37 °C et 45 °C, et en présence de 6.5% NaCl
- Groupe des *Lactococcus* qui constitue 5,43% de l'effectif total, les isolats de ce groupe sont des cocci Gram positive, catalase négative, homofermentaires, qui se développent à 10 °C mais pas à 45 °C et en présence de 4% de NaCl mais pas à 6,5% de NaCl, toutes les souches ont montré un résultats négatif dans la croissance dans le lait de Sherman 3%



**Figure 46:** Résultats de tests :

( A ) hydrolyse de l'arginine , B) production d'acétone, C) recherche de type fermentaire

- Groupe des *Lactobacillus* qui constitue 40,30% de l'effectif total, les isolats de ce groupe sont des bacilles Gram positive, catalase négative, qui se développent à pH 4. Toutes les souches sont incapables de dégrader la gélatine, 75% des isolats de ce genre sont thermophiles et 25 % sont mésophiles, en plus 74,35% des *Lactobacillus* sont homofermentaires et 69% ont la capacité de faire l'hydrolyse de l'arginine.

De ce fait les coques lactiques constituent 60,86% de l'effectif total alors que les lactobacilles observées constituent 39,13 % de l'effectif total.

Dans ce travail les bactéries lactiques isolées ont été présentées par les genres : *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* avec la dominance des *Lactobacillus* et *Enterococcus*.

La prédominance de *Lactobacillus* dans le lait de chamelle cru peut être favorisée par les conditions du pH bas du lait de chamelle (**khadid et al.**), et le niveau élevé des *Enterococcus* peut être expliqué par sa survie à des conditions défavorables, y compris des environnements à haute température et à haute salinité. Le lait de chamelle est généralement dominé par ce genre en raison de la teneur élevée en sel du lait de chamelle par rapport aux autres animaux d'élevage.

Selon **Rahmeh et al. (2019)**, sept genres de bactéries lactiques ont été identifiés dans le lait de chamelle de différents pays, y compris *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Weissella*.

Les isolats lactiques dominés par le genre *Enterococcus* dans le lait de chamelle ont été rapportés au Kuwait, au Maroc, au Kazakhstan et en Iran. Alors qu'au Soudan et au Maroc, les genres *Streptococcus* et *Lactobacillus* ont été identifiés comme les groupes majeurs, respectivement (**Abdelgadir et al., 2008**; **Hassan et al., 2008**; **Khedid et al., 2009**; **Nagyzbekkyzy et al., 2020**). De plus, le genre *Lactococcus* était l'un des genres les plus représentés au Maroc, au Soudan, au Kazakhstan et aux Émirats arabes unis (**Khedid et al., 2009**; **Ashmaig et al., 2009**; **Akhmetsadykova et al., 2014**; **Abushelaibi et al., 2017**). En plus d'être l'un des genres majeurs au Maroc et au Kazakhstan, *Leuconostoc* était le plus abondant au Kenya (**Lore et al., 2005**). *Pediococcus* était le genre le moins représenté au Maroc et en Iran (**Khedid et al., 2009**; **Davati et al., 2015**) alors que le genre *Weissella* a été détecté au Kuwait, en Ethiopie et en Iran mais avec faible fréquence (**Davati et al., 2015**; **Fugl et al., 2017**; **Rahmeh et al., 2019**).



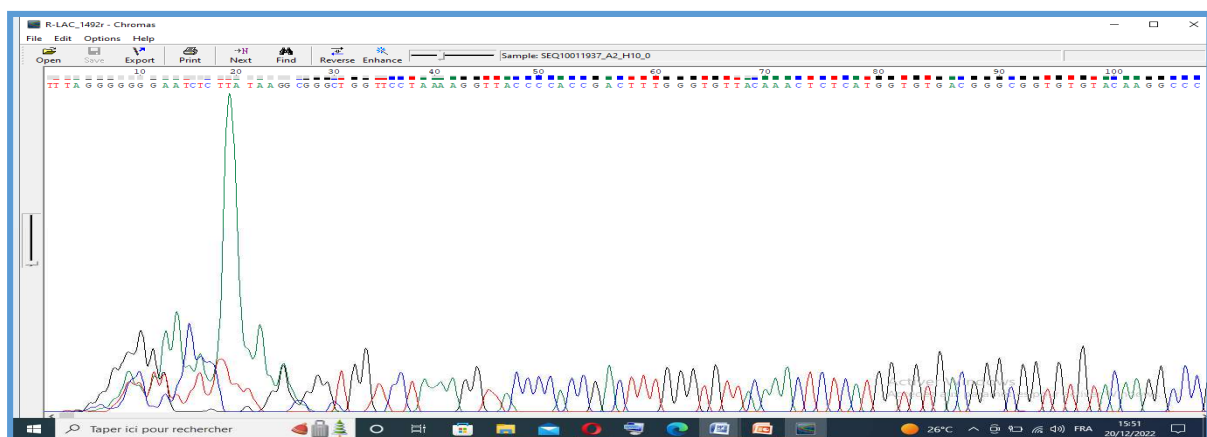
### II.3.2. Distribution d'espèces de bactéries lactiques dans le lait de chamelle

Les résultats de l'identification selon l'étude de profil fermentaire des sucres ont démontré l'appartenance des souches isolées à divers espèces :

- 5 souches de *Lactococcus* représentées par l'espèce *L. lactis*,
- 5 souches de *Pediococcus* représentées par l'espèce *P.pentosaceus*,
- 15 souches de *Leuconostoc* représentées par l'espèce *L. mesenteroides*,
- 20 souches d'*Enterococcus* représentées par 3 espèces : *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*
- 20 souches de *Streptococcus* représentées par l'espèce *Streptococcus salivarius*
- 38 souches de *Lactobacillus* représentées par les espèces suivantes : *Lactobacillus plantarum*, *L. casei* , *L. rhamnos* , *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L.brevis*, *L.frumenti*, *L. kimchii*, *L.homohiochii*, *L. pentosus*, *L.harbinensis*, *L.enshiensis*, *L.reutri*

### II.3.3. Identification moléculaire

Pour chaque échantillon, un fichier image couleur.ab1 contenant les données de fluorescence brutes et les données analysées a été créé par le programme d'analyse , ce fichier a été ouvert par le programme de bio-informatique Chromas version 2.6.6 , ce programme permet l'affichage du chromatogramme et le traitement manuel des erreurs qui se produisent principalement du début à la fin de ce processus du séquençage comme indiqué dans la figure 47



**Figure 47:** Extrait du chromatogramme du début de nucléotides présentant les mauvais pics de la souche

La figure 47 montre bien que le début n'est pas clairement défini , une trentaine de bases du début n' a pas été déterminée clairement . Donc 30 bases du début ont été éliminées.

Après nettoyage et traitement des séquences par le programme Chromas, les fichiers ont été convertis en fichier FASTA ce fichier donne l'interprétation qui en est faite en termes de nucléotides.

Ensuite, la séquence traitée de chaque souche a été comparée vis-à-vis à d'autres séquences d'ADNr de souches de référence mises dans la base de données GenBank à NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

Les cinq souches ont affiché une similarité totale  $\geq 99.92\%$  avec *Lactobacillus plantarum*

Description	Scientific Name	Taxid	Max Score	Total Score	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 2680 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1386	<a href="#">MT611699.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 264 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1449	<a href="#">MT573022.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 2585 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1454	<a href="#">MT611611.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 1833 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1455	<a href="#">MT597662.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 2257 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1458	<a href="#">MT604740.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 1830 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1458	<a href="#">MT597659.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 1939 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1467	<a href="#">MT597755.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus paraplantarum strain 2216 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus paraplantarum</a>	60520	2082	2082	0.0	100.00%	1473	<a href="#">MT604712.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 1046 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1474	<a href="#">MT573571.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Lactobacillus plantarum strain 1942 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactiplantibacillus plantarum</a>	1590	2082	2082	0.0	100.00%	1476	<a href="#">MT597758.1</a>

**Figure 48** :Exemple de résultats obtenu en utilisant BLASTN sur le site (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

**Tableau 20:** Bactéries lactiques identifiées et leur pourcentage de similarité

Souche lactique	Séquences relatives les plus proches	similarité de séquence [%]
Lac 01	<i>Lactobacillus plantarum</i> MT611699.1	99,92%
Lac02	<i>Lactobacillus plantarum</i> MT597662.1	100%
Lac 03	<i>Lactobacillus plantarum</i> MT611699.1	100%
Lac 55	<i>Lactobacillus plantarum</i> GU125610.1	99,96%
Lac 58	<i>Lactobacillus plantarum</i> MT611699.1	100%

## II.4.L'activité antifongique des bactéries lactiques

### II.4.1. Résultats de criblage des souches lactiques à activité antifongique

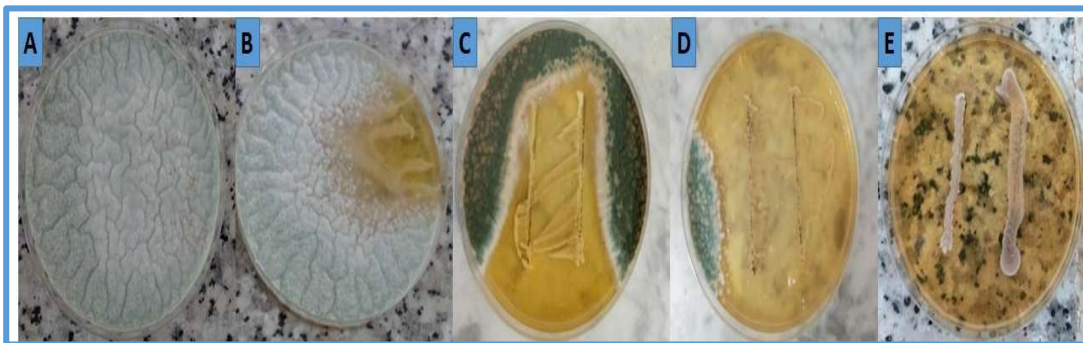
L'activité antifongique envers les souches fongiques isolées du blé tendre, café vert et pois-chiche a été recherchée par deux méthodes : méthode de double couche et méthode de confrontation.

Chez les souches des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle ; la sélection des isolats bactériens à effet antifongique consiste à la production de substances actives capables d'inhiber la croissance de ces moisissures.

#### II.4.1.1. Résultats de criblage par la méthode de double couche

Lors du premier criblage, 96 souches de bactéries lactiques ont été testées pour l'activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* par la méthode de double couche.

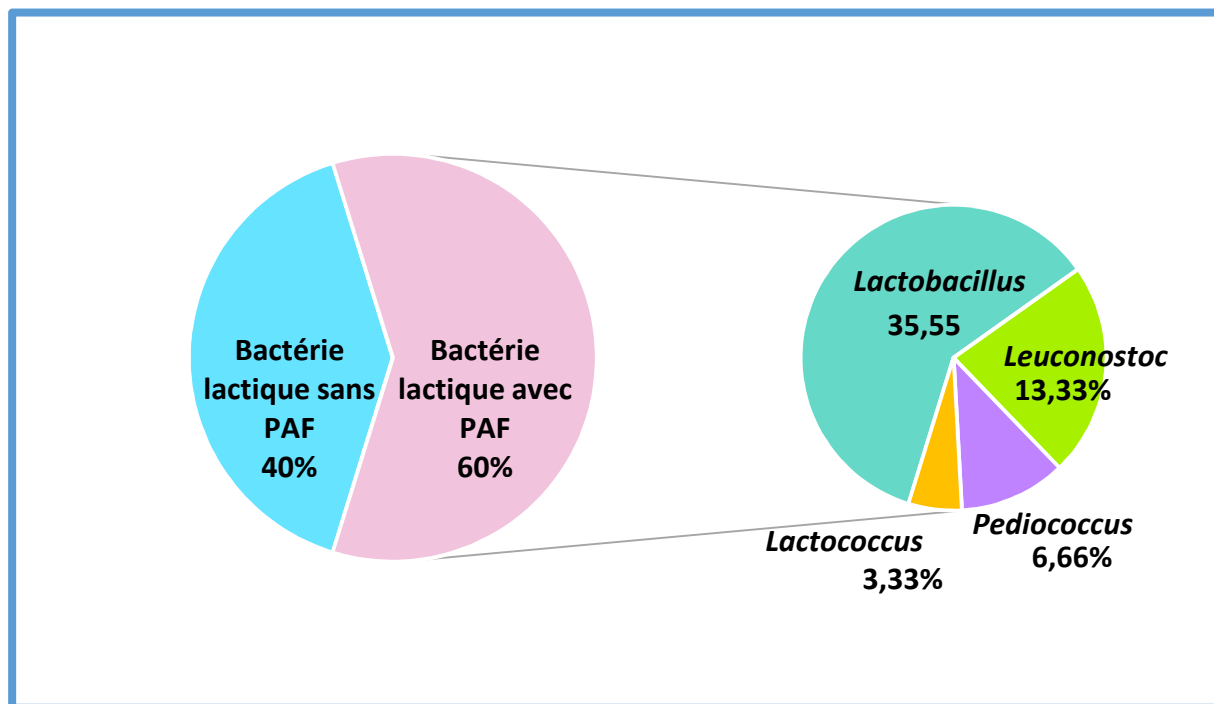
L'interaction entre les souches lactiques et *Aspergillus fumigatus* varie entre aucune inhibition visible et l'absence totale de croissance fongique comme le montre l'aspect des boîtes de pétri indiquées dans la figure 49



**Figure 49:** Activité antifongique des bactéries lactiques contre *A.fumigatus* par la méthode de double couche

( A : témoin, B : faible activité inhibitrice, C : moyenne activité inhibitrice , D : forte activité inhibitrice, E : pas de croissance antifongique) .

60% des souches lactiques ont montré leurs pouvoirs d'inhiber la germination des spores dont la majorité appartenait au genre *Lactobacillus* avec un pourcentage correspondant à 35,55%, cependant 13, 33% , 6.66% et 3.33% des isolats à effet antifongique appartenaient aux genres *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Lactococcus* respectivement .Par contre toutes les souches appartenant aux genres *Enterococcus* et *Streptococcus* n'ont montré aucune activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* (figure 50).



**Figure 50** : Distribution des genres selon l'activité antifongique

Ces résultats se rapprochent de ceux de **Gerez et al.(2009)** qui ont rapporté que parmi 95 souches lactiques 63 sont capables d'inhiber la germination des spores , de la même manière **Lačanin et al.,(2017)** ont rapporté que 61% des isolats lactiques ont un effet antifongique sur la croissance des moisissures testées. Par contre **Laref(2013)** a rapporté que 16,66% des isolats lactiques présentaient une activité antifongique dont 11% sont des *Lactobacillus*. Dans cette étude aucune souche lactique appartenant aux genres *Enterococcus* et *Streptococcus* n'a montré une inhibition antifongique cela s'oppose avec les travaux **Kivanc et al., (2014)** , qui ont rapporté que *Enterococcus durans* F2.1 isolé à partir du Tarhana a une forte activité antifongique contre un large spectre de moisissure.

#### II.4.1.2. Résultat de l'activité antifongique par la méthode de confrontation

L'évaluation in vitro de l'activité antifongique des bactéries lactiques par la méthode de confrontation contre *Aspergillus fumigatus* est présentée dans le tableau 21 qui montre que les 58,33% de bactéries lactiques testées ont montré leur activité antifongique dont (35,41%, 11,45% ,6,25 % et 5,20% ) sont des *Lactobacillus* , *Leuconostoc* , *Pediococcus* et *Lactococcus* respectivement qui ont inhibé la croissance mycélienne de la souche *Aspergillus fumigatus* , ou le diamètre de la colonie fongique est diminué par rapport au diamètre du témoin fongique comme indique dans la figure 51 .



**Figure 51 :** Activité antifongique des bactéries lactiques par la méthode de confrontation

La comparaison des résultats de criblage des isolats lactiques à effet antifongique par la méthode de double couche par rapport à ceux obtenus par la méthode de confrontation a montré que 87,1% des souches ont un effet sur la croissance mycélienne et sur la germination des spores d'*Aspergillus fumigatus* en même temps. Cependant 7,85% des isolats ont un effet faible sur la croissance mycélienne uniquement, alors que 5,05% des isolats ont un effet sur la germination des spores seulement

Ces tests indiquent la synthèse des composés à activité antifongique par les souches lactiques testées

**Tableau 21 :** Criblage des bactéries lactiques à effet antifongique

Les souches lactiques	Méthode de double couche	Méthode de confrontation		inhibition sur milieu liquide (%)
		Diamètre de la colonie fongique (mm)	Pourcentage d'inhibition(%)	
<i>Lactobacillus plantarum (lac1)</i>	+++	8,66	65,33±2,30	66,04±0,77
<i>Lactobacillus plantarum (lac 2)</i>	+++	8	68±4	65,06±2,03
<i>Lactobacillus plantarum (lac3)</i>	+++	4,66	81,33±2,30	69,06±1,38
<i>Lactobacillus rhamnos (lac6)</i>	++	11,33	54,66±2,30	18,51±2,25
<i>Lactobacillus acidophilus (lac9)</i>	+++	5	80±4	65,69±1,72
<i>Lactobacillus fermentum (lac11)</i>	++++	0	100%	95,65±0,40
<i>Lactobacillus acidophilus (lac 22)</i>	+++	8,33	66,66±4,61	65,55±2,25
<i>Lactobacillus acidophilus (lac26)</i>	+++	6,66	73,33±2,30	71,35±1,40
<i>Lactobacillus casei (lac 38)</i>	++++	0	100%	82,24± 22,79
<i>Lactobacillus casei (lac39)</i>	+++	7,66	69,33±4,61	54,32±2,17
<i>Lactobacillus brevis (lac 41)</i>	+	19,33	22,66±16,16	2,59±1,48
<i>Lactobacillus brevis (lac 42)</i>	-	24,66	1,33±2,30	0

<i>Lactobacillus brevis (lac45)</i>	-	25	0%	0
<i>Lactobacillus reutri (lac 52)</i>	-	25	0%	0
<i>Lactobacillus rhamnos (lac 54)</i>	++	14	44±4	13,70±4,49
<i>Lactobacillus plantarum (lac 55)</i>	+++	6,33	74,66±2,30	71,35±2,99
<i>Lactobacillus casei (lac 56)</i>	++++	0,66	97,33±4,61	90±5,70
<i>Lactobacillus plantarum (lac 57)</i>	+++	8,33	66,66±4,61	53,45±2,73
<i>Lactobacillus plantarum (lac 58)</i>	+++	7,33	70,66±2,30	60,37±2,31
<i>Lactobacillus frumenti (lac 60)</i>	++	12,33	50,66±2,30	36,04±3,44
<i>Lactobacillus fermentum (lac 61)</i>	+++	7,66	69,33±2,30	49,38±7,70
<i>Lactobacillus brevis (lac 62)</i>	+	25	0%	1,11±1,92
<i>Lactobacillus kimchii (lac65)</i>	++	16,33	34,66±2,30	6,17±5,65
<i>Lactobacillus homohiochii (lac 67)</i>	++++	0	100%	91,97±2,82
<i>Lactobacillus casei (lac 68)</i>	+	16,66	33,33±6,11	5,92±5,01
<i>Lactobacillus plantarum (lac 69)</i>	-	24,66	1,33±2,30	0
<i>Lactobacillus casei (lac 71)</i>	-	24	4±4	0
<i>Lactobacillus pentosus (lac 72)</i>	++++	0	100%	86,41±7,70
<i>Lactobacillus frumenti (lac 73)</i>	+	17,33	30,66±6,11	4,93±2,13
<i>Lactobacillus harbinensis (lac 74)</i>	+	20,33	18,66±2,30	0
<i>Lactobacillus frumenti (lac 75)</i>	+	17,66	29,33±2,30	0
<i>Lactobacillus enshiensis (lac 76)</i>	+	19	24±4	11,11±3,70
<i>Lactobacillus frumenti (lac 77)</i>	++	12	52±4	22,22±3,70
<i>Lactobacillus frumenti (lac 78)</i>	-	25	0%	0
<i>Lactobacillus reutri (lac 79)</i>	+	24,33	2,66±2,30	0
<i>Lactobacillus frumenti (lac 80)</i>	++	11,66	53,33±2,30	39,50±4,27
<i>Lactobacillus reutri (lac 81)</i>	+	21,33	14,66±2,30	0
<i>Lactobacillus frumenti (lac 82)</i>	++	9,66	61,33±2,30	61,72±5,65
<i>Leuconostoc mesenteroides CO2</i>	++	17,66	55,83±6,29	29,62±3,70
<i>Leuconostoc mesenteroides CO13</i>	++	9,66	75,83±8,03	37,03±7,19
<i>Leuconostoc mesenteroides CO22</i>	++	40	0	40,33±1,67
<i>Leuconostoc mesenteroides CO27</i>	+	40	0	0
<i>Leuconostoc mesenteroides CO30</i>	++++	2,66	93,33±6,29	18,67±4,52
<i>Leuconostoc mesenteroides CO31</i>	+	20,66	48,33±7,63	0
<i>Leuconostoc mesenteroides CO36</i>	+	19,33	51,66±8,77	0
<i>Leuconostoc mesenteroides CO40</i>	+++	11,66	70,83±7,63	27,5±7,67
<i>Leuconostoc mesenteroides CO45</i>	-	40	0	0
<i>Leuconostoc mesenteroides CO46</i>	-	40	0	0
<i>Leuconostoc mesenteroides CO48</i>	+	25	37,5±13,91	0
<i>Leuconostoc mesenteroides CO49</i>	++	10,66	73,33±3,81	11,04±1,22
<i>Leuconostoc mesenteroides CO51</i>	+++	7	82,5±2,5	33,4±10



<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO52	++	9,33	76,66±15,06	90,87±2,60
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO58	+	21,33	46,66±9,46	0
<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO8	+++	10	75±7,5	85,18±7,88
<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO28	+++	7,66	80,83±3,81	74,04± 3,90
<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO33	++++	2	95±5	62,96±3,70
<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO34	+++	10,66	73,33±5,20	25,7±0,20
<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO44	+	27	32,5±15,61	0
<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO47	++	27	32,5±4,33	10,03±10,91
<i>Lactococcus lactis</i> CO23	+	37,33	6,66±6,29	0
<i>Lactococcus lactis</i> CO32	+++	12,33	69,16±6,29	56,77±4,17
<i>Lactococcus lactis</i> CO35	-	39,66	0,83±1,44	0
<i>Lactococcus lactis</i> CO38	+++	11,33	71,66±8,03	34,59±15,87
<i>Lactococcus lactis</i> CO50	+	31	22,5±5	0

++++ pas de croissance fongique , +++ forte inhibition antifongique, ++ moyenne inhibition antifongique + faible inhibition antifongique , pas d'inhibition antifongique

#### II.4.2. Résultat de l'activité antifongique sur milieu liquide

L'effet des souches lactiques productrices de composés extracellulaires sur la biomasse fongique développée par *Aspergillus fumigatus* a été analysé au moyen de changements quantitatifs se produisant dans les processus d'accumulation de biomasse, dans des conditions de croissance simultanée des deux espèces.

De manière générale, la plus part des souches de bactéries lactiques ont induit divers degrés d'inhibition sur la biomasse fongique d'*Aspergillus fumigatus* comparativement au témoin.

La biomasse fongique a été fortement inhibée par les souches *L. fermentum* (lac11) , *L. homohiochii* (lac 67), *L. casei* (lac 56) , *L. pentosus* (lac 72) , *L. casei* (lac 38), *L. mesenteroide* (CO52) et *P.pentosaceus*(CO8) , avec des pourcentages d'inhibition supérieur à 82% (figure 53 et 54). D'une autre part l'inhibition de la croissance de la biomasse fongique la plus faible a été induite par les souches *L. brevis* (lac 41) , *L. brevis* ( Lac 62) , *L. kimchii* (lac 65) , *L. casei* (lac 68 , *L. frumenti* (lac 73), *L. enshiensis* (lac 76), *P. pentosaceus* (CO47) et *L. mesenteroides* (CO49) avec un pourcentage d'inhibition inférieur à 12 % comme indiqué dans les figures 52 et 53.

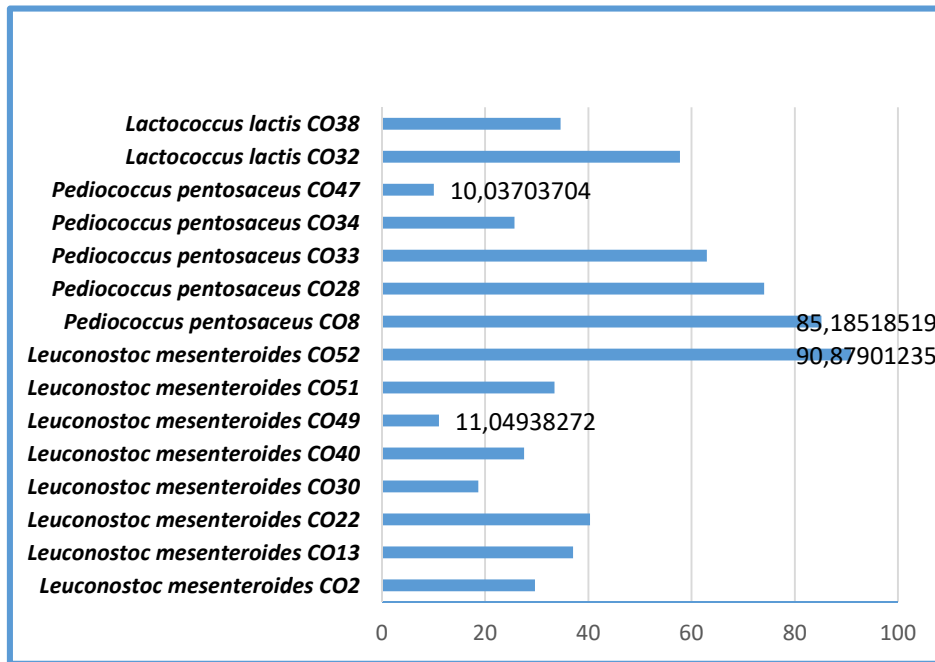


Figure 52: activité antifongique des coques lactiques sur système liquide

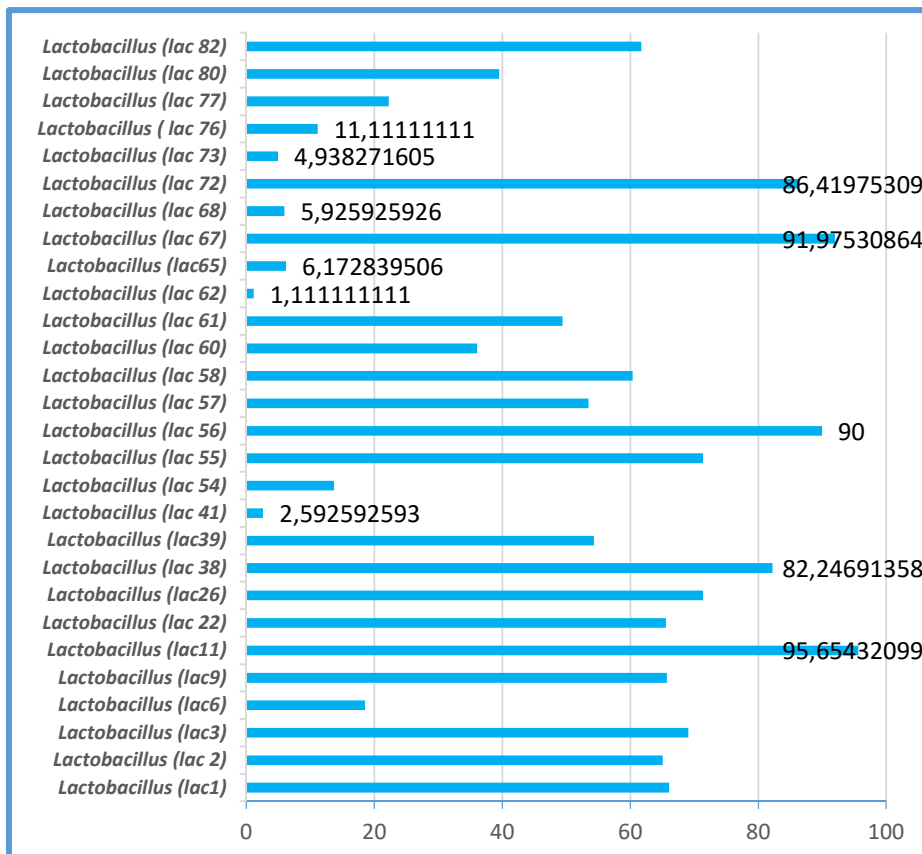


Figure 53: Activité antifongique des *Lactobacillus* sur système liquide

Le comportement d'*Aspergillus fumigatus* en présence des bactéries lactiques était différent selon la souche co-cultivée comme indiqué dans la figure 54.





**Figure 54 :** Aspect du biofilm fongique inhibé par les bactéries lactiques sur milieu liquide

Sous l'influence des souches à forte activité inhibitrice un petit biofilm fongique non épais sporulé sur sa surface a été formé.

Les souches *L. frumenti* (lac 82), *L. frumenti* (lac 77) et *L. lactis*(CO32) ont partiellement inhibé la formation de biofilm avec une grande zone centrale dépourvue de mycélium et de faibles points de sporulation. Le biofilm fongique s'est formé recouvert à la surface, mais la sporulation a été inhibée sous l'influence de la souche *L.plantarum* (lac 55). Sous l'influence de *L. casei* (lac 56) quelques petites colonies fongiques séparées et sporulées ont été formées.

Ces résultats sont en accord avec ceux du **Matei et al.(2016)** qui ont testé l'activité antifongique des bactéries lactiques contre *P. expansum* sur milieu liquide ou l'activité antifongique était au tour de 8,82 % jusqu'à 80%, même des résultats similaires ont été rapportés par **Adebayo et Aderiye (2010)**, lorsqu'ils ont testé l'activité antifongique des souches du genre *Lactobacillus* contre *P. citrinum* sur milieu liquide.

De plus, selon **Matei et al. (2016)**, les composés antifongiques produits par les souches de bactéries lactiques pourraient limiter la croissance fongique et la formation de biofilms, conduisant à l'idée que les métabolites extracellulaires peuvent interagir avec des composés influençant les systèmes de détection du quorum chez les champignons. Selon les recherches sur le biofilm fongique, ces composants, qui comprennent différents alcools, peptides, lipides, acétaldéhyde et produits chimiques volatils, peuvent se comporter comme des molécules impliquées dans la morphogénèse, la production de mycélium, la pathogénicité et d'autres fonctions fongiques.

D'après nos résultats sur l'activité antifongique de ces isolats, le milieu solide est meilleur que le milieu liquide. Ce type d'observation a été publié par d'autres chercheurs (**Shomura et al., 1979 ; Iwai et al. Ornura, 1982**). Le passage d'un milieu solide à un milieu liquide pose parfois un problème d'efficacité de production d'un agent antimicrobien en milieu liquide. **Shomura et al. (1979)** et **Nisbet (1982)** l'expliquent car la distribution des nutriments dans les milieux liquides varie avec le temps alors que leur distribution en milieu solide et autour

des colonies ne varie pas ou varie peu. Au contraire **Matei et al.(2016)** lors de leur étude sur la bioprotection des produits alimentaires frais contre la moisissure bleue en utilisant des bactéries lactiques aux propriétés antifongiques ont rapporté qu'un pourcentage plus élevé d'inhibition de la croissance fongique dans les milieux liquides que sur milieux solides cela a été expliqué par la plus grande diffusion des composés antifongiques et leur fort contact avec les spores fongiques dans les milieux liquides .

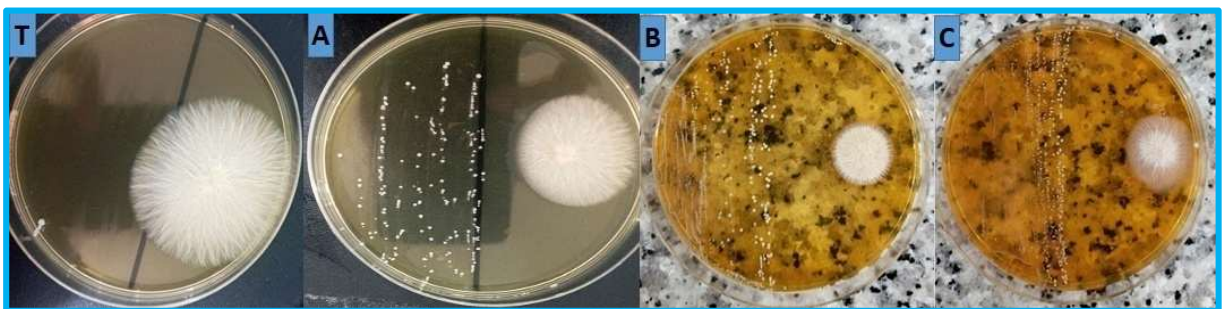
#### II.4.3. Résultats de la détermination du spectre antifongique

Dans ce test uniquement les souches ayant une activité antifongique forte et moyenne ont été utilisées pour la détermination du spectre antifongique

Différents degrés d'inhibition ont été observés contre *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Aspergillus niger* , *A. clavatus*, *A. carbonarius* , *P. Italicum* , *P. digitatum* , *F. graminearum* et *cladosporium* (tableau 22 ). Il a également été observé qu'en présence des souches antagonistes, l'aspect macroscopique des colonies fongiques changeait, les colonies sont floconneuses et ont montré une activité conidiogène diminuée de plus, les conidies sont généralement plus éloignées de la croissance bactérienne

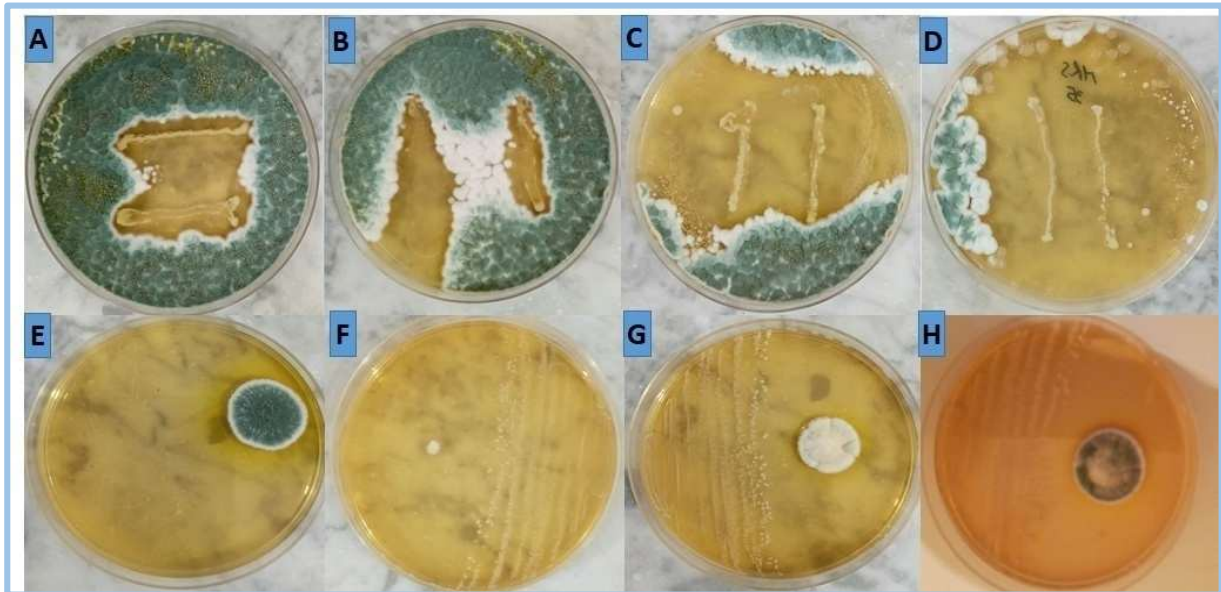
Cinq souches lactiques (*L. plantarum* (lac 01), *L. frumenti* (lac 77), *L. mesenteroides* (CO52), *P. pentosaceus* (CO8), *P. pentosaceus* (CO28)) ont montré une capacité à inhiber fortement les cibles fongiques sélectionnés et ce sont les seuls souches lactiques effectives contre *A. niger* la plus résistante.

globalement, *Fusarium graminearum* , *Cladosporium* et *Penicillium digitatum* sont les champignons les plus fréquemment inhibés , l'aspect macroscopique de ces espèces fongiques est indiqué dans les figures 55 et 56.



**Figure 55 :** Inhibition de la croissance du *Fusarium graminearum* par la méthode de confrontation

( T : témoin, A :*Lb. plantarum* Lac57, B : *Leuconostoc mesenteroides* CO30, C :*Lb. casei* Lac 39)

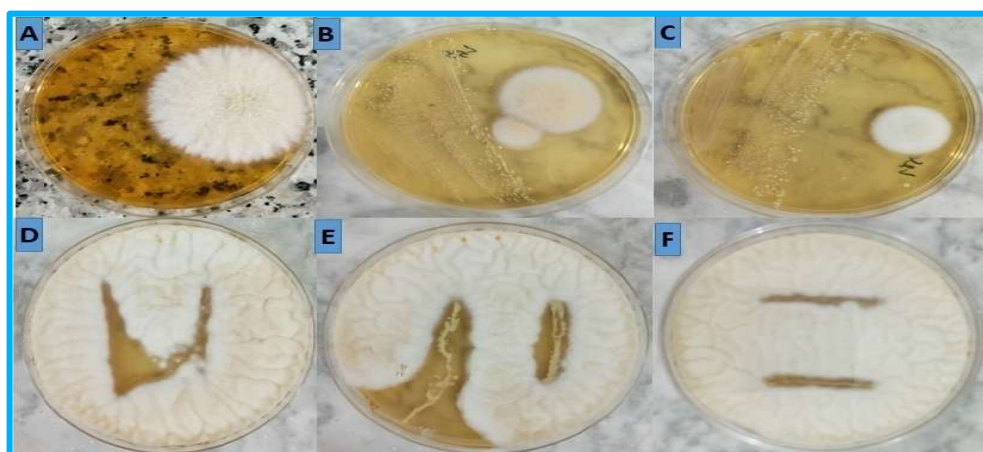


**Figure 56:** Inhibition de la croissance de *Penicillium digitatum* par les bactéries lactiques

( E : témoin , A : *L. homohiochii* Lac , B : *Lactococcus lactis* CO38, C : *L. casei* Lac38, D : *L. plantarum* Lac 55, F : *L. acidophilus* Lac9, G : *L. plantarum* Lac57, H : *Lactococcus lactis* CO38)

La croissance mycélienne ainsi que la germination des conidies d'*A. clavatus* et *P. italicum* ont été inhibées par la majorité des souches lactiques avec un pourcentage variant entre (10,5% et 100%) et ( 8,76- 100%) respectivement.

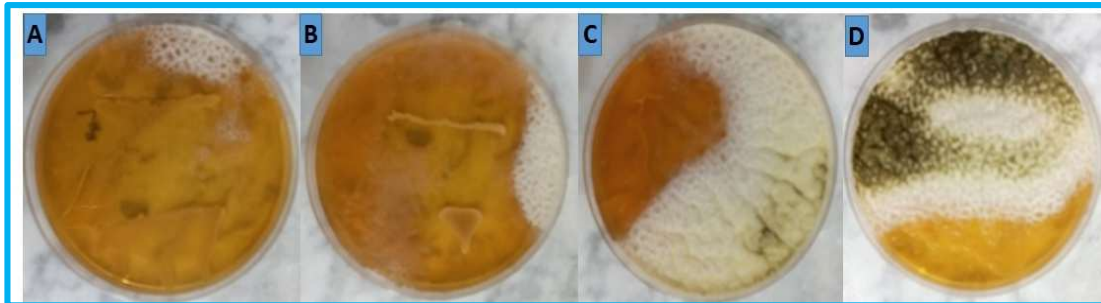
Des pourcentages très élevés (>70%) de l'inhibition de la croissance mycélienne d'*A. ochraceus* ont été obtenus par les souches *L. plantarum* (lac 01), *L. fermentum* (lac 11), *L. casei* (lac 38), *L. casei* (lac 39), *L. rhamnos* (lac 54), *L. plantarum* (lac55) , *L. frumenti* (lac 77), alors qu'ils étaient très faibles avec *L. rhamnos* (lac6) , *L. acidophilus* (lac26) , *L. plantarum* (lac57), *L. pentosus* (lac 72) comme indiqué dans la figure 57.



**Figure 57:** B : L'inhibition d'*Aspergillus ochraceus* par la méthode de double couche et de confrontation ( A : témoin , B : *L. acidophilus* Lac 26, C : *L. plantarum* Lac 03, D : *L. rhamnos* Lac 06, E : *L. plantarum* Lac57, F : *Leuconostoc mesenteroides* CO22)



Les souches lactiques *L. plantarum* (lac55), *L. frumenti* (lac77) et *L. mesenteroides* (CO52) ont fortement inhibé la germination des spores ainsi que la croissance mycélienne d'*A. carbonarius* avec des pourcentages correspondant à 92,2% , 60 et 92,1% respectivement, la figure 58 montre l'aspect macroscopique de cette espèce fongique



**Figure 58 :** Inhibition de la croissance d'*Aspergillus carbonarius* par les bactéries lactiques

(A : *Lb. plantarum* (lac55), B : *Lb. frumenti* (lac77), C : *Ln. mesenteroides* CO2, D : *Lb. acidophilus* lac26)

En plus *Aspergillus flavus* a été fortement inhibé par les souches *Lb. acidophilus* (lac22), *Lb. plantarum* (lac55), *Lb. frumenti* (lac77), *Leuconostoc mesenteroides* (CO13) et (CO52) et moyennement inhibé par *Lb. casei* (Lac 39) et *Lb. acidophilus* (Lac9) comme indiqué dans la figure 59.



**Figure 59:** Inhibition de la croissance d'*Aspergillus flavus* par les bactéries lactiques

(T : témoin , A et D : *Lb. casei* Lac 39 , Bet E : *Lb. acidophilus* Lac9)

Tableau 22: spectre antifongique des bactéries lactiques

	<i>A.ochraceus</i>		<i>A.flavus</i>		<i>A.carbonarus</i>		<i>A.clavatus</i>		<i>A.niger</i>		<i>P.italicum</i>		<i>P.digitatum</i>		<i>F..graminiruem</i>		<i>Cladosporium</i>	
<i>Lb. plantarum(lac01)</i>	+++	73,80	+	34	++	10,5	+++	76	++	50	+++	48,8	++	45,6	+++	77,77	+++	0
<i>Lb. plantarum Lac02</i>	-	0	+	32	-	0	+	0	-	0	+	0	++	48,9	+++	84,4	+++	0
<i>Lb. plantarumLac 03</i>	+++	52,38	-	0	+	0	+++	64	+	40	+++	48,8	+++	80,1	+++	51,19	+++	0
<i>Lb. rhamnos Lac 06</i>	+	0	++	46	+	0	+	0	-	0	++	8,76	+++	75,5	+++	40	+++	0
<i>Lb. acidophilus Lac9</i>	++	28,57	++	52	+	9,8	+	0	-	0	+++	53,3	++++	98,2	+++	59,3	+++	0
<i>Lb. fermentum Lac 11</i>	+++	71,42	+	0	++	16,6	+++	84	-	0	++	22,8	+++	70,2	+++	52,3	+++	0
<i>Lb. acidophilusLac 22</i>	++	40,47	+++	98	++	15,6	+++	74	-	0	++	21,9	++	52,8	+++	100	++++	0
<i>Lb. acidophilusLac26</i>	+	4,76	+	18	+	0	++	53	-	0	+	0	++	49,6	+++	82,22	++++	0
<i>Lb. casei Lac38</i>	+++	76,19	-	0	++	10,5	++++	86	-	0	+++	57,9	+++	82,5	+++	71,11	++++	0
<i>Lb. casei Lac 39</i>	+++	78,57	++	50	++	11,2	++	43	-	0	++	20,5	++	52,5	+++	68,88	++++	0
<i>Lb. rhamnos Lac54</i>	+++	88,09	+	20	+++	60	+++	70	-	0	+++	60	+++	47,5	+++	57,77	++++	0
<i>Lb. plantarumLac 55</i>	++++	100	+++	80	+++	92,2	+++	75	+	5	++++	83,3	++++	60,5	+++	100	++++	0
<i>Lb. casei Lac 56</i>	++	42,85	-	0	+	11,2	++	40	-	0	++	35,7	++	54,8	+++	31,11	+++	0
<i>Lb. plantarum Lac57</i>	+	0	-	0	-	0	+	0	-	0	++	10,9	++	34	+++	33,33	+++	0
<i>Lb ; plantarumLac58</i>	++	47,85	+	0	+	11	++	54	-	0	++++	65	++++		+++	22,22	+++	0
<i>Lb. frumenti Lac60</i>	-	0	-	0	-	0	+	12	-	0	++	0	++	53,7	+++	11,5	+++	0
<i>Lb. kimchiiLac65</i>	++	21,42	-	0	+	10	+	0	-	0	+++	23,6	++	41	+++	53,33	+++	0

	<i>A.ochraceus</i>		<i>A.flavus</i>		<i>A.carbonarus</i>		<i>A.clavatus</i>		<i>A.niger</i>		<i>P.italicum</i>		<i>P.digitatum</i>		<i>F..graminiruem</i>		<i>Cladosporium</i>	
<i>Lb. homohiochii</i> Lac 67	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	++	0	++	40,8	+++	62,22	+++	0
<i>Lb. pentosus</i> Lac72	+	0	-	0	-	0	-	0	-	0	++	-	++	39,7	+++	45,5	++++	0
<i>Lb. frumenti</i> Lac77	+++	92,85	+++	70	+++	60	++	57	+	7	++++	79,1	++++	98,6	+++	80,5	+++	0
<i>Lb. frumenti</i> Lac80	++	35,71	+	30	+	0	++	10	-	0	+	0	++	51	+++	45,5	+++	0
<i>Lb. frumenti</i> Lac82	+	0	-	0	-	0	+	-	-	0	+	0	++	41,8	+++	40,3	+++	0
<i>Leuconostoc</i> CO2	+	14,2	+++	35,38	++	10,9	+++	100	-	-	+++	100	+++	59,9	+++	AC	+++	AC
<i>Leuconostoc</i> CO13	+++	14,28	+++	83,87	++	12,3	+++	84	-	-	++	60,2	+++	59,9	+++	AC	+++	98
<i>Leuconostoc</i> CO22	+	18,36	++	-	-	-	+++	70	-	-	++	44,2	+++	60,3	+++	AC	+++	AC
<i>Leuconostoc</i> CO30	+	8,16	++	-	-	-	++	10,5	-	-	++	39	++	52,3	+++	77,7	+++	97
<i>Leuconostoc</i> CO40	+	10,11	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+++	70,6	+++	66,6	+++	AC
<i>Leuconostoc</i> CO49	.	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	++	53,3	+++	70,4	+++	90
<i>Leuconostoc</i> CO51	-	-	-	-	-	-	++	52,6	-	-	+	27,6	++	46,6	+++	63,71	+++	Ac
<i>Leuconostoc</i> CO52	+++	38,77	+++	64,61	+++	92,1	+++	76,66	++	43,3	+++	75	++++	100	+++	AC	+++	AC
<i>Pediococcus</i> CO8	+++	32,65	++	53,33	+++	20	+++	84,5	+	25,5	+++	57,5	++++	100	+++	AC	+++	AC
<i>Pediococcus</i> CO28	++	34,69	+++	51,2	++	15,2	+++	70,6	+	10,1	+++	100	++++	100	+++	98,4	+++	AC
<i>Pediococcus</i> CO33	++	59,18	++	52,3	++	14,9	+++	74,6	+	-	++	40,1	+++	56,7	+++	48,22	+++	80
<i>Pediococcus</i> CO34	+	16,32	-	-	-	-	++	50,1	-	-	++	47,5	+++	57,9	+++	73,3	+++	91
<i>Pediococcus</i> CO47	+	16,32	-	-	-	-	++	53,33	-	-	+	33,3	++	87,8	+++	73,3	+++	92
<i>Lactococcus</i> CO32	-	-	-	-	-	-	+	23,5	-	-	++	45,5	+++	70	+++	28,8	+++	80,7
<i>Lactococcus</i> CO38	+	-	-	-	-	-	+	34,8	-	-	++	38,9	+	25	+++	-	+++	AC

Des travaux précédents ont montré la grande activité antifongique de *Lactobacillus plantarum* contre plusieurs moisissures. **Gerez et al.(2013)** ont rapporté que les souches CRL 681, CRL788, CRL759 et CRL 142 qui appartiennent à l'espèce *Lactobacillus plantarum* possèdent un effet inhibiteur très fort (> 80%) contre *Aspergillus niger*, *Fusarium graminearum*, *Penicillium digitatum* et *G.citri-auranti*, cette espèce a aussi une bonne activité contre *Penicillium solitum*, *Aspergillus versicolor* et *C.herbarum* (**Cheang et al.,2014**). En plus elle a inhibé la croissance mycélienne d'un large spectre de moisissure contaminant le blé y compris *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium gibirum*, *Aspergillus carbonarius* et *Aspergillus flavus* (**Belkacem, 2014**). *Penicillium commune*, *Yarrowia lipolytica*, *Aspergillus tubingensis* (**Ouiddir et al., 2019**)

Dans cette étude deux isolats *Pediococcus pentosaceus* ont montré leur forte activité inhibitrice avec un large spectre antifongique, par contre trois isolats de la même espèce ont une activité antifongique envers un certain nombre de souches avec différents degrés.

L'activité antifongiques des *Pediococcus pentosaceus* a été aussi signalée par plusieurs auteurs **Belkacem et al.(2014)** qui ont reporté que *Pediococcus pentosaceus* Lab 1 possèdent une activité antifongique contre *A.alternata* et *P.chrysogenum* seulement alors que *Pediococcus pentosaceus* LAB12 a montré une réduction significative de la croissance radiale d'*Aspergillus carbonarius*, *F. graminearum*, *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum* avec des pourcentages d'inhibition supérieurs à 50%. D'après les résultats de **Sadeghi et al.(2016)**, *Pediococcus pentosaceus* isolée à partir du levain d'orge complet avait un effet antifongique significatif sur *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*.

Selon **Lačanin et al.(2017)** 11 souches de *Pediococcus pentosaceus* isolées à partir du salami n'ont montré aucune activité antifongique vis-à-vis *Penicillium brevicompactum*.

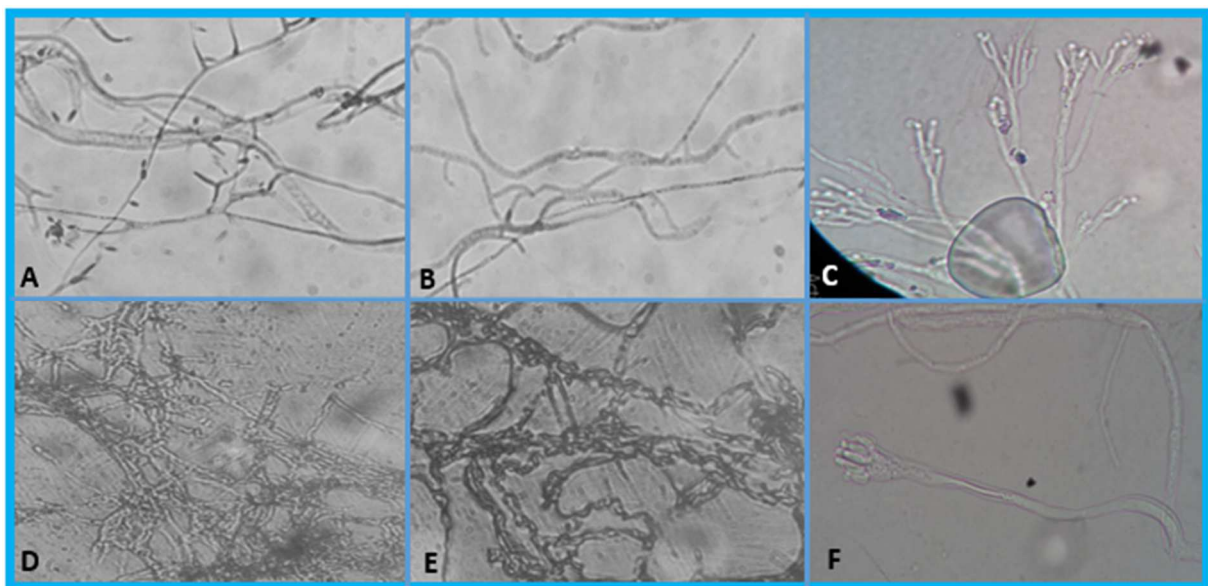
D'après **Ouiddir et al.(2019)** les souches *Leuconostoc mesenteroides* isolées à partir du lait de chamelle et du lait de chèvre ont complètement inhibé la croissance d'*Aspergillus tubingensis* mais vis-à-vis des autres souches fongiques utilisées, elles possèdent un court spectre antifongique qui diffère d'une souche à l'autre. Selon **Cabo et al.(2002)**, la souche *leuconostoc mesenteroides* a été testée pour son activité antifongique contre *P. discolor*, *P. commune*, *P. roqueforti*, *P.commune* et *Aspergillus versicolor* par la méthode de double couche sur milieu MRS où un effet antifongique moyen a été observé contre *P. discolor* et *Aspergillus versicolor* et un effet faible contre *P. commune* mais aucun effet n'avait été

observé contre *P.roqueforti*. Dans une autre étude *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides* n'ont montré aucune activité antifongique (Cheang et al .,2014)

#### II.4.4. Aspect microscopique des souches fongiques inhibées par les bactéries lactiques

L'étude des structures fongiques par microscopie optique a mis en évidence des altérations morphologiques des souches fongiques prises de la zone d'inhibition créée autour des stries bactériennes comme indiqué dans la figure 60

Les observations microscopiques ont montré que les hyphes des *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* et *A. ochraceus* ont été endommagés par les substances antifongiques produites par les souches *L. plantarum* (Lac 55), *L. plantarum* Lac 1, ainsi que une réduction marquée de la formation de conidiophores a été observé chez *A. carbonarius* , *A. clavatus*, *F. graminearum* inhibées par les souches *Lactobacillus* . Les observations microscopiques ont montré aussi que les conidiophores de *P. italicum* et *P. digitatum* portent des chaînes rares et tordues d'une conidie typique . Ces changements dans la morphologie fongique peuvent être dus à l'altération de la membrane cytoplasmique en inhibant la synthèse d'ergostérol dans la cellule fongique ou à l'altération de la paroi cellulaire en inhibant la synthèse de  $\beta$ -glucans.



**Figure 60** : Aspects microscopiques des souches fongiques inhibées par les bactéries lactiques(A : *F. graminearum*( agrandissement100x) , B : *A. fumigatus* ( agrandissement100x): C : *P. digitatum* ( agrandissement 400x) ,D : *A. flavus*( agrandissement 400x) E :*A. ochraceus*, F :*P. italicum*( agrandissement 400x)

Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Matei et al. (2015) qui ont rapporté que des altérations hyphales , des hyphes vacuolées , des conidiophores décomposés rares et tordus , une désorganisation des métules atypiques ainsi que un retard dans la formation des



conidies de *Penicillium digitatum* ont été observées dans la zone d'inhibition créées autour des spots bactériennes. Ils sont aussi sont similaires à ceux de **Deepthi et al. (2016)** dans lesquels l'effet de *Lactobacillus plantarum* MYS6 sur la morphologie d'*A. flavus* et d'*A. parasiticus* a montré une croissance hyphale déformée ainsi qu'un développement conidial et une déformation substantielle.

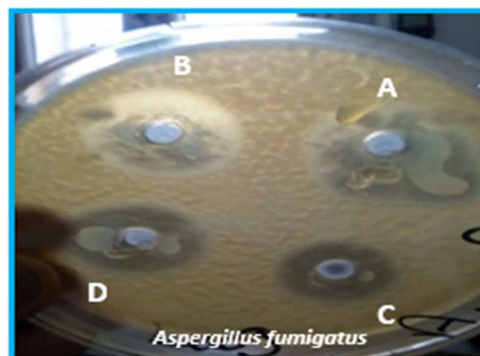
**Pradhan et al. (2021)** ont rapporté qu' en présence d'isolats lactiques, la sporulation chez les champignons aflatoxigènes a été affectée par des structures hyphales aberrantes déformées et a conduit à une déformation de la morphogénèse conidiale.

Selon **Chanda et al.(2009)** Les isolats bactériens ont été trouvés en masse collective autour des hyphes perturbant la structure fongique alors qu'en l'absence d'isolats, une morphogénèse saine a été observée avec des conidiophores et des conidies bien développés, avec un grand nombre de vésicules agissant comme un entrepôt de AFB1.

D'autre observation microscopiques ont montré que l'aspect morphologique d'*Aspergillus niger* , *A. flavus* , *A. carbonarius* , inhibé par les souches lactiques n'a pas changé . Cette activité antifongique non morphogène contre un large spectre de champignons, peut être probablement due à l'altération de la perméabilité membranaire par les agents antifongiques.

#### II.4.5. Résultats de l'activité antifongique du surnageant acellulaire

L'activité antifongique d'une substance produite par les souches de bactéries lactiques, qui peuvent être contenues dans les surnageants, a été étudiée selon la méthode des puits. L'apparition d'une zone d'inhibition détermine la présence d'une activité antifongique comme indique dans la figure 61).



**Figure 61:** activité antifongique du surnageant acellulaire des bactéries lactiques

( A :*Lactobacillus plantarum* Lac3, B : *Lactobacillus plantarum* Lac2 , C :*Lactobacillus rhamnos* Lac6, D : *Lactobacillus plantarum* Lac1)

Le surnageant acellulaire de la majorité des bactéries lactiques utilisées a montré différents diamètres des inhibitions variant entre  $2,33 \pm 0,57$  et  $14,67 \pm 2,1$  mm (tableau 22). D'autre part, aucune zone d'inhibition n'a été observée autour des puits dans lesquels les surnageants acellulaires de *L. mesenteroides* CO49, *P. pentosaceus* CO47 et *L. lactis* CO38 ont été introduits.

Les surnageants des *L. fermentum* (Lac 11), *L. casei* (Lac 38), *L. homohiochii* (lac67), *P. pentosaceus* CO28 et *P. pentosaceus* CO33 ont montré une bonne activité antifongique avec des zones d'inhibition de 14 mm et 13 mm.

**Tableau 23:** diamètre de la zone d'inhibition

Le surnageant des bactéries lactiques	DI	Le surnageants des bactéries lactiques	DI
<i>Lactobacillus plantarum</i> Lac1	10,66±1,15	<i>Lactobacillus pentosus</i> Lac72	13,9±0,85
<i>Lactobacillus plantarum</i> Lac2	12,33±0,57	<i>Lactobacillus frumenti</i> Lac77	2,33±0,57
<i>Lactobacillus plantarum</i> Lac3	12,83±0,76	<i>Lactobacillus frumenti</i> Lac80	5,66±1,52
<i>Lactobacillus rhamnos</i> Lac6	8,66±0,57	<i>Lactobacillus frumenti</i> Lac82	7,16±0,76
<i>Lactobacillus acidophilus</i> Lac9	11,5±2,29	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO2	7.33±1
<i>Lactobacillus fermentum</i> Lac11	13,16±1,04	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO13	4±0.25
<i>Lactobacillus acidophilus</i> Lac22	12,03±1,26	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO22	10.83±0.33
<i>Lactobacillus acidophilus</i> Lac26	11,93±1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO30	9.12±0.22
<i>Lactobacillus casei</i> Lac38	13,5±1,32	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO40	5.33± 0.56
<i>Lactobacillus casei</i> Lac39	11,33±2,08	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO49	/
<i>Lactobacillus rhamnos</i> Lac54	5,16±1,25	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO51	11.2±2.75
<i>Lactobacillus plantarum</i> Lac55	9,96±0,95	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> CO52	11±0.98
<i>Lactobacillus casei</i> Lac56	14±0,5	<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO8	12.33±3
<i>Lactobacillus plantarum</i> Lac57	11±2,64	<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO28	14.67±2.1
<i>Lactobacillus plantarum</i> Lac58	8,26±0,25	<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO33	13.44±3
<i>Lactobacillus frumenti</i> Lac60	3,33±1,52	<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO34	9.98±0.42
<i>Lactobacillus fermentum</i> Lac61	9,83±0,76	<i>Pediococcus pentosaceus</i> CO47	/
<i>Lactobacillus kimchii</i> Lac65	3,83±1,75	<i>Lactococcus lactis</i> CO32	11.05±0.64
<i>Lactobacillus homohiochii</i> Lac67	14,16±0,28	<i>Lactococcus lactis</i> CO38	/

La zone d'inhibition d'un bon agent antimicrobien diffère d'un auteur à l'autre. Selon **Juodeikiene et al.(2018)**, des diamètres des zones d'inhibition autour de 19mm et 21 ont été atteints avec le surnageant acellulaire de *P. acidilactici* Ktu05-7 et *P. pentosaceus* KTU05-10 contre *P. chrysogenum*, le même diamètre a été rapporté par **Roy et al.(1996)** lorsqu'ils ont met en contact le surnageant acellulaire de *L. lactis* avec *A. flavus* et *A. parasiticus*.

Ce résultat indiquent que nos souches lactiques produisent des substances antimicrobiennes et que les substances actives accumulées dans le milieu de culture, qui a joué un rôle important dans inhibition de la croissance de (**Gerez et al., 2013**).

## II.4.6. Effet de variation des conditions de croissance sur la production de composés antifongiques

### II.4.6. 1. Activité antifongique à différentes températures d'incubation

Cinq bactéries lactiques ont été testées pour déterminer si les souches ont la capacité de produire leur activité inhibitrice à une large gamme de températures, dont les résultats sont présentés dans le tableau 23.

Les cultures ont été incapables de se développer à 45°C, et par conséquent aucune activité antifongique n'a pu être détectée dans ces conditions. Les cinq cultures ont bien poussé lorsqu'elles ont été incubées entre 25° et 37°C, affichant différents niveaux d'activité antifongique, ce qui a montré que la température 30°C conduit à une production optimale des composés antifongiques par toutes les souches lactiques utilisées. Par contre une diminution d'activité antifongique a été enregistré à 25°C et à 37°C.

**Tableau 24 :** Effet de la température d'incubation sur l'activité antifongique

Les souches lactiques	25°C	30°C	37°C	45°C
<i>Lactobacillus plantarum Lac01</i>	++	++++	++	/
<i>Lactobacillus frumenti Lac 77</i>	++	+++	+++	/
<i>Leuconostoc mesenteroides CO52</i>	+	+++	++	/
<i>Pediococcus pentasaceus CO8</i>	+	+++	++	/
<i>Pediococcus pentasaceus CO28</i>	+	+++	+	/

Cette observation est en accord avec une études précédente réalisée par **Roy et al.(1996)** quand ils ont étudié l'effet de la température d'incubation sur la production de composés antifongiques par *Lactococcus lactis subsp. lactis*, et ils ont rapporté une production optimale à 30 °C. **Corsetti et al. (1998)**, ont également signalé une production maximale d'acides organiques, ayant une activité antifongique, par *L. sanfrancisco (L. sanfranciscensis)* après 48 h d'incubation à 30 °C. **Laref(2013)**, a rapporté qu'aucune formation de conidies n'était observée quand les *Lactobacillus* ont été incubé à 30°C et ils ont suggéré que cette température est la meilleure pour la production des métabolites antifongiques. Par contre **Reddy et Ranganathan (1985)**, ont rapporté qu'une production maximale des métabolites antifongiques par *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis* s'est produite à 25°C. **Sangmanee et Hongpattarakere (2014)** quand *Lactobacillus plantarum K35* a été incubé 37°C.

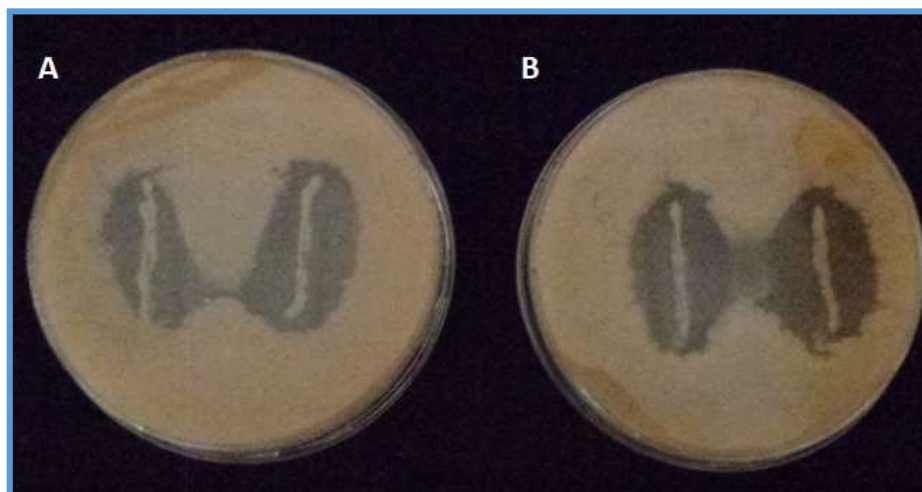
#### II.4.6. 2. Activité antifongique à différents pH du milieu

Les cinq souches lactiques productrices de substances antifongiques ont été cultivées sur MRS qui avait été ajusté pour un pH compris entre 4 et 8. Les cinq isolats lactiques se sont développés de manière compétente à chaque valeur de pH, bien que les cultures cultivées à pH 8 semblent légèrement moins que les autres cultures.

Les cultures ont été testées par rapport à l'indicateur fongique, *Aspergillus fumigatus*, après 72 h pour déterminer l'effet de la variation du pH sur l'activité antifongique. Les résultats sont présentés dans le tableau 24. L'activité antifongique semble être plus forte dans la gamme de pH neutre, et moyenne dans la gamme de pH inférieur, bien qu'une faible inhibition fongique soit encore observée lorsque les souches ont été cultivées à pH 8

**Tableau 25 :** Effet du pH du milieu de culture sur l'activité antifongique

Les souches lactiques	pH 4	pH 5	pH 6	pH7	pH 8
<i>Lactobacillus plantarum</i> (lac 01)	+	++	++++	+++	+
<i>Lactobacillus frumenti</i> (lac77)	++	+	+++	+++	+
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (CO52)	++	++	+++	++++	++
<i>Pediococcus pentasaceus</i> ( CO8)	++	++	+++	++	+
<i>Pediococcus pentasaceus</i> ( CO28)	+	++	+++	+++	+



**Figure 62 :** Activité antifongique du *L.plantarum* lac 01 en fonction du pH  
( A : pH= 4 , B : pH=8)

Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par **Sangmanee et Hongpattarakere (2014)** et par **Falguni et al.(2010)** qui ont rapporté qu'une optimale production de métabolites a été observé entre pH 6 à 7 par contre **Rouse et al. (2010)** ont montré que l'activité antifongique

de *Lactobacillus plantarum* semble être plus forte dans la gamme de pH inférieure. D'une autre part **Magnusson et schununer (2001)** ont rapporté que la souche *Lactobacillus coryniformis* présente une activité antifongique maximale aux pH élevés.

### II.4.6. 3. Activité antifongique en fonction de source de carbone

Pour déterminer s'il y avait une corrélation entre l'activité antifongique et la composition du milieu de culture, les cinq isolats antifongiques ont été cultivés dans une variété de sucres, dont les résultats sont présentés dans le tableau 26. Les résultats montrent que lorsqu'ils sont cultivés dans les différentes sources de carbone l'activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* est meilleure que en milieu MRS préparé avec du glucose.

**Tableau 26 :** Effet de la source du carbone sur l'activité antifongique

Les souches lactiques	Glucose	sucrose	lactose	Fructose	maltose	sorbitol
<i>Lactobacillus plantarum (lac 01)</i>	++++	++	++	+	++	++
<i>Lactobacillus frumenti (lac 03)</i>	+++	+	++	+	+	+++
<i>Leuconostoc mesenteroides CO52</i>	+++	++	+++	+	+++	++
<i>Pediococcus pentasaceus CO8</i>	+++	++	++	++	++	++
<i>Pediococcus pentasaceus CO28</i>	+++	++	+++	+	++	+

Des résultats similaires ont été obtenus par **Rouse et al.(2010)** et **Vahidi et al.(2010)** lorsque ils ont étudié l'effet de la source de carbone sur la croissance et la production des substances antifongiques par les bactéries lactiques , la même remarque a été faite par **El Banna ( 2006)** lors de son étude sur l'activité antimicrobienne de C.Xerosis NB-2 , il a rapporté que une activité inhibitrice élevée a été induite avec le glucose , et moins d'activité a été observée avec le maltose ,saccharose, galactose, ribose, fructose et arabinose .Cela a été expliqué que la variation dans l'environnement de fermentation entraîne souvent une perturbation de production d'agent antimicrobien. L'altération implique des changements à la fois dans les rendements et dans la composition des substances (**Roitman et al.,1990**)

Le glucose est généralement une source de carbone appropriée pour la croissance de micro-organismes. Cependant, des études ont montré que le glucose interfère avec la biosynthèse de nombreux agents antimicrobiens comme la bacitracine (**Haavik, 1974**) et l'actinomycine (**Gallo et Katz, 1972**) et il n'a pas été fréquemment utilisé pour le la croissance et la production de composés bioactifs à partir de certains actinomycètes (**Huck et al., 1991**). Les

polysaccharides ou les oligosaccharides se sont souvent avérés meilleurs que le glucose comme sources de carbone pour la production d'antibiotiques (Martin et Demain, 1980)

## II.4.7. Caractérisation des métabolites antifongiques

### II.4.7. 1. Influence de pH

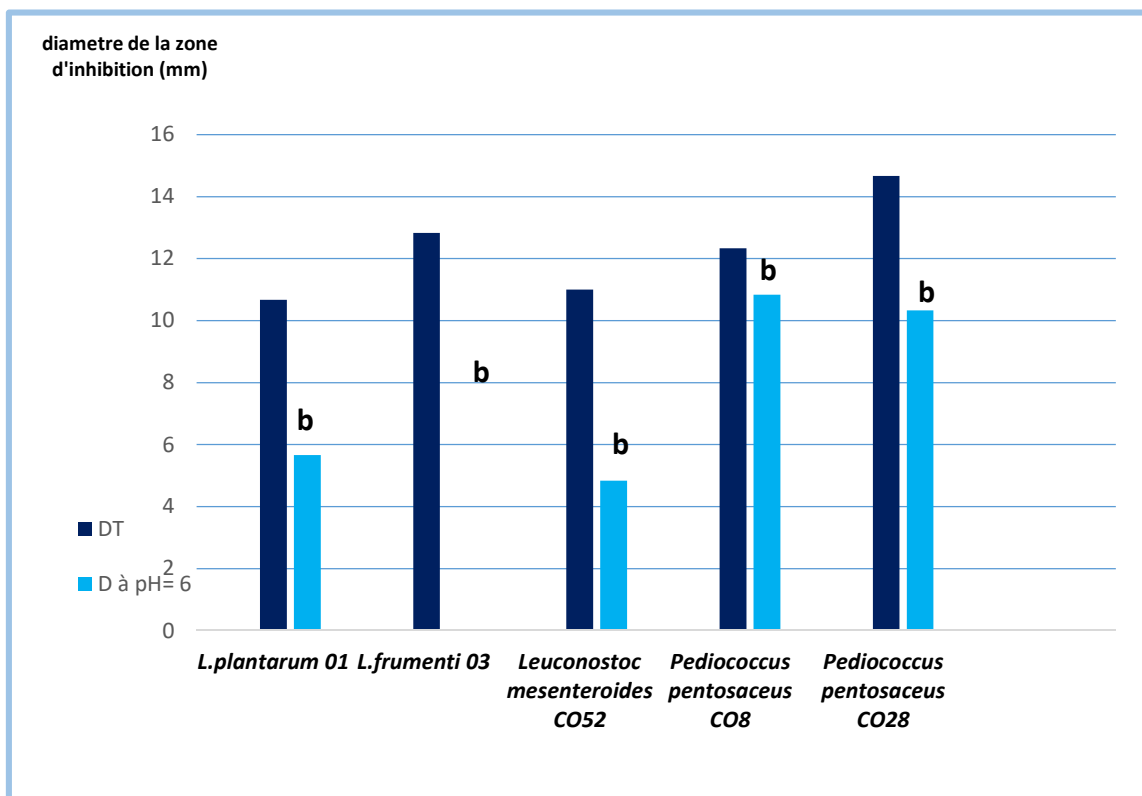
L'activité antifongique du surnageant acellulaire neutralisé a été déterminée. Les surnageants acellulaires des *Lb.plantarum lac 01*, *Lb.fruventi lac77*, *Ln. mesenteroides CO52*, *Ped. pentosaceus CO8*, *Ped. pentosaceus CO28* dont le pH a été ajusté à 6 ont présenté des effets différents sur l'inhibition de la croissance d'*Aspergillus fumigatus* avec de grandes zones claires autour du puits perforés par rapport au témoin . Le surnageant acellulaire de *P. pentosaceus CO8* a présenté l'effet antifongique le plus fort (10,83mm) et le surnageant acellulaire de *L. mesenteroides CO52* présenté l'effet antifongique le plus faible avec (4,83mm) comme indiqué dans la figure 64

Ces résultats indiquent qu'à l'exception de l'acide organique, il pourrait y avoir d'autres substances ayant une activité antifongique dans le surnageant acellulaire . D'une autre part cette activité a été éliminée avec le surnageant acellulaire de *L. frumentii lac 77* ce qui indique la nature acide de ces métabolites.

Cette activité antifongique dépendante du pH était semblable à de nombreux rapports antérieurs (Niku-Paavola et al., 1999 ; DeMuyne et al., 2004 ; Yang et Chang, 2008 ; Ben Taheur et al.,2019 ).

Selon Özogul and Hamed (2018), l'acide lactique et l'acide acétique sont les substances antimicrobiennes les plus importantes des bactéries lactiques , ils ont généralement un effet synergique sur l'inhibition de la croissances des moisissures en raison de l'environnement à pKa le plus élevé(Batish et al., 1997)

L'activité inhibitrice des acides pourrait avoir un effet spécifique sur l'activité métabolique ou l'acidification du cytoplasme, qui affecte la force proton motrice de la membrane en inhibant directement la croissance fongique (Young et Foegeding, 1993 ;Piper et al., 2001).



**Figure 63 :** Diamètres des zones d'inhibition fongique des surnageants acellulaires neutralisés( b : différence significative)

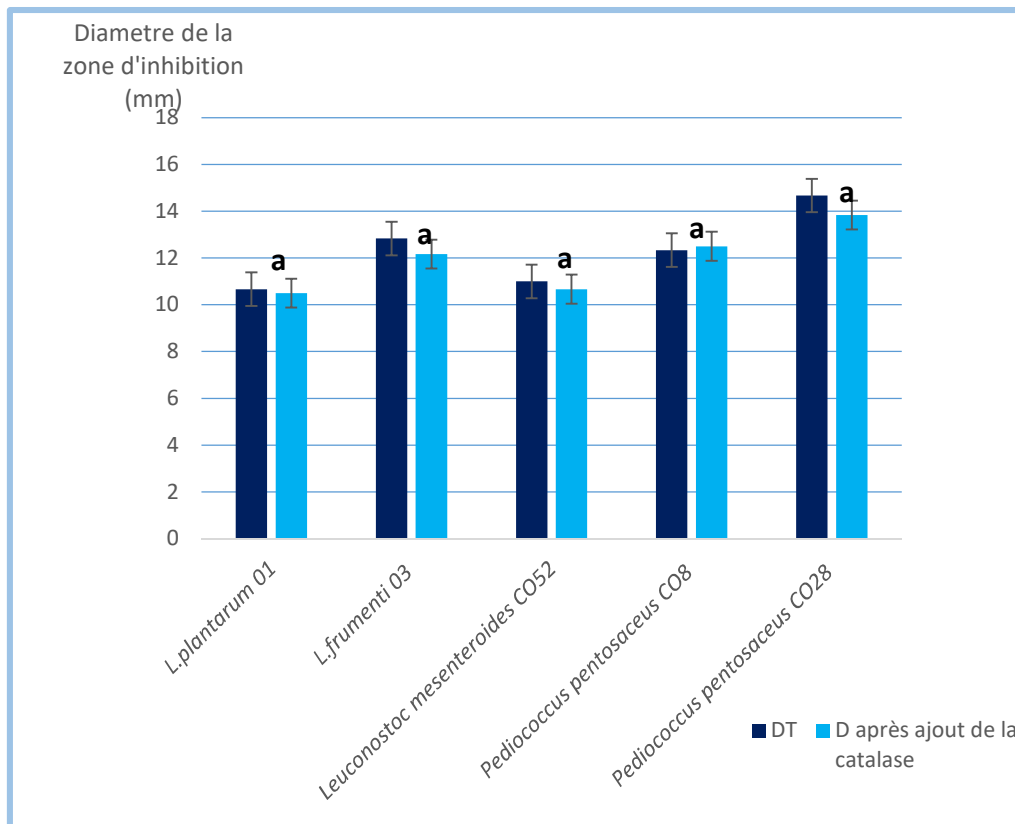
Les acides organiques à chaîne courte produits par les bactéries lactiques tels que l'acide acétique sont couramment utilisés par les fabricants de produits alimentaires comme conservateurs antimicrobiens dans une variété de produits alimentaires (Davidson et Juneja, 1990). De plus, un acide acétique glacial de qualité réactif (99,99 %) a été utilisé pour fumer différents fruits (cerises, pommes, poires, oranges, pamplemousses et citrons) précédemment infectés par *Penicillium* (Sholberg, 1998)

#### II.4.7. 2. Influence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur l'activité du surnageant acellulaire des bactéries lactiques

Afin de déterminer d'avantage d'autres composants antifongiques dans les surnageants acellulaires, l'effet de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été analysé. Après avoir été traité par catalase, le surnageant acellulaire des *L.plantarum lac01*, *L.frumenti lac 77*, *L.mesenteroides CO52*, *P.pentosaceus CO8*, *P.pentosaceus CO28* ont toujours une capacité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* indiquant que des métabolites autres que le peroxyde d'hydrogène étaient responsables de l'inhibition de la croissance fongique.



Ces résultats sont similaires à ceux de **Ma et al.(2019)**, **Huh et Hwang (2016)** et **Gerez et al.(2013)** qui ont rapporté que la capacité antifongique n'était pas éliminée, après traitement des surnageant acellulaires des bactéries lactiques par catalase

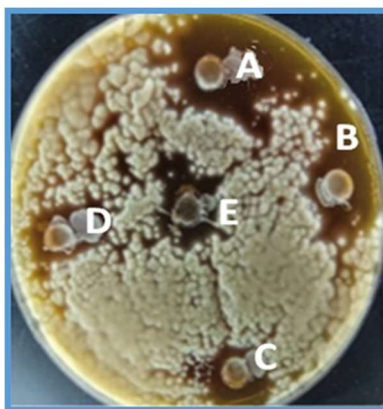


**Figure 64** : Activité antifongiques des surnageants acellulaires traités par l'enzyme catalase  
(a : différence non significative)

### II.4.7. 3. L'influence de la température

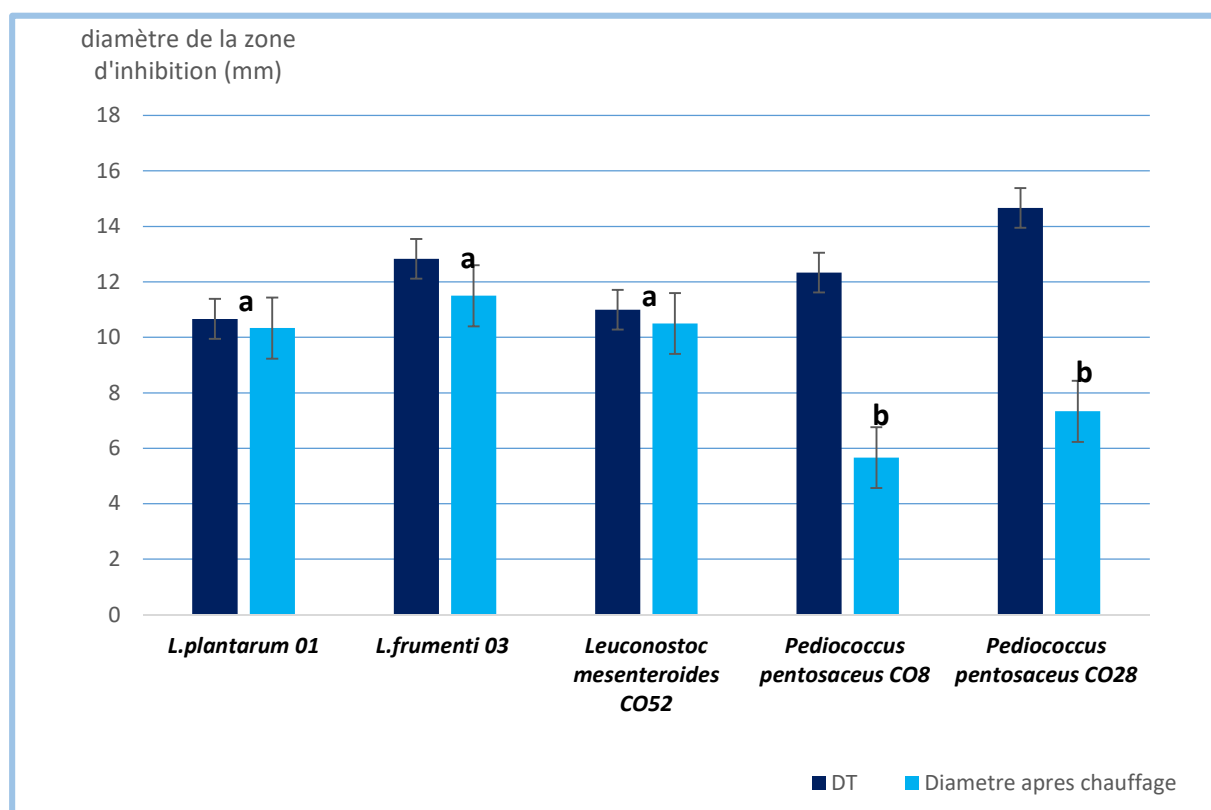
Lorsque les surnageant acellulaires de *L. plantarum lac 01*, *L. frumenti lac 77*, *L. mesenteroides CO52*, *P. pentosaceus CO8* et *P. pentosaceus CO28* ont été testés pour leur sensibilité au traitement thermique, les résultats ont montré que l'activité inhibitrice du surnageant acellulaire *L. plantarum lac 01*, *L. frumenti lac 77*, *L. mesenteroides CO52*, sur la germination conidiale d'*A. fumigatus* n'a pas été modifiée après chauffage . Cependant ces traitements ont eu un effet notable sur l'activité inhibitrice des surnageants acellulaire *P. pentosaceus CO8* , *P. pentosaceus CO28* ce qui indique que en outre les acides organiques , ces surnageants pourraient y avoir d'autres composants sensibles à la chaleur.





**Figure 65 :** Activité antifongique du surnageant acellulaire chauffé

(A : *Lb. plantarum lac01* , B : *Lb. frumenti lac 77* , C : *Ped. pentosaceus CO28* , D : *Ped. pentosaceus CO8* , E : *Ln. mesenteroides CO52* )



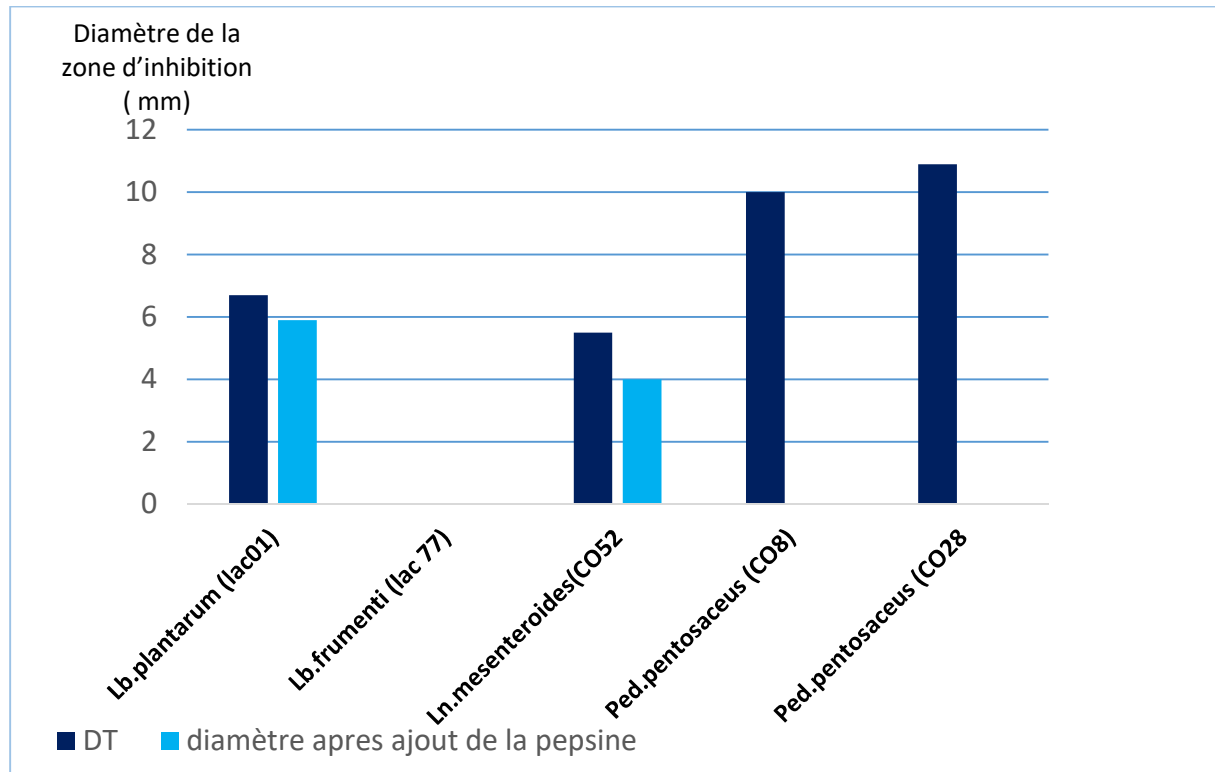
**Figure 66:** Activité antifongiques des surnageants acellulaires chauffés (a : différence non significative, b : différence significative)

#### II.4.7. 4. Influence des protéases sur l'activité du surnageant acellulaire

Chaque surnageant des souches lactiques dont l'acide organique était précédemment exclu a été traité par la pepsine.

Le résultat du test antifongique a indiqué que les surnageants acellulaires des souches présentent différents degrés d'activité antifongique.

L'activité antifongique de surnageant acellulaire de *L. plantarum* lac 01 et *L. frumenti* lac 77 est restée stable. Cependant le surnageant acellulaire de *L. mesenteroides* CO52 a montré une faible activité antifongique après traitement par pepsine, mais les surnageants acellulaires des *P. pentosaceus* CO28 et *P. pentosaceus* CO8 ont totalement perdu la capacité d'inhiber *Aspergillus fumigatus*.



**Figure 67:** activité antifongiques des surnageants acellulaires traités par l'enzyme pepsine

Cette activité antifongique dépendante des composés protéiques est semblable aux résultats cités par **Valerio et al. (2009)** par contre **Gerez et al. (2009)** ont rapporté que l'activité inhibitrice du surnageant acellulaire bactérien sur la croissance mycélienne et la germination conidiale n'a pas été modifiée après chauffage ou traitement par la protéinase K. Ces résultats ont démontré que les composés protéiques pourraient jouer un rôle clé dans l'activité antifongique du surnageant de ces souches lactiques, ils comprennent les peptides ribosomiques (tels que les bactériocines), les peptides non ribosomiques et l'hydrolyse des protéines par des enzymes (**Siedler et al., 2019**).

#### II.4.8 .Traitement in situ des graines stockées par le surnageant acellulaire des bactéries lactiques

L'application des surnageants des *Lactobacillus plantarum* lac01, *Lactobacillus frumenti* lac77, *Leuconostoc mesenteroides* CO52, *Pediococcus pentosaceus* CO8, *Pediococcus pentosaceus* CO28 dans la biopréservation des aliments stockés a été testée sur des grains de blé , des grains de café vert et les grains de pois-chiche .

La croissance d'*Aspergillus fumigatus* , *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium digitatum* a été complètement inhibé dans les bouteilles de grains de blé , de grains de café et grains de pois-chiche pendant 15 jours lorsqu'ils ont été traités avec les surnageants *Lactobacillus plantarum* lac01, *Lactobacillus frumenti* lac77 , *Leuconostoc mesenteroides* CO52, *Pediococcus pentosaceus* CO8, *Pediococcus pentosaceus* CO28 par rapport aux grains non traités (témoin), qui ont montré une croissance fongique à la surface du grain. Ces résultats ont ainsi démontré le potentiel des surnageant acellulaires utilisés comme bioconservateur alimentaire.

Des travaux similaires ont annoncé l'utilisation des bactéries lactiques dans la bioprévation notamment **Khanafari et al.(2007)** qui ont rapporté que La croissance d'*Aspergillus flavus* a été totalement inhibée dans le maïs inoculé par *L. plantarum* , une croissance des champignons aflatoxigènes a été significativement réduite chez les arachides traitées par le surnageant des : *L. plantarum* MN880325, *E. faecium* MN880299, *E. faecium* MN880259 et *E. faecium* MN880376 (**Pradhan et al.,2021** ) , les même résultats ont été obtenu par **Shehata et al.(2019)** lorsqu'ils ont traité les grains de blé inoculés de spore d'*Aspergillus parasiticus* par le surnageant acellulaire *Lactobacillus* sp. RM1.

# Conclusion

## Conclusion

Au terme de ce travail ,l'objectif recherché était d'étudier l'activité antifongique des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chamelle contre les moisissures couramment associées à la détérioration des denrées alimentaires stockées.

Dans un premier temps , des échantillons de blé , de café vert et de pois-chiche prélevés ont fait l'objet d'une étude mycologique et mycotoxicologique visant à détecter la présence d'agents fongiques responsable de la détérioration et la production des mycotoxines dans les aliments stockés . Les espèces d' *Aspergillus et Penicillium* étaient les isolats fongiques les plus dominants et les plus communs dans les échantillons de blé, de café vert et de pois-chiche , Ce qui confirme le statut de la flore de stockage de ces deux genres fongiques.

Dans un second temps, le lait de chamelle à partir du quel les bactéries lactiques ont été isolées constitue un milieu très riche en macronutriments comme il renferme une flore d'altération et une flore d'intérêt technologique. En plus il était une bonne source d'isolement des bactéries lactiques appartenant aux genres, *Lactobacillus, Enterococcus Streptococcus, Leuconostoc , Lactococcus et Pediococcus*

Dans un troisième temps, la recherche de l'activité antifongique a démontré que la majorité de nos isolats lactiques ont présenté une bonne inhibition contre la germination des spores et la croissance mycélienne de l'espèce *Aspergillus fumigatus*. Cette inhibition était meilleure sur milieu solide que sur milieu liquide. Différents degrés d'inhibition ont été détectés par les surnageants des bactéries lactiques ayant prouvé une forte et moyenne activité inhibitrice indiquant que nos souches lactiques produisent des substances antimicrobiennes et que les substances actives accumulées dans le milieu de culture, ont joué un rôle important dans l'inhibition de la croissance fongique , les isolats (*Lactobacillus plantarum (lac 01), Lactobacillus frumenti (lac 77) , Leuconostoc mesenteroides( CO52) , Pediococcus pentosaceus( CO8) ,Pediococcus pentosaceus (CO28)*) ont montré une capacité à inhiber fortement un large spectre des espèces fongiques avec des altérations morphologiques affectant les hyphes , les conidiophores et les conidies.

l' étude des facteurs biotiques et abiotiques influençant l' activité antifongique a montré qu' une meilleure inhibition a été observée à la température de 30°C, aux pH 6 et 7 , et sur milieu BSM dont le glucose est la seule source de carbone.

La caractérisation des métabolites antifongiques des bactéries lactiques a montré que les substances produites par *Lactobacillus frumenti lac 77, Lactobacillus plantarum lac 01, Lactobacillus frumenti lac 77, Leuconostoc mesenteroides CO52* présentent une nature acide

alors que les substances produites par *Pediococcus pentosaceus* CO8 , *Pediococcus pentosaceus* CO28 présentent une nature protéique ainsi que acide

De ce fait, Les perspectives envisageables au terme de cette thèse sont diverses portent sur :

- 1- L'utilisation des méthodes les plus sensibles et les plus précises comme la chromatographie liquide à haute performance (**HPLC**) pour identifier le type de la molécule antifongique ainsi que les mycotoxines produites par les espèces fongiques toxigènes
- 2- L'observation par microscopie électronique des souches inhibées pour mieux comprendre le mécanisme d'action des métabolites antifongiques
- 3- L'évaluation sensorielle des denrées alimentaires stockées

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- Abarca, M. L., Bragulat, M. R., Castella, G., & Cabanes, F. «Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*.» *Applied and environmental microbiology*, 1994: 650-2652.
- Abdelgadir, W., Nielsen, D. S., Hamad, S., & Jakobsen, M. «A traditional Sudanese fermented camel's milk product, Gariss, as a habitat of *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius*.» *International journal of food microbiology*, 2008: 215-219.
- Abdellahi, O. M., & Sidi, O. H. «Contribution à l'étude comparative des laits crus des chamelles provenant des Wilayas de Mauritanie destinés à la transformation.» *Journal of Applied Biosciences*, 2016: 9738-9744.
- Abdoullahi, H. O., Tidjani, A., Sawadogo, A., Tarnagda, B., Abakar, L. I., Cissé, H., ... & Savadogo, A. «Isolement et caractérisation de souches fongiques à partir de poissons fumés/séchés du lac Fitri au Tchad.» *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 2019: 155-160.
- Abdul Raziq, Kerstin de Verdier, Muhammad Younas, Sarzamin Khan, Arshad Iqbal and Muhammad Sajjad Khan. « Milk composition in the Kohi camel of mountainous Balochistan.» *Journal of Camelid Science* 4 (2011): 49–62.
- Abera, T., Legesse, Y., Mummed, B., & Urga, B. «Bacteriological quality of raw camel milk along the market value chain in Fafen zone, Ethiopian Somali regional state.» *BMC Research Notes*, 2016: 1-6.
- Abu-Lehia, I. H., Al-Mohizea, I. S., & El-Behry, M. «udies on the production of ice cream from camel milk products.» *Australian Journal of Dairy Technology (Australia)*, 1989.
- Abushelaib A., Al-Mahadin S., El-Tarabily K., Shah N.P., Ayyash M. «Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk.» *Food Sci Technol*, 2017: 316-325.
- Abutarboush. «Comparision of growth and proteolytic activity of yogurt starters in whole milk from camels and cows.» *J. Dairy Sci.*, 79, 1996: 366-371.
- Achemchem, F., Martínez-Bueno, M., Abrini, J., Valdivia, E., & Maqueda, M. «Enterococcus faecium F58, a bacteriocinogenic strain naturally occurring in Jben, a soft, farmhouse goat's cheese made in Morocco.» *Journal of Applied Microbiology*, 2005: 141-150.
- Aderiye, Adebayo. «Antifungal activity of bacteriocins of lactic acid bacteria from some.» *Research Journal of Microbiology*, 2010: 1070-1082.
- Ahmad, S. K., & Singh, P. L. «Mycoflora changes and aflatoxin contamination in stored chickpea seeds.» *Food Additives & Contaminants*, 1991: 723-730.



- Ahmed Abdel-hamid Ahmed, rasha Galal Sayed and mohamed Sayed. «nutritional value and sanitary evaluation of raw camel's milk.» *Emir.J.food Agric* 26(4) , 2014: 317-326.
- Akbar, Anal. «Occurrence of Staphylococcus aureus and evaluation of antistaphylococcal activity of *Lactococcus lactis subsp. lactis* in ready-to-eat poultry meat.» *Ann.Microbiol.*, 2014: 131-138.
- Akhmetsadykova S., Baubekova A., Konuspayeva G., Akhmetsadykov N., Loiseau G. «Microflora identification of fresh and fermented camel milk from Kazakhstan.» *Emirates J Food Agric*, 2014: 327.
- Alais C. *Sciences du lait principes des techniques laitières*. SEPAIC, 1984.
- Al-Haj, O.A and Al-Kanhal , H.A. «compositional , technological and nutritional aspect of dromedary camel milk .» *International dairy journal*, 20 (112), 2010: 811-821.
- Ali-Gorban M.S, Izzeldin O.M. «Mineral content of camel milk and colostrums.» *J. Dairy Res.* 64 (1997): 471-474.
- Alkoofee, W. M., & Aljaber, K. K. «Retrospective study on the therapeutic effects and nutritional values of camel's milk.» *Adv. Anim. Vet. Sci*, 2018: 317-320.
- Alloui-lombarkia O, Ghennam EH, Bacha A and Abededdaim M,. «Caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle et séparation de ses protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.» *Renc Rech Ruminants*, 14 :108, 2007.
- Aludatt, M. H., Ereifej, K., Alothman, A. M., Almajwal, A., Alkhalidy, H., Al-Tawaha, A. R., & Alli, I. «Variations of physical and chemical properties and mineral and vitamin composition of camel milk from eight locations in Jordan.» . *Food Agric. Environ.*, 2010: 16-20.
- Alvindia, D.G., de Guzman, M.F. «Survey of Philippine coffee beans for the presence of ochratoxigenic fungi.» *Mycotoxin Res*, 2016: 61–67.
- Al-Wadai AS, Al-Othman MR, Mahmoud MA, Abd El-Aziz AR. «Molecular characterization of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination of wheat grains from Saudi Arabia.» *Genet Mol Res*, 2013: 3335-52.
- Alwakeel S.S., Nasser L.A. « Microbial contamination and mycotoxins from Nuts in Riyadh, Saudi Arabia.» *Am J of food Technol.*, 2001: :613-630.
- Alwan, O. A., & Zwaik, H. B. «In International Conference on Chemical, Environment & Biological Sciences.» *Milk composition of Libyan Maghrebi camels (Camelus Dromedaries) reared under farm and desert conditions*. SEPTEMBRE 2014. 17-18.
- Amaike, S., & Keller, N. P. «*Aspergillus flavus*.» *Annual review of phytopathology*, 2011: 107-133.

- Amel Sboui, Touhami Khorchani, Mongi Djegham and Omrane Belhadj. «Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures.» *Afrique SCIENCE* 5, n° 2 (2009): 293 - 304.
- Amrouche, T., Mounier, J., Pawtowski, A. «Microbiota Associated with Dromedary Camel Milk from Algerian Sahara.» *Curr Microbiol*, 2020: 24–31.
- Andrews ., Pitt. «Selective medium for isolation of Fusarium species and dematiaceous hyphomycetes from cereals.» *Appl Environ Microbiol*, 1986: 1235-1238.
- Andrews.S. «Differentiation of Alternaria species isolated from cereals on dichloran malt extract agar.» Dans *Modern Methods in Food Mycology*, de J.I. Pitt and A.D. King. AD. Hocking, 351-355. Amsterdam: Elsevier, 1992.
- ANDRIGHETTO, C., Knijff, E. D. O., LOMBARDI, A., TORRIANI, S., Vancanneyt, M., Kersters, K., ... & DELLAGLIO, F. «Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian cheeses.» *ournal of Dairy Research*, 2001: 303-316.
- Anjali Sharma, Meeta Lavania, Raghvendar Singh, Banwari Lal. «Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk.» *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2021: 1622-1632.
- AOAC . *Official Methods of Analysis*. Vol. 18th Edition. Gaithersburg: Association of Official Analytical chemists, 2007.
- AOAC. *Official Methods of Analysis*. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists, 2000.
- Ashmaig A., Alaa H., & Eisa, E. G. «Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Sudanese fermented camelâ' s milk (Gariss.» *African Journal of Microbiology Research*,, 2009: 451-457.
- Ashmaig A., Hasan A., EL-Gaali E. «Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Sudanese fermented camel's milk (Gariss).» *Afr J Microbiol Res*, 2009: 451-457.
- Attia H, Kherouatoun N, Nasri M. and Khorchani T. «Characterization of the dromadary milk casein micelle and study of its changes during acidification.» *Lait* 80 (2000): 503-515.
- Axelsson. «Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology.» Dans *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, de S., Wright, A.V. and Ouwehand, A., Eds. Salminen, r 1-67. New York: Marcel Dekke, 2004.
- Badaoui. «thèse de doctorat.» *Contribution à la connaissance du lait de chamelle : Essai de caractérisation des protéines par Electrophorèse sur Gel de Poly-Acrylamide (PAGE)*. 2000.
- Barbour, E. K., Nabbut, N. H., Frerichs, W. M., & Al-Nakhli, H. M. «Inhibition of pathogenic bacteria by camel's milk: relation to whey lysozyme and stage of lactation.» *Journal of Food Protection*, 1984: 838-840.

- Barkai-Golan.R. «Aspergillus mycotoxins.» Dans *Mycotoxins in Fruits and Vegetables*, de Rivka Barkai-Golan and Nachman Paster, 115-151. 115-151, 2008.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 3rd Edition. Minneapolis: Burgess Publishing Co, 1972.
- Batish, Lal, Grover. «Screening lactic acid starter cultures for antifungal activity.» *Journal of Cultured and Dairy Products*, 1989: 21-25.
- Batish, Roy, Lal, Grover. «Antifungal attributes of lactic acid bacteria – A review.» *Critical Reviews in Biotechnology*, 1997: 2009-2225.
- Batish, V. K., Roy, U., Lal, R., & Grower, S. « Antifungal attributes of lactic acid bacteria.» *Critical reviews in biotechnology*, 1997: 209-225.
- Batista LR, Chalfoun SM, Prado G, Schwan RF, Wheals AE. « Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (Coffea arabica L.)» *Int J Food Microbiol*, 2003: 293-300.
- Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H., & Davies, A. «The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry.» 2011.
- Belabid L., Baum M., Fortas Z., Bouznad Z. et Imad-Eujayl I. «Pathogenic and genetic characterization of Algerian isolate of Fusarium oxysporum f. sp. lentis by RAPD and AFLP analysis.» *Afr. J. Biotechnol*, 2004: 25-31.
- Belkacem Hanfi N., Fhoula I., Semmar N., Guesmi A., Perraud Gaime I., Ouazari H.I., Boudabous A., Roussos S. «Lactic acid bacteria against post-harvest moulds and ochratoxin A isolated from stored wheat .» *Biological Control*, 2014: 52-59.
- Ben Taheur, Kouidhi, Al Qurashi, Ben Salah-Abbès, Chaieb. «Biotechnology of mycotoxins detoxification using microorganisms and enzymes.» *Toxicon*, 2019: 12-22.
- Benaissa. «Le dromadaire en Algérie.» *Options méditerranéennes*, 1989.
- Benkerroum, N., Boughdadi, A., Bennani, N., Hidane, K. «Microbiological quality assessment of Moroccan camel's milk and identification of predominating lactic acid bacteria.» *World J. Microbiol. Biotechnol*, 2003: 645-648.
- Benyoucef. «Thèse de doctorat .» *étude des propriétés fonctionnelle des bactéries lactiques produisant des substances antimicrobiennes*. université d'Oran 1, 2018.
- Berhe, T., Ipsen, R., Seifu, E., Kurtu, M. Y., Fugl, A., & Hansen, E. B. «Metagenomic analysis of bacterial community composition in Dhanaan: Ethiopian traditional fermented camel milk.» *FEMS microbiology letters*, 2019.
- Berthier J., Valla G. *Moisissures - Mycotoxines et Aliments : du Risque à la Prévention*. Lyon: Université Claude Bernard, 1998.

- Boudjenah-Haroun. «thèse de doctorat.» *Aptitudes à la transformation du lait de chamelle en produits dérivés : effet des enzymes coagulantes extraites de caillettes de dromadaires*. TIZI OUZOU, Faculté des sciences biologiques et de la science agronomique: université Mouloud Maamri, 2012.
- Bouhaddaoui, S., Chabir, R., Errachidi, F., El Ghadraoui, L., El Khalfi, B., Benjelloun, M., & Soukri, A. «Study of the biochemical biodiversity of camel milk.» *The Scientific World Journal*, 2019.
- Boulal A, Moussaoui A, Touzi A. «SOLEMENT ET IDENTIFICATION DE SOUCHES DE MOISSURES RÉPUTÉES TOXINOGENES DANS LE BLÉ LOCAL STOCKÉ TRADITIONNELLEMENT DANS LA RÉGION D'ADRAR.» *Recherche agronomique*, 2011: 49-60.
- Brezovečki A, Čagalj M, Dermić ZF, Mikulec N, Ljolić DB, Antunac N. «Camel milk and milk products.» *Mljekarstvo*, 2015.
- Broberg, Jacobsson, Ström, Schnürer. «Metabolite profiles of lactic acid bacteria in grass silage.» *Applied and Environmental Microbiology*, 2007: 5547-5552.
- Bulgaru, C. V., Marin, D. E., Pistol, G. C., & Taranu, I. «Zearalenone and the immune response.» *Toxins*, 2021: Toxins.
- Butler, M.J. and Day, A.W. «Fungal Melanins.» *Canadian Journal of Microbiology*, 1998: 1115-1136.
- Cabañes, F. J., Bragulat, M. R., & Castellá, G. «Ochratoxin A producing species in the genus *Penicillium*.» *Toxins*, 2010: 1111-1120.
- Cabo M.L., Braber A.F., Koenraad P.M. «Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discolor* is due to acetic acid in the medium.» *Journal of Food Protection*, 2002: 1309-1325.
- Carr.F.J., Chill.D., Maida.N. «The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey.» *Critical Reviews in Microbiology*, 2002: 281–370 .
- Cendoya, E., Chiotta, M. L., Zchetti, V., Chulze, S. N., & Ramirez, M. L. «Fumonisin and fumonisin-producing *Fusarium* occurrence in wheat and wheat by products: A review.» *Journal of cereal science*, 2018: 158-166.
- Centeno, J. A., Menendez, S., Hermida, M. A., & Rodríguez-Otero, J. L. « Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture.» *International journal of food microbiology*, 1999: 97-111.
- Chanda, A., Roze, L. V., Kang, S., Artymovich, K. A., Hicks, G. R., Raikhel, N. V., ... & Linz, J. E. «A key role for vesicles in fungal secondary metabolism.» *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009: 19533-19538.

- Chatt. «Thèse de doctorat.» *Etude analytique et comparative des termes zoologiques arabes relatifs à la biologie des Chameaux : cas du dictionnaire Lisān Al 'Arab*. Tanger: UNIVERSITE ABDELMALEK ESSAADI, 30 Avril 2013.
- Chehma. «le developpement de l'elevage camelin en algerie problemes et perspectives.» *Synthèse*, 2002: 94-99.
- Cheong E.Y.L., Sandhu A., Jayabalan J., Le T.T.K., Nhiep N.T., Ho H.T.M., Zweilehner J., Bansal N., Turner M.S. «Isolation of lactic acid bacteria with antifungal activity against the common cheese spoilage mould *Penicillium commune* and their potential as biopreservatives in cheese .» *Food control*, 2014: 91-97.
- Chung, Axelsson, Lindgren, Dobrogosz. «In vitro studies on reuterin synthesis by *Lactobacillus reuteri*.» *Microbial Ecology and Health and Disease*, 1989: 137-144.
- Commission, European. «Commission Regulation (EC) No 401/2006.» *laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuff*. 23 Fevrier 2006. 12-34.
- CORRERA. «Thèse de doctorat.» *DYNAMIQUE DE L'UTILISATION DES RESSOURCES FOURRAGERES PAR LES DROMADAIRES DES PASTEURS NOMADES DU PARC NATIONAL DU BANC D'ARGUIN (MAURITANIE)*. MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE DE PARIS, 30 Juin 2006.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., Rossi, J., & Damiani, P. «Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1.» *Applied microbiology and biotechnology*, 1998: 253-256.
- Corsetti, Gobetti, Rossi, Damiani. «ntimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1.» *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1998: 253-256.
- Crous, P. W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Seifert, K. A., Schroers, H. J., Chaverri, P., ... & Thines, M. «*Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell.» *Studies in Mycology*, 2021.
- Dalié, Deschamps , Richard-Forget. «Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review.» *Food Control*, 2009.
- Dall'Asta, C., & Battilani, P. «Fumonisin and their modified forms, a matter of concern in future scenario?» *World Mycotoxin Journal*, 2016: 727-739.
- Dalmaso M, Prestoz S, Rigobello V, Demarigny Y. «Evolution of the raw cow milk microflora especially lactococci enterococci leuconostocs and lactobacilli over a successive 12 day milking regim.» *Int. J. Dairy Sci.* 3, 2008: 117-130.

- Davati, N., Yazdi, F. T., Zibae, S., Shahidi, F., & Edalatian, M. R. «Study of lactic acid bacteria community from raw milk of Iranian one humped camel and evaluation of their probiotic properties. » *Jundishapur journal of microbiology*, 2015.
- Davidson, P. M., & Juneja, V. K. «Antimicrobial agents.» *Food additives*, 1990: 83-137.
- De Man, J.C., Rogosa, D. and Sharpe, M.E., «A medium for the cultivation of lactobacilli.» *Journal of applied Bacteriology*, 1960: 130-135.
- De Muynck C, Leroy AI, De Maeseneire S, Arnaut F, Soetaert W, Vandamme EJ. «Potential of selected lactic acid bacteria to produce food compatible antifungal metabolites.» *Microbiol Res.*, 2004: 339-46.
- Deacon. *Introduction to Modern Mycology (Basic microbiology*. 1st Edition. Wiley-Blackwell, 1980.
- DEBOUZ A, GUERGUER L, OUDJANA A, HADJ SEYD AE. «Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardaïa.» *Revue ElWahat pour les recherches et les Etudes*, 2014: 8-15.
- Delavenne, Mounier, J., Déniel, F., Barbier, G., & Le Blay, G. «Biodiversity of antifungal lactic acid bacteria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period.» *International Journal of Food Microbiology*, 2012: 185-190.
- Dellaglio, F., Dicks, L. M. T., & Torriani, S. «The genus leuconostoc.» Dans *The genera of lactic acid bacteria*, de Holzappel Wood, 235-278. Boston : springer, 1995.
- Desmazeaud, Roissard. «Métabolisme générale des bactéries lactiques.» Dans *Bactérie lactique aspects fondamentaux et technologiques. Tomes 1*, de Henri de Roissart - Francois M. Luquet, 169-207. lorica, 1994.
- Devriese, L. A., & Pot, B. «The genus enterococcus.» Dans *The genera of lactic acid bacteria* ), de Holzappel Wood, 327-367. Boston: Springer, 1995.
- Devriese, L., Baele, M. A. R. G. O., & Butaye, P. A. T. R. I. C. K. «The genus Enterococcus Taxionomy.» Dans *Prokaryotes*, 163-174. 2006.
- Dhakal, A., & Sbar, E. «Aflatoxin toxicity.» *StatPearls Publishing*, 2021.
- Dobrogosz, Casas, Karlsson. «Lactobacillus reuteri and enterimicrobita.» *Microbial Ecology and Health and Disease*, 1989: 124-131.
- Dortu, Thonart. «Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires.» *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 2009: 143-154.
- Dowelmadina, I. M. M. A., El-Zubeir, I. E. Y. M., & Arabi, O. H. M. H. «Qualitative and quantitative analysis of milk fatty acids from different Sudanese Arabi camels.» *Annals Food Science and Technology*, 2018: 786-796.



- Drici. «le lait vecteur de developpement.» *Activité laitière cameline en Algerie: surcroit de consommation et commercialisation et problématique d'expertise scientifique et judiciaire.* Rennes, 21-23 Mai 2014.
- Dubois, G., Smoragiewicz, W., Charbonneau, R., & Gagnon, M. «Inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par streptococcus lactis, streptococcus thermophilus, lactobacillus acidophilus et lactobacillus helveticus.» *Le Lait*, 1982: 681-687.
- Edalati, E., Saneei, B., Alizadeh, M., Hosseini, S. S., Bialvaei, A. Z., & Taheri, K. «Isolation of probiotic bacteria from raw camel's milk and their antagonistic effects on two bacteria causing food poisoning.» *New microbes and new infections*, 2019: 64-68.
- Effat, Ibrahim, Tawfik, Sharaf. «Comparison of antifungal activity of metabolites from Lactobacillus rhamnosus, Pediococcus acidilactici and Propionibacterium thoenii.» *Egyptian Journal of Dairy Sciences*, 2001: 251-262.
- Eklund. «The antimicrobial effect of dissociated and undissociated sorbic acid at different pH level.» *J. Appl. Bacteriol*, 1983: 383-389.
- El Khoury, A., & Atoui, A. «Ochratoxin A: General overview and actual molecular status.» *Toxins*, 2010: 461-493.
- El-Agamy. «MSc thesis.» *Studies on camels' milk.* Alexandria, : Alexandria University, 1983.
- El-Banna, Nasser M. «Effect of carbon source on the antimicrobial activity of Corynebacterium kutscheri and Corynebacterium xerosis.» *African Journal of Biotechnology*, 2006.
- El-Hatmi H, Jrad Z, Salhi I, Aguib A, Nadri A, Khorchani T. «Comparison of composition and whey protein fractions of human, camel, donkey, goat and cow milk.» *Mljekarstvo*, 2015: 159–167.
- Elhosseny Muhammad, Mayada Gwida, Mohamed Elsherbini, Randa Abu Samra, Maha Al Ashmawy. «Evaluation of physicochemical properties and microbiological quality of camelmilk from Egypt.» *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research* 7, n° 3 (2018): 92-97.
- Elliker P.R., Anderson A.W., Hannesson G. «An agar culture medium for lactic streptococci and lactobacilli.» *Journal of Dairy science*, 1952: 1611-1612.
- El-Sayed, Jebur, Kang, El-Demerdash,. «An overview on the major mycotoxins in food products: characteristics, toxicity, and analysis,» *Journal of Future Foods*, 2022: 91-102.
- El-Ziney M.G, Al-Turki A.I. «Microbiological quality and safety assessment of camel milk in Saudi Arabia (Quassin).» *Applied Ecology and Environmental Research* 5 (2007): 115-122.
- Ennouari., Sanchis.,Rahouti.,Zinedine. «Isolation and molecular identification of mycotoxin producing fungi in durum wheat from Morocco.» *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 2018: 1470-1479.

- Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I., & Villani, F. «Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk.» *Food microbiology*, 2009: 228-231.
- Ereifej, K. I. Muhammad, H. Alu'datt . Hana A.AIKhalidy . InteazAlli Taha Rababah,. «Comparison and characterisation of fat and protein composition for camel milk from eight Jordanian locations.» *Food Chemistry* 127, n° 1 (2011).
- Falguni, P., Shilpa, V. I. J., & Mann, B. «Production of proteinaceous antifungal substances from *Lactobacillus brevis* NCDC 02.» *International journal of dairy technology*, 2010: 70-76.
- Farah .Z, Rugg. «The size distribution of casein micelles in camel milk.» *Food Microstruct* 8 (1989): 211-116.
- Farah KO, Nyariki DM, Ngugi RK, Noor IM, Guliye AY. «The Somali and the Camel: Ecology, Management and Economics.» *Anthropologist*, 2004: 45–55.
- Farrow, J. A., Facklam, R. R., & Collins, M. D. «Nucleic acid homologies of some vancomycin-resistant leuconostocs and description of *Leuconostoc citreum* sp. nov. and *Leuconostoc pseudomesenteroides* sp. nov.» *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1989: 279-283.
- Faye B, Konuspayeva G, Messad S, Loiseau G. «Discriminant milk components of bactrian camel (*Camelus bactrianus*), dromedary (*Camelus dromedarius*) and hybrids. .» *Dairy Sci Technol* 88(6), 2008: 607–17.
- Faye B., et Loiseau G. «Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité.» *Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement*. Montpellier: Actes de l'atelier international,, 2002.
- Felfoul, I., Beaucher, E., Cauty, C., Attia, H., Gaucheron, F., & Ayadi, M. A. «Deposit generation during camel and cow milk heating: Microstructure and chemical composition.» *Food and Bioprocess Technology*, 2016: 1268-1275.
- FESSARD. «Thèse de doctorat.» *Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante*. Université de la Réunion,, 27 Novembre 2017.
- Fortina, M. G., Ricci, G., Borgo, F., Manachini, P. L., Arends, K., Schiwon, K., ... & Grohmann, E. «A survey on biotechnological potential and safety of the novel *Enterococcus* species of dairy origin, *E. italicus*.» *nternational journal of food microbiology*,, 2008: 204-211.
- Frayssinet .C., Cahagnier. B. «Determination of toxins in grains and seeds.» Dans *Conservation et stockage des grains et graines et produits derives : cereales, oleagineux, proteagineux, aliments pour animaux*, de Multon.J-L, 554-556. Paris: Technique & Documentation Lavoisier, 1982.



- Frisvad, J. C., Smedsgaard, J., Samson, R. A., Larsen, T. O., & Thrane, U. « Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger*.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007: 9727-9732.
- Fugl, A., Berhe, T., Kiran, A., Hussain, S., Laursen, M. F., Bahl, M. I., ... & Hansen, E. B. «Characterisation of lactic acid bacteria in spontaneously fermented camel milk and selection of strains for fermentation of camel milk.» *International Dairy Journal*, 2017: 19-24.
- GACEM Mohamed Amine., OULD EL HADJ KHELIL Aminata et GACEMI Bouabdallah. «ETUDE DE LA QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE ET MYCOLOGIQUE DU BLE TENDRE LOCAL ET IMPORTE STOCKE AU NIVEAU DE L'OFFICE ALGÉRIEN INTERPROFESSIONNEL DES CÉRÉALES (OAIC) DE LA LOCALITE DE SAIDA (ALGERIE).» *Algerian journal of arid environment* , 2011: 67-76.
- Gallo, M., & Katz, E. «Regulation of secondary metabolite biosynthesis: catabolite repression of phenoxazinone synthase and actinomycin formation by glucose.» *Journal of bacteriology*, 1972: 659-667.
- Garvie. «Genus *Leuconostoc*.» Dans *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, de P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, I.G. Sneath, 1071-1075. Williams and Wilkin, 1986.
- GAUTHIER.A. «Thèse de doctorat.» *Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé*. Université de Bordeaux, 26 Avril 2016.
- Gerbaldo G.A., Barberis C., Pascal L., Dalcero A., Barberis L. «Antifungal activity of tow *Lactobacillus* strains with potential probiotic properties.» *Microbiology Letters*, 2012: 27-33.
- Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollán, G., & de Valdez, G. F. «Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties.» *Food control*, 2009: 144-148.
- Ghada. «Comparison of chemical and mineral content of milk from human, cow buffalo, camel and goat in Egypt.» *The Egyptian J.Hospital Med.*, 2005: 116 – 130.
- Ghazvini, R. D., Kouhsari, E., Zibafar, E., Hashemi, S. J., Amini, A., & Niknejad, F. «Antifungal activity and aflatoxin degradation of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus fermentum* against toxigenic *Aspergillus parasiticus*.» *The open microbiology journal*, 2016: 197.
- Ghrairi, T., Frere, J., Berjeaud, J. M., & Manai, M. «Purification and characterisation of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* from Tunisian rigouta cheese.» *Food control*, 2008: 162-169.
- Gimeno. «A. Thin Layer Chromatographic Determination of Aflatoxins, Ochratoxins, Sterigmatocystin, Zearalenone, Citrinin, T-2 Toxin, Diacetoxyscirpenol, Penicillic Acid, Patulin, and Penitrem.» *A. J. - Assoc. Off. Anal. Chem*, 1979: 579–585.

- Gizachew A, Teha J, Birhanu T. «Review on Medicinal and Nutritional Values of Camel Milk.» *Natural & Science*, 2014: 35 – 40.
- Gnan, Shereha. «Composition of Libyan camel's milk.» *Aust. J. Dairy Techn* 41 (1986): 33-35.
- GORBAN, A. M., & IZZELDIN, O. M. «Mineral content of camel milk and colostrum.» *Journal of Dairy Research*, 1997: 471-474.
- Haddadin, M. S., Gammoh, S. I., & Robinson, R. K. «Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan.» *Journal of Dairy Research*, 2008: 8-12.
- Hadeif Leyla, Hebib Aggad, Brahim Hamad, Messaouda Saied. «study of yield and composition of camel milk in Algeria.» *Scientific study & Research* 19(1), 2018: 001-011.
- Hadji-Sfax Imeni, El-Ghaish Shady, Ahmadova Aynur, Batdorj Batjargal, Gwenaëlle Le Blay-Laliberté, Georges Barbier, Thomas. «Antimicrobial activity and safety of use of *Enterococcus faecium* PC4.1 isolated from Mongol yogurt.» *Food Control*, 2011: 2020-2027.
- Hamama. «thesis : Study on the hygienic quality of Moroccan traditional dairy products.» *Evaluation de la qualite bacteriologique et hygienique des produits laitiers marocains traditionnels, et etude des sources de contamination du lait cru et des produits laitiers par salmonella*. Rabat: Institut Agronomique et Veterinaire Hassan 2, 1989.
- Hamed H, El Feki A, Gargouri A. «Influence of Wet and Dry Season on Milk Composition of Dromedary Camels (*Camelus dromedarius*) from Tunisia.» *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 2017: 163–167.
- Hamidi. «Thèse de doctorat.» *Etudes des propriétés fonctionnelles et des aptitudes à la coagulation du lait de dromadaire par la couche de kaolin du gésier des poules*. Université Mohamed Khider-Biskra, 2015.
- Hammes, Hertel. «New Developments in Meat Starter Cultures.» *Meat Science*, 1998: 125-138.
- HANS, HAAVIK. «BACITRACIN PRODUCTION BY THE NEOTYPE: *Bacillus licheniformis* ATCC 14580.".» *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology*, 1975: 534-540.
- Hao Y, Zhao L, Zhang H, Zhai Z, Huang Y, Liu X, Zhang L. «Identification of the bacterial biodiversity in koumiss by denaturing gradient gel electrophoresis and species-specific polymerase chain reaction.» *J. Dairy Sci*, 2010: 1926–1933.
- Hardie, Whily. «The genus *Streptococcus*.» Dans *The Genera of Lactic Acid*, de Holzappel Wood, 55-124. Springer Science+Business Media Dordrecht, 1995.
- Harek, D., IKHLRF, H., Bouhadad, R., Sahel, H., Cherifi, Y., Djellout, N. E., ... & Arbouche, F. «ENETIC DIVERSITY STATUS OF CAMEL'S RESOURCES (*Camelus Dromedarius*. Linnaeus, 1758) IN ALGERIA.» *Genetics & Biodiversity Journal*, 2017: 43-65.

- Hassan, Bullerman. «Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp *tolerans* isolated from a sourdough bread culture.» *International Journal of Food Microbiology*, 2008: 112-115.
- Hassan, R. A., El Zubeir, I. M. E., & Babiker, S. A. «Chemical and microbial measurements of fermented camel milk “Gariss” from transhumance and nomadic herds in Sudan.» *Aust. J. Basic Appl. Sci*, 2008: 800-804.
- Heperkan, D., Dazkır, G. S., Kansu, D. Z., & Karbancıoğlu Güler, F. «Influence of temperature on citrinin accumulation by *Penicillium citrinum* and *Penicillium verrucosum* in black table olives.» *Toxin Reviews*, 2009: 180-186.
- Hoog, J. Guarro, J. Gené, S.A. Ahmed, A.M.S. Al-Hatmi, M.J. Figueras and R.G. Vitale. *Atlas of clinical fungi*. 2011.
- Hua, H., Xing, F., Selvaraj, J. N., Wang, Y., Zhao, Y., Zhou, L., ... & Liu, Y. «Inhibitory effect of essential oils on *Aspergillus ochraceus* growth and ochratoxin A production.» *PloS one*, 2014.
- Huck TA, Porter N, Bushell ME. «positive selection of antibiotic-producing soil isolates.» *J Gen Microbiol.*, 1991: 2321-9.
- Huh C K, Hwang T Y. «dentification of Antifungal Substances of *Lactobacillus sakei* subsp. ALI033 and Antifungal Activity against *Penicillium brevicompactum* Strain FI02.» *Prev Nutr Food Sci*, 2016: 52-6.
- IDF Standard. «Milk.» *Determination of nitrogen content (Kjeldahal method)*. Brussels: IDF Standard 20-A International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Iwai Y., Omoura. «Culture conditions for screening of new antibiotics.» *The Journal Of Antibiotics*, 1982: 123-141.
- J. C. De MAN, M. ROGOSA, M. ELISABETH SHARPE. «A Medium for the Cultivation of Lactobacilli.» *Journal of Applied Bacteriology*, 1960: 130-135.
- Jans, C., Bugnard, J., Njage, P. M. K., Lacroix, C., & Meile, L. «Lactic acid bacteria diversity of African raw and fermented camel milk products reveals a highly competitive, potentially health-threatening predominant microflora.» *LWT*, 2012: 371-379.
- Javaid, A., et Khan, I. H. «Mycoflora associated with seeds of different varieties of chickpea and its effect on germination and radicle growth.» *nt, J. Biol. Biotechnol*, 2019: 175-179.
- Jaydeep Yoganandi, Bhavbhuti M. Mehta<sup>1</sup>, K.N. Wadhvani, V.B. Darji and K.D. Aparnathi. «COMPARISON OF PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF CAMEL MILK WITH COW MILK AND BUFFALO MILK.» *Journal of Camel Practice and Research* 21, n° 2 (2014): 253-258.

- Jedidi ., Soldevilla., Amani Lahouar., Patricia Marín., María Teresa González-Jaén., Salem Said. «Mycoflora isolation and molecular characterization of *Aspergillus* and *Fusarium* species in Tunisian cereals.» *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2018: 868-874.
- Jemmali, B., Ferchichi, M. A., Faye, B., & Kamoun, M. «Milk yield and modeling of lactation curves of Tunisian she-camel.» 2016.
- Jingna Zhao, HuiFan, Lai-YuKwok, FuchengGuo, RimutuJi, MeiYa, YongfuChen. «Analyses of physicochemical properties, bacterial microbiota, and lactic acid bacteria of fresh camel milk collected in Inner Mongolia.» *Journal of Dairy Science*, 2020: 106-116.
- JORA N°52. *METHODE HORIZONTALE POUR LE DENOMBREMENT DES LEVURES ET MOISSISSURES PAR COMPTAGE DES COLONIES DANS LES PRODUITS, DONTL'ACTIVITE D'EAU EST INFERIEURE OU EGALE A 0.95.* 30 Septembre 2015.
- Juodeikiene, G., Bartkiene, E., Cernauskas, D., Cizeikiene, D., Zadeike, D., Lele, V., & Bartkevics, V. «Antifungal activity of lactic acid bacteria and their application for *Fusarium* mycotoxin reduction in malting wheat grains.» *Lwt*, 2018: 307-314.
- Kabak, B., Dobson, A. D., & Var, I. I. L. «strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review.» *Critical reviews in food science and nutrition*, 2006: 593-619.
- Kadri, Z., Spitaels, F., Cnockaert, M., Amar, M., Joossens, M., & Vandamme, P. «The bacterial diversity of raw Moroccan camel milk.» *International Journal of Food Microbiology*, 2021.
- Kaindi, D. W. M., Schelling, E., Wangoh, J., Imungi, J. K., Farah, Z., & Meile, L. « Microbiological quality of raw camel milk across the Kenyan market chain.» *Food*, 2011: 79-83.
- Kamei.K, Watanabe.A. «*Aspergillus* mycotoxins and their effect on the host.» *Medical Mycology*, 2005: S95–S99.
- Kamel AM, Salama OA and EL-Saied KM. «Changes in amino acid profile of camel milk protein during the early lactation.» *Int J dairy Sci* 2, n° 3 (2007): 226-234.
- Kamoun. «Evolution de la composition du lait de dromadaire durant la lactation conséquences technologiques.» *Dromadaires et chameaux animaux laitiers*. Nouakchott, Mauritanie, 24-26-octobre 1994.
- Kandler. «Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria.» *Antoine van Leuwenhoek*, 1983: 202-224.
- Kandler, O. and Weiss, N. «Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901.» Dans *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, de P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. & Holt, J.G. Sneath, 209–1234. Baltimore: Williams and Wilkins., 1986.

- Karbancıoğlu-Güler, F., & Heperkan, D. «Natural occurrence of fumonisin B1 in dried figs as an unexpected hazard.» *Food and chemical toxicology*, 2009: 289-292.
- Karue. C. N. «The Dairy Characteristics of Kenyan Camel.» *Dromadaires et chameaux animaux laitiers*. Nouakchott, Mauritanie: 1994, 24-26-octobre.
- Khan, K.U. and T.C. Appanna. «Electrolytes in camel milk.» *Indian J. Physiol. Allied Sci.* 18 (1964): 129-133.
- Khanafari, A., Soudi, H., & Miraboufathi, M. «Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production in corn.» *Biocontrol of Aspergillus flavus and aflatoxin B1 production in corn.*, 2007: 163-168.
- Khaskheli M, Arain MA, Chaudhry S, Soomro AH and Qureshi TA. «Physico-chemical quality of camel milk.» *J Agri Soc Sci, 1(2)*, 2005: 164-166.
- Khedid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A., & Zinedine, A. « Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco.» *Microbiological research*,, 2009: 81-91.
- Khodja. «thèse de doctorat.» *Caractérisation phénotypique et moléculaire des souches de bactéries lactiques productrices de bactériocine*. Université de Sidi Bel Abbès, 2018.
- Kim S., Kubec R., Musah R.A. «Antibacterial and antifungal activity of sulfur-containing compounds from *Petiveria alliacea* L.» *Journal of Ethnopharmacology*, 2006: 188-192.
- Kıvanc, M., Kıvanc, S. A., & Pektas, S. «screening of lactic acid bacteria for antifungal activity against fungi.» *Journal of Food Processing and Technology*, 2014.
- Konuspayeva G, Faye B, Loiseau G, Narmuratova M, Ivashchenko A, Meldebekova A, Davletov S. «Physiological change in camel milk composition (*Camelus dromedarius*) 1. Effect of lactation stage.» *Tropical Animal Health and Production* 42, n° 3 (2009).
- Konuspayeva Gaukhar. «thèse de doctorat en Sciences des Aliments.» *Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan*. Montpellier: UNIVERSITÉ MONTPELLIER II, 2007.
- Krijgsheld P, Bleichrodt R, van Veluw GJ, Wang F, Müller WH, Dijksterhuis J, Wösten HA. «Development in *Aspergillus*.» *Studies in mycology*, 2013: 1-29.
- Kula. «Medicinal Values of Camel Milk.» *International Journal of Veterinary Science and Research* , 2016: 18 -25.
- Kumaree, Akbar, Anal. «Bioencapsulation and application of *Lactobacillus plantarum* isolated from catfish gut as an antimicrobial agent and additive in fish feed pellets.» *Ann. Microbiol.*, 2015: 1439-1445.

- Lačanin, I., Mounier, J., Pawtowski, A., Dušková, M., Kameník, J., & Karpíšková, R. « Assessment of the antifungal activity of *Lactobacillus* and *Pediococcus* spp. for use as bioprotective cultures in dairy products.» *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017: 1-8.
- Laitila, A., Alakomi, H. L., Raaska, L., Mattila-Sandholm, T., & Haikara, A. «Antifungal activities of two *Lactobacillus plantarum* strains against *Fusarium* moulds in vitro and in malting of barley.» *Journal of applied microbiology*, 2002: 566-576.
- LANOUARI, NASSER, HADDOURY, Bencharki. «Physico-chemical characterization of the seeds of bread wheat (*Triticum aestivum*) under herbicide treatment with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid} },.» *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2015: 604-620.
- Laref. «Thèse de doctorat.» *étude de l'activité antifongique des Lactobacillus et leur effets sur la croissance des Aspergillus*. Oran: Université d'Oran , 2013.
- Laref, Bettache. «Antifungal activity of newly isolates of lactic acid bacteria.» *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 2013: 80-88.
- Lavermicocca, Valerio, Evidente, Lazzaroni, Corsetti, Gobetti. «Purification and characterization of novel antifungal compounds from sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21 B.» *Applied and Environmental Microbiology*, 2000: 4084-4090.
- Lavoie K., Touchette M., St-Gelais D., Labrie S. «Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec.» *Dairy Sci. Technol*, 2012: 455–468.
- Lavoie, K., Touchette, M., St-Gelais, D., & Labrie, S. «Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec.» *Dairy science & technology*, 2012: 455-468.
- Legesse A, Adamu F , Alamirew K and Feyera T. «A comparative study on the physicochemical parameters of milk of camel , cow and Goat in somali regional state , Ethiopia, .» *Chemical sciences journal (8 )4*, 2017.
- Leite S.P., Vieira J.R.C., Medeiros P.L ., Leite R. M.P., Lima V.L.M., Xavier H.S., Lima E.O. «Antimicrobial Activity of *Indigofera suffruticosa*.» *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2006: 261–265.
- Léonard. «Thèse de doctrat.» *Evaluation du potentiel bioprotecteur de bactéries lactiques confinées dans une matrice polymérique*. Université de Bourgogne, 2013.
- Leong, S. L., Hien, L. T., An, T. V., Trang, N. T., Hocking, A. D., & Scott, E. S. «Ochratoxin A-producing *Aspergilli* in Vietnamese green coffee beans.» *Letters in Applied Microbiology*, 2007: 301-306.



- Leroy, F., & De Vuyst, L. «Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry.» *Trends in Food Science & Technology*, .
- Leveau J-Y., Bouix Mrielle, De Roissart H., «la flore lactique .» Dans *Technique d'analyse et de controle dans les industries agroalimentaire*, de Leveau J-T Bourgeois C.M, 152-186. Tec & Doc Lavoisier, 1991.
- Lindgren, Dobrogosz. «Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations.» *FEMS Microbiology Review*, 1990: 149-163.
- Logrieco, A., Ferracane, R., Haidukowsky, M., Cozzi, G., Visconti, A., & Ritieni, A. «umonisin B2 production by *Aspergillus niger* from grapes and natural occurrence in must.» *Food Additives and Contaminants*, 2009: 1495-1500.
- Lore T.A., Mbugua S.K., Wangoh J. «Enumeration and identification of microflora in suusac, a Kenyan traditional fermented camel milk product.» *LWT—Food Sci Technol*, 2005: 125-130.
- Lowe, D. P., & Arendt, E. K. « The use and effects of lactic acid bacteria in malting and brewing with their relationships to antifungal activity, mycotoxins and gushing: a review.» *Journal of the Institute of Brewing*, ., 2004: 163-180.
- M. Bengoumi, B. Faye, J.C. Tressol. «Actes du Colloque : « Dromadaires et chameaux, animaux laitiers.» *Composition minérale du lait de chamelle du sud marocain*. Nouakchott, 24-26 octobre 1994.
- Ma Jiahong, Hong Yang, Lili Deng, Lanhua Yi, Kaifang Zeng,. «Screening and characterization of lactic acid bacteria with antifungal activity against *Penicillium digitatum* on citrus,» *Biological Control* 2019.
- Magnusson ., Schnurer. «*Lactobacillus coryniformis* subsp *cryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound.» *Applied Environ.Microbiol*, 2001: 1-5.
- Magnusson, Ström, Roos, Sjögren, Schnürer. «Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria.» *FEMS Microbiology Letters*, 2003: 129-135.
- Maha Alaoui Ismaili, Bouchta Saidi, Mohamed Zahar, Abed hamama and Raghia Ezzaier. «composition and microbial quality of raw camel milk produced in Morocco.» *journal of the saudi society of Agricultural sciences* 18, n° 1 (2019): 17-21.
- Mahgoub, Sulieman. «Production and Quality Assessment of Camel Milk Cheese.» Dans *African Fermented Food Products- New Trends*, de Mariod A. Sulieman A.M., 189–202. Springer, Cham. , 2022.
- Mal G, Pathak KML. *Camel milk and milk products*. Bikaner, Rajasthan : National Res. Centre Camel,, 2010.
- Malek, Gibson et abd el. «The formation of carbone dioxide by lactic acid bacteria and *Bacillus licheniformis* and a cultural method of detecting the processus.» *J. Dairy Res*, 1945: 14: 35.

- Malir, F., Ostry, V., Pfohl-Leszkwicz, A., Malir, J., & Toman, J. «Ochratoxin A: 50 years of research.» *Toxins*, 2016: 191.
- Mallmann, C. A., Santurio, J. M., Almeida, C. A. A., & Dilkin, P. «Fumonisin B1 levels in cereals and feeds from southern Brazil.» *Arquivos do Instituto Biológico*, 2001: 41-45.
- Malti., Amarouch. «Protective cultures used for the biopreservation of horse meat fermented sausage: Microbial and physicochemical characterization.» *J. Food Safety*, 2008: 324-345.
- Mandal, Sen, Mandal. «Detection, isolation and partial characterization of antifungal compound(s) produced by *Pediococcus acidilactici* LAB 5.» *Natural Product Communications*, 2007: 671-674.
- Maragkoudakis P.A., Zoumpopoulou G., Miaris C., Kalantzopoulos G., Pot B., «Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy.» *Int Dairy J.*, 2006: 189-199.
- Marshall. *Standard methods for the examination of dairy products*. Washington: American Publication Health Association, 1993.
- Martin, J. F., & Demain, A. L. «Control of antibiotic biosynthesis.» *Microbiological reviews*, 1980: 230-251.
- Matei Adrian ., Cornea Călina Petruța. «EVALUATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SELECTED LACTIC ACID BACTERIA STRAINS AGAINST SPOILAGE MOULD *PENICILLIUM EXPANSUM*.» *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, 2015: 292-297.
- Matei G.M., Matei S., Matei A., Cornea C.P., Draghici E.M., Jerca I.O. «BIOPROTECTION OF FRESH FOOD PRODUCTS AGAINST.» *Romanian Biotechnological Letters*, 2016: 11201- 11208.
- Matei, A., Cornea, C. P., Matei, S., Matei, G. M., & Rodino, S. «Comparative antifungal effect of lactic acid bacteria strains on *Penicillium digitatum*.» *Bull. UASVM Food Sci. Technol*, 2015: 226-230.
- Maury.M. *Milieux et réactifs de laboratoire. Microbiologie et*. Paris: Diagnostics Pasteur, 1987.
- MAYEUX J., SANDINE W., ELLIKER P. «A selective medium for detecting *Leuconostoc* in mixed strain starter cultures.» *Journal Dairy Science*, 1962: 655-656.
- Mayeux. J.V., Elliker. P., and Sandine. W. «Selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed-strain starter cultures.» *Journal of Dairy Science*, 1962: 655.
- Mehaia.A, Hablas M.A , Abdel-Rahman K.M and EL-Mougy S.A. «Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia.» *Food Chem* 52 (1995): 115-122.



- Meiloud, G.M ., Bouraya , I.N.O ., Samb ,A and Houmeida , A. «2011 composition of Mauritanian camel milk : results of first study .» *International Journal Agricultural Biology* 13 (2011): 145-147.
- Merlich, A., Galkin, M., Choiset, Y., Limanska, N., Vasylieva, N., Ivanytsia, V., & Haertlé, T. «Characterization of the bacteriocin produced by *Enterococcus italicus* ONU547 isolated from Thai fermented cabbage.» *Folia microbiologica*, 2019: 535-545.
- Merzouk Yamina, Chahrour Wassila, Zarour Kenza, Zergui Amina, Saidi Nouredine, Henni Jamal Eddine and Kihal Mebrouk. «Physico-chemical and Microbiological Analysis of Algerian Raw Camel's Milk and Identification of Predominating Thermophilic Lactic Acid Bacteria .» *Journal of Food Science and Engineering* 3 (2013): 55-63.
- Messaoudi, S., M. Manai, G. Kergourlay, H. Prévost, N.Connil, J.M. Chobert, and X. Dousset. «*Lactobacillus salivarius*: Bacteriocin and probiotic activity.» *Food Microbiol*, 2013: 296-304.
- Mogensen, J. M., Frisvad, J. C., Thrane, U., & Nielsen, K. F. «Production of fumonisin B2 and B4 by *Aspergillus niger* on grapes and raisins.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010: 954-958.
- Mohamed, I.M.A. and ELzubeir,I.E.M. «Effect of heat treatment on keeping quality of camel milk.» *Annals. Food Science and Technology* 15, n° 2 (2014).
- Muhialdin Belal Jamal., Hassan Zaiton. «Screening of lactic Acid Bacteria for antifungal activity against *Aspergillus oryzae*.» *American Journal of Applied sciences*, 2011: 447-451.
- Multon, Jean-Louis, Jean-Louis Multon, et E. David. *Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Derivés Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux*. Paris: Ed. Lavoisier, 1982.
- Mushtaq, S., Akram, A., Hanif, N. Q., Qureshi, R., Akram, Z., Akhund, S., & Nayyar, B. G. «Natural incidence of aflatoxins, mycological profile and molecular characterization of aflatoxigenic strains in chickpea flour.» *Pak. J. Bot*, 2015: 1153-1160.
- Nagyzbekkyzy, E., Sembayeva, D., Sarsenova, A., Mansurov, N., Moldabayeva, A., & Moldagulova, N. « Data on the diversity of lactic acid bacteria isolated from raw and fermented camel milk.» *Data in brief*, 2020.
- Nahar, N., Khan, W. I., & Shoeb, M. «Physico-Chemical analysis and composition of camel milk of Bangladesh. .» *Journal of Basic & Applied Sciences*, 2016: 231-235.
- Neamatallah, A. A., Madkour, M. H., & Shaheen, A. M. A. «Microbiological Quality of Camel Milk from some Purchasing Locations in Jeddah City.» *Journal of King Abdulaziz University: Meteorology, Environment & Arid Land Agriculture Sciences*, 2012.
- NEMLIN ., IRIE ., BAN-KOFFI., KOFFI., LEGNATE., YORO., N'GBOME et AMANI. «CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES ET ORGANOLEPTIQUES DU CAFE

ROBUSTA (*Coffea canephora* L.) EN FONCTION DES TERROIRS ET DES TECHNIQUES CULTURALES EN CÔTE D'IVOIRE.» *Agronomie Africaine*, 2009: 185-195.

- Nesrine, Belkacem hanfi. «lactic acid bacteria against post-harvest moulds and ochratoxin A isolated from stored wheat.» *Biological Control*, 2014: 52-59.
- NF EN ISO 4833-2. «Microbiologie des aliments.» *Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes - Partie 2 : comptage des colonies à 30 °C par la technique d'ensemencement en surface*. Afnor edition, 2013.
- NF EN ISO 6785. «lait et produits laitiers.» *Recherche de Salmonella spp.* Avril 2008.
- NF EN ISO 6887-5. «Microbiologie des aliments.» *Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 5 : règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers*. Afnor edition , Octobre 2010.
- NF ISO 15214 . «Microbiologie des aliments.» *Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles - Technique par comptage des colonies à 30 degrés Celsius*. AFNOR, Septembre 1998.
- NF ISO 17410. «Microbiologie de la chaîne alimentaire.» *Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes psychrotrophes - Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes psychrotrophes*. 2019.
- —. «Microbiologie des aliments .» *Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes psychrotrophes*. Afnor édition , 2001.
- NF ISO 21527. «Microbiologie des aliments.» *Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures - Partie 1 : technique par comptage des colonies dans les produits à activité d'eau supérieure à 0,95*. Afnor editions, Novembre 2008.
- NF ISO 4832. «Microbiologie des aliments.» *Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes - Méthode par comptage des colonies*. Afnor edition, 2006.
- NF V08-060. «Microbiologie des aliments.» *Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44 °C*. Afnor edition, avril 2009.
- NF V08-061. «Microbiologie des aliments.» *Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfite-réductrices par comptage des colonies à 46 °C*. Afnor edition, decembre 2008.
- Niku-Paavola, M. L., Laitila, A., Mattila-Sandholm, T., & Haikara, A. « New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*.» *Journal of applied microbiology*, 1999: 29-35.
- Nisbet. «Current strategies in the search for bioactive microbial metabolites.» *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 1982: 251-270.

- Nogaim, Q. A., Al-Duais, M., Al-Warafi, A., Al-Erianee, H., Al-Sayadi, M. «The chemical composition of Yemeni green coffee.» *Journal of Food Chemistry and Nutrition*, 2013: 42-48.
- Noonim P., Mahakarnchanakul W., Nielsen KF., Frisvad JC., Samson RA. «Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing *Aspergillus* species from coffee beans grown in two regions of Thailand.» *Int J Food Microbiol.*, 2008: 197-202.
- Ntuli, V., Njage, P. M. K., & Buys, E. M. «Characterization of *Escherichia coli* and other Enterobacteriaceae in producer-distributor bulk milk.» *Journal of dairy science*, 2016: 9534-9549.
- Odongo, Nicanor Obiero, Peter Obimbo Lamuka, George Ooko Abong, et Joseph Wafula Matofari and Khalif Abdirahman Abey. «Physicochemical and Microbiological Post-Harvest Losses of Camel Milk Along the Camel Milk Value Chain in Isiolo, Kenya.» *Current Research in Nutrition and Food Science* 4, n° 2 (2016): 80-89.
- Oliveira LC, Silveira AMM, Monteiro AS, Dos Santos VL, Nicoli JR, Azevedo VAC, Soares SC, Dias-Souza MV, Nardi RMD. «In silico Prediction, in vitro Antibacterial Spectrum, and Physicochemical Properties of a Putative Bacteriocin Produced by *Lactobacillus rhamnosus* Strain L156.4. » *Front Microbiol*, 2017: 876-884.
- Omer, R. H., & Eltinay, A. H. «Microbial quality of camel's raw milk in central & southern regions of United Arab Emirates.» *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2008: 76-83.
- Omotayo, O. P., Omotayo, A. O., Mwanza, M., & Babalola, O. O. «Prevalence of mycotoxins and their consequences on human health.» *Prevalence of mycotoxins and their consequences on human health*, 2019: 1-7.
- Ouiddir M., Bettache G., Salas M.L., Pawtowski A., Donot C., Brahmi S., Kihal M., Coton E., Mounier J. «Selection of Algerian lactic acid bacteria for use as antifungal bioprotective cultures and application in dairy and bakery products.» *Food Microbiology*, 2019: 160-170.
- OuldAhmed. «thèse de doctorat en sciences agronomiques.» *Caractérisation de la population des dromadaires (*Camelusdromedarius*) en Tunisie*. Institut national agronomique de tunisie, 2009.
- Özogul, F., & Hamed, I. «The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: .» *Critical reviews in food science and nutrition*, 2018: 1660-1670.
- Pessu, P. O., Agoda, S., Isong, I. U., Adekalu, O. A., Echendu, M. A., & Falade, T. C. «Fungi and mycotoxins in stored foods.» *African Journal of Microbiology Research*, 2011: 4373-4382.
- Piper, P., Calderon, C.O., Hatzixanthis, K. & Mollapour, M. «Weak acid adaptation:the stress response that confers yeasts with resistance to organic acid food preservatives.» *Microbiology*, 2001: 2635-2642.

- Pitt. «An Appraisal of Identification Methods for *Penicillium* Species: Novel Taxonomic Criteria Based on Temperature and Water Relations.» *Mycologia* (Taylor & Francis, Ltd.) 65, n° 5 (1973): 1135-1157.
- Pitt JI., Miscamble BF. «Water Relations of *Aspergillus flavus* and Closely Related Species.» *J Food Prot*, 1995: 86-90.
- Pitt.J., Hocking.H.D. *Fungi and Food Spoilage*. London: Blackie Academic & Professional (Chapman & Hall), 1998.
- Porto, M. C. W., Kuniyoshi, T. M., Azevedo, P. O. S., Vitolo, M., & Oliveira, R. S. «*Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers.» *Biotechnology Advances*, , 2017: 361-374.
- Pradhan, S., Ananthanarayan, L., Prasad, K., & Bhatnagar-Mathur, P. «Anti-fungal activity of lactic acid bacterial isolates against aflatoxigenic fungi inoculated on peanut kernels.» *LWT*, 2021: 143.
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. «The complex microbiota of raw milk.» *FEMS microbiology reviews*, , 2013: 664-698.
- Raghvendar S, Shukla KS,Sahani SM and Bhakat C. «chemical and physico-chemical propeties of camel mil kat different stages of lactation.» *International Conference, on camel milk*. Sadri, Rajasthan, 2004.
- Rahli. «Thèse de doctorat .» *valorisation du lait de chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement*. oran: université d'oran Ahmed Ben Bella, 2015.
- Rahman N, Chen X-h, Dong MS. «PCR-DGGE Analysis of microbial community in shubat from Xinjiang.» *Food Science*, 2010: 136-140.
- Rahmeh, R., Akbar, A., Kishk, M., Al-Onaizi, T., Al-Azmi, A., Al-Shatti, A., ... & Akbar, B. «Distribution and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from raw camel milk.» *New Microbes and New Infections*,, 2019.
- Ramalakshmi, K., Rahath Kubra, I., Jagan Mohan Rao, L. «Physico-chemical characteristics of green coffee: Comparison of gradedand defective beans.» *Physico-chemical characteristics of green coffee: Comparison of gradedand defective beans*, 2007: 333–337.
- Ramirez, M. L., Cendoya, E., Nichea, M. J., Zachetti, V. G. L., & Chulze, S. N. «Impact of toxigenic fungi and mycotoxins in chickpea: A review.» *Current Opinion in Food Science*, 2018: 32-37.
- Ramirez.C. *Manual and atlas of the Penicillium*. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982.

- Raper. K.B., Thom. C. *A Manual of the Penicillia*. Baltimore The Williams & Wilkins Company, 1949.
- Reddy, N. S., & Ranganathan, B. «Effect of time, temperature and pH on growth and production of antimicrobial substances by *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* S1-67/C. .» *Milchwissenschaft*, 1985: 346-348.
- Reddy, Ranganathan. «Nutritional factors affecting growth and production of antimicrobial substance by *Streptococcus lactis diacetylactis* S1-67-C.» *Journal of Food Protection*, 1983: 514-517.
- Reh C.T., Gerber A., Prodolliet and Vuataz G. «Water content determination in green coffee - Method comparison to study specificity and accuracy.» *Food Chemistry*, 2006: 423-430.
- Riba, Bouras, Mokrane, Mathieu, Lebrihi, Sabaou. «*Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in Algerian wheat and derived products.» *Food and Chemical Toxicology*, 2010: 2772-2777.
- Riba, Mokrane, Mathieu, Lebrihi, Sabaou,. «Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat.» *International Journal of Food Microbiology*,, 2008: 85-92.
- Roitman, J. N., Mahoney, N. E., Janisiewicz, W. J., & Benson, M. «A new chlorinated phenylpyrrole antibiotic produced by the antifungal bacterium *Pseudomonas cepacia*.» *Agricultural and Food Chemistry*, 1990: 538-541.
- Rosengren, Å., Fabricius, A., Guss, B., Sylvén, S., & Lindqvist, R. «Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies.» *International journal of food microbiology*,, 2010: 263-269.
- Ross, Morgan, Hill. «Preservation and fermentation: past, present and future.» *Int. J.Food Microbiol*, 2002: 3-16.
- Rouse S, Harnett D, Vaughan A, van Sinderen D. «Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods.» *J Appl Microbiol*, 2008: 915-23.
- Roy, Batish, Grover, Neelakantan. «Production of antifungal substance by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CHD-28.3.» *International Journal of Food Microbiology*, 1996: 27-34.
- Roy, U., Batish, V. K., Grover, S., & Neelakantan, S. «Production of antifungal substance by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CHD-28.3.» *International journal of food microbiology*, 1996: 27-34.
- Ruiqian, L., Qian, Y., Thanaboripat, D., & Thansukon, P. «Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production.» *CURRENT APPLIED SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 2004: 238-250.
- Ryan, L. A., Zannini, E., Dal Bello, F., Pawlowska, A., Koehler, P., & Arendt, E. K. «*Lactobacillus amylovorus* DSM 19280 as a novel food-grade antifungal agent for bakery products.» *International journal of food microbiology*,, 2011: 276-283.

- Sadeghi A., Raeisi M., Ebrahimi M., Sadeghi B. «Antifungal Activity of *Pediococcus pentosaceus* Isolated from Whole Barley Sourdough.» *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 2016: 30-36.
- Saladino, F., Luz, C., Manyes, L., Fernández-Franzón, M., & Meca, G. «In vitro antifungal activity of lactic acid bacteria against mycotoxigenic fungi and their application in loaf bread shelf life improvement.» *Food Control*, 2016: 273-277.
- Samelis J., Maurogenakis F. et Metaxopoulos J. «Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami.» *Inter. J. Food. Microbiol.*, 1994: 179-196.
- Samson. R., Hoekstra. E., Frisvad. J., Filtenborg. O. *Introduction to Food Borne Fungi*. Amer Society for Microbiology, 2001.
- Sanayei .S, M . Jahadi , M.Fazel, M. Janigorban. « physico-chemical characteristics of raw milk of one –humped camel from khur and Biabanak in isfahan province of Iran .» *Journal of food biosciences and technology ( 5 )2* , 2015: 67-72.
- Sánchez, Ó. J., Barragán, P. J., & Serna, L. «Review of *Lactobacillus* in the food industry and their culture media.» *Revista Colombiana de Biotecnología*, 2019: 63-76.
- Sangmanee, Panadda, and Tipparat Hongpattarakere. «"Inhibitory of multiple antifungal components produced by *Lactobacillus plantarum* K35 on growth, aflatoxin production and ultrastructure alterations of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*."» *Food Control*, 2014: 224-233.
- Sarantinos, J., Hung, T. V., Black, R. G., & Brouwer, J. B. «The effects of fungal infection on the chemical and functional properties of chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*).» *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1996: 197-203.
- Sathe, Nawani, Dhakephalkar, Kapadnis. «Antifungal lactic acid bacteria with potential to prolong shelf-life of fresh vegetables.» *Journal of Applied Microbiology*, 2007: 2622-2628.
- Sathe, Nawani, Dhakephalkar, Kapadnis. «Antifungal lactic acid bacteria with potential to prolong shelf-life of fresh vegetables.» *Journal of Applied Microbiology*, 2007: 2622-2628.
- Sboui, A., Khorchani, T., Djegham, M., & Belhadj, O. «Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures.» *Afrique science: revue internationale des sciences et technologie*, 2009.
- Schabo, D. C., Martins, L. M., Maciel, J. F., Iamanaka, B. T., Taniwaki, M. H., Schaffner, D. W., & Magnani, M. «Production of aflatoxin B1 and B2 by *Aspergillus flavus* in inoculated wheat using typical craft beer malting conditions.» *Food microbiology*, 2020: 103456.
- Schillinger U., Lücke F.K. «Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat.» *Applied and Environmental Microbiology*, 1989: 1901–1906.



- Schillinger, U., and F.-K. Lucke. «Identification of lactobacilli from meat and meat products. .» *Food Microbiol.*, 1987: 199-208.
- Schleifer, K. H., & Kilpper-Bälz, R. «Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review.» *Systematic and Applied Microbiology*, 1987: 1-19.
- Schleifer, K. H., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Bälz, R., Collins, M. D., & Fischer, W. «Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov.» *Systematic and applied microbiology*, 1985: 183-195.
- Schmidt, M., Horstmann, S., De Colli, L., Danaher, M., Speer, K., Zannini, E., & Arendt, E. K. «Impact of fungal contamination of wheat on grain quality criteria.» *Journal of Cereal Science*, 2016: 95-103.
- Schnürer, J., & Magnusson, J. «Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives.» *Trends in Food Science & Technology*, 2005: 70-78.
- seher Abass, Hifsa Ashraf ,Dr.Aalia Nazir and Dr.lubna Sarfraz. «Physico-chemical analysis and composition of camel milk .» *International researchers 2 (2 )*, 2013: 84-98.
- Sela, Shlomo, et Uzi Merin,A N Dbaruch Rose Riky Pinto. «Thermal Inactivation of *Escherichia coli* in Camel Milk.» *Journal of Food Protection 66(9):*, 2003: 1708-11.
- Semereab, T and Molla,B. «Bacteriological quality of raw milk of camel (*Camelus dromedarius*) in AFAR region(Ethiopia).» *I.camel Res*, 2001: 51-54.
- Shamsia, SM. « Nutritional and therapeutic properties of camel and human milks.» *International Journal of Genetics and Molecular biologie 1, n° 2 (2009):* 52-58.
- Shehata, M. G., Badr, A. N., El Sohaimy, S. A., Asker, D., & Awad, T. S. «Characterization of antifungal metabolites produced by novel lactic acid bacterium and their potential application as food biopreservatives.» *Annals of Agricultural Sciences*, 2019: 71-78.
- Sholberg, P. L. «Fumigation of fruit with short-chain organic acids to reduce the potential of postharvest decay.» *Plant disease.*, 1998: 689-693.
- Shomura T., Yoshida Y., Amano S. ,Kojirna M., Inouye S., Niida T. «Studies on actinomycetales producing antibiotics only on agar culture.Screening,taxonomy and morphology productivity relationship of *Sireptomycetes halstedii* strain SE.» *The Journal of Antibiotics*, 1979: 427-435.
- Shuiep, E. S., El Zubeir, I. E. M., El Owni, O. A. O., & Musa, H. H. «Influence of season and management on composition of raw camel (*Camelus dromedarius*) milk in Khartoum state, Sudan.» *Tropical and subtropical Agroecosystems*, 2008: 101-106.

- Si Ahmed ZS, Almi D, Senoussi C, Boudjenah HS, Abderrahmane M. «Separation and characterization of major milk proteins from Algerian Dromedary.» *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2013: 283–290.
- Siboukeur O, Mati A, Hesas B. *Amélioration de l’aptitude à la coagulation du lait camelin (Camelus dromedarius) : utilisation d’extraits enzymatiques coagulants gastriques de dromadaires*. Vol. 5, chez *Cahiers d’étude et de recherches francophones Agricultures*, 473-478. Ed John Libbey, 2005.
- SIBOUKEUR. «thèse de doctorat :Etude du lait camelin collecté localement.» *caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation*. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 15 Novembre 2007.
- Siedler S., Balti R., Neves A.R. «Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food.» *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2019: 138-146.
- Silva C. F., Schwan R. F., Dias Ê. S., Wheals A. E. «Microbial diversity during maturation and natural processing of coffee cherries of *Coffea arabica* in Brazil.» *International journal of food microbiology*, 2000: 251-260.
- Simpson, W. J., & Taguchi, H. (1995). «The genus *Pediococcus*, with notes on the genera *Tetratogenococcus* and *Aerococcus*.» Dans *The genera of lactic acid bacteria*, de Holzapfel Wood, 125-172. Boston: Springer, 1995.
- Singh R, Mal G, Kumar D, Patil NV, Pathak MKL. «Camel Milk: An Important Natural Adjuvant.» *Agricultural Research*, 2017: 327–340.
- Singh, P., & Ahmed, S. K. «Pre-storage aflatoxin contamination and *Aspergillus flavus* association with various growth stages of chickpea (*Cicer arietinum*)[Egypt].» *Annals of Agricultural Science* , 1991: 723-730.
- Sjögren, Magnusson, Broberg, Schnürer, Kene. «Antifungal 3-hydroxyl fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB14.» *Applied and Environmental Microbiology*, 7554-7557: 2003.
- Slimani ., Moussaoui. «Contribution to the Mycological and Mycotoxicology Study of Green and Torried Coffee Beans Imported to Algeria .» *J. Appl. Environ. Biol. Sci*, 2019: 1-5.
- Sobrino-Lopez. A., Martín-Belloso. «Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products.» *Int. Dairy J.*, 2008: :329-343.
- Soliman. «Comparison Of Chemical And Mineral Content Of Milk From Human, Cow, Buffalo, Camel And Goat In Egypt.» *Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 2005: 116 – 130.
- Song AA, In LLA, Lim SHE, Rahim RA. «A review on *Lactococcus lactis*: from food to factory.» *Microb Cell Fact*, 2017: 55.



- Souilem O, and Barhoumi K. «Physiological Particularities of Dromedary (*Camelus dromedarius*) and experimental implications.» *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*,, 2009: 19-29.
- Stiles M. E., and W. H. Holzapfel. «Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy.» *Int j food Microbiol*, 1996: 1-29.
- Stiles, M. E., & Holzapfel, W. H. «Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy.» *International journal of food microbiology*, 1997: 1-29.
- Stockmann-Juvala, H., & Savolainen, K. «A review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B1.» *Human & experimental toxicology*, 2008: 799-809.
- Stoneham, S., Peters, J., & Price, J. «Staphylococcal and streptococcal infections.» *Medicine*, 2021: 731-738.
- Ström. «Doctoral thesis .» *Characterization and Application of Lactobacillus plantarum MiLAB 393* . Swedish University of Agricultural Sciences , 2005.
- Ström, Schnürer, Melin. «Co-cultivation of antifungal *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 and *Aspergillus nidulans*, evaluation of effects on fungal growth and protein expression.» *FEMS Microbiology Letters*, 2005: 119-124.
- Strycker, B. D., Han, Z., Duan, Z., Commer, B., Wang, K., Shaw, B. D., ... & Scully, M. O. «Identification of toxic mold species through Raman spectroscopy of fungal conidia.» *PloS one*, 2020.
- Sun Z, Liu W, Zhang J, Yu J, Zhang W, Cai C, Menghe B, Sun T, Zhang H. «Identification and characterization of the dominant lactobacilli isolated from koumiss in China.» *J. Gener. Appl. Microbiol*, 2010: 257-65.
- Tabuc.cristina. «thèse de doctorat.» *Flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines*. Toulouse: L'institut national polytechnique de Toulouse , 6 Décembre 2007.
- Tahani Naoufal, Elamrani Ahmed. «thèse de doctorat.» *ANALYSE ET CONTROLE DE LA QUALITE DE BLE TENDRE ET DES PRODUITS DE SA TRANSFORMATION*. Oujda: Faculté des .Sciences Université Mohamed Premier , 2008.
- Taniwaki M. H., Pitt J. I., Teixeira A. A., Iamanaka, B. T. «The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods.» *International journal of food microbiology*, 2003: 173-179.
- Teuber, M., Geis, A. «The genus lactococcus.» Dans *The prokaryotes*, 205-228. Springer, 2006.
- Thunell, R. K., & Sandine, W. E. «Types of starter cultures.» *Bacterial starter cultures for foods*, 2018: 127-144.

- Tichaczek. P.S., Nissen-Meyer. J., Nes. I.F., Vogel. R.F. and Hammes W.P. «Characterisation of the bacteriocins curvacin A from *Lactobacillus curvatus* LTH1174 and sakacin P from *L. sake* LTH673.» *Syst Appl Microbiol*, 1992: 460– 468.
- Toffa. «THÈSE DE DOCTORAT.» *Étude de la contamination de certains aliments d'origine végétale de la République du Niger les moisissures toxigènes*. Rabat: UNIVERSITÉ MOHAMMED V, 12 juin 2015.
- Torkar K. G., & Teger S. G. «The microbiological quality of raw milk after introducing the two day's milk collecting system.» *Acta Agriculturae Slovenica*, 2008: 61-74.
- Tripathi, A., Mishra, S. P., Varma, A., & Panday, D. K. «Physico-chemical and antinutritional studies of chickpea.» *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2018: 685-689.
- Tucker, S. L., & Talbot, N. J. «Surface attachment and pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi.» *Annual review of phytopathology*, 2001: 385-417.
- Umesha, S., Manukumar, H. M. G., Chandrasekhar, B., Shivakumara, P., Shiva Kumar, J., Raghava, S., ... & Prakash, H. S. «Aflatoxins and food pathogens: impact of biologically active aflatoxins and their control strategies.» *journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017: 1698-1707.
- Urbano G. R., Taniwaki M. H., LEITÃO M. F., Vicentini, M. C. «Occurrence of ochratoxin A–producing fungi in raw Brazilian coffee.» *Occurrence of ochratoxin A–producing fungi in raw Brazilian coffee.*, 2001: 1226-1230.
- Vahidi, Hossein, Faraz Mojab, and Nasim Taghavi. «Effects of carbon sources on growth and production of antifungal agents by *Gymnopilus spectabilis*.» *Iranian Journal of pharmaceutical research* , 2010: 219-222.
- Valerio, F., Favilla, M., De Bellis, P., Sisto, A., de Candia, S., & Lavermicocca, P. «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*,, 2009: 438-448.
- Venturini, Blanco, Oria. «In vitro antifungal activity of several compounds against *Penicillium expansum*.» *Journal of Food Protection*, 2002: 934-939.
- Viegas., Pacífico., Faria., Oliveira., Caetano., Elisabete Carolino.,l Gomes., Viegas. «Fungal contamination in green coffee beans samples: A public health concern.» *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2017: 719-728.
- Vieira R.H., Rodrigues D.P., Gonçalves F.A., Menezes F.J ., Aragão J.S., Sousa O.V. «Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children.» *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* , 2001: 145-153.

- Visagie CM, Houbraken J, Frisvad JC, Hong SB, Klaassen CH, Perrone G, Seifert KA, Varga J, Yaguchi T, Samson RA. «Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*.» *Stud Mycol*, 2014: 343-371.
- Vogel, Hammes et. «The genus *Lactobacillus*.» Dans *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, de Wood and Holzapfel, 19- 54. SPRINGER-SCIENCE+BUSINESS MEDIA, B.V, 1995.
- Waes. «Les streptocoques D dans le lait cru réfrigéré. I. Présence.» *Le Lait*, 1973: 520-529.
- Wang J, Chen X, Liu W, Yang M, Airidengcaিকে, Zhang H. «Identification of *Lactobacillus* from koumiss by conventional and molecular methods.» *European Food Res. Techno*, 2008: 1555-1561.
- Wangoh, J., Farah, Z., Puhani, Z. «Composition of milk from three camel (*Camelus dromedarius*) breeds in Kenya during lactation.» *Milchwissenschaft*, 53 (3), 1998: 136– 139.
- Wiseman, Marth. «Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* when in the presence of *Streptococcus lactis*.» *Mycopathologia*, 1981: 49-56.
- Wolter, Rogher. *Alimentation de la vache laitière* . France Agricole, 1997.
- Yagil, R. «Camels and camel milk.» *FAO Animal Production and Health Papers (FAO)*, 1982: 53-67.
- Yagil, R. *The desert camel. Comparative physiological adaptation*. Karger, 1985.
- Yagil, R., & Etzion, Z. «Effect of drought condition on the quality of camel milk.» *Journal of Dairy Research*, 1980: 159-166.
- Yang, E. J., & Chang, H. C. «Antifungal activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from kimchi.» *Microbiology and Biotechnology Letters*, 2008: 276-284.
- Yazar, S., & Omurtag, G. Z. «Fumonisin, trichothecenes and zearalenone in cereals.» *International Journal of Molecular Sciences*, 2008: 2062-2090.
- Young, K.M., & Foegeding, P.M. «Acetic, lactic and citric acids and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect on intracellular pH.» *The Journal of applied bacteriology*, 1993: 515-20.
- Youssef, M. S., El-Mahmoudy, E. M., & Abubakr, M. A. S. «Mesophilic fungi and mycotoxins contamination of Libyan cultivated four Fabaceae seeds.» *Research Journal of Microbiology*, 2008: 520-534.
- Zabouri. «thèse de doctorat .» *Etude de l'activité antifongique des bactéries lactiques vis-à-vis des champignons phytopathogènes*. UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM, 2021.

- Zahran, A. S., & Al-Saleh, A. A. «solation and identification of protease-producing psychrotrophic bacteria from raw camel milk. .» *Australian journal of dairy technology*,, 1997: 5.
- Zhang, H., & Cai, Y. *Lactic acid bacteria*. Berlin Heidelberg.: Springer, 2014.