

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–  
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Biotechnologie  
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

- BEKKOUCHE HAYET.
- HAOUHAT BOUCHRA.
- LAALA SARA.

*Thème*

**Évaluation de l'activité des bactéries lactiques dans  
la bio-conservation de quelques aliments.**

Soutenu le : ... /07/2021.

**Jury :**

**Grade**

**Présidente : Dr. MOULAY M.**

« MCA »

**Encadrant : Dr. YEZLI W.**

« MCA »

**Examinatrice : Dr. MEDJEBER N.**

« MCB »

**Année universitaire 2020-2021**

# Remerciements

*Nous adressons en premier lieu notre reconnaissance à « DIEU » tout puissant qui nous a prêté force, courage et patience lors de réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier notre promoteur Dr. YEZLI W. pour tout le soutien, l'orientation, sa patience. Ainsi que pour ses précieux conseils, encouragements lors de la réalisation de notre mémoire.*

*Nous tenons aussi à remercier les membres de jury :*

*Dr. MOULAY M. de nous faire l'honneur de présider le jury.*

*Dr. MEDJEBER N. d'avoir accepté d'examiner et de juger ce mémoire.*

*Nous remercions vivement laboratoire de «Hygiène et pathologie animal» d'université« IBN KHALDOUN».*

*Enfin nous remercions toutes les personnes qui ont de près ou loin contribués à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour:*

*A mes parents qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que me puisse atteindre mes objectifs.*

*A ma chère sœur: Nour elhouda.*

*A mes frères: Amine et Oussama.*

*Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.*

*A mes collègues: Hayat et Bouchra.*

*A mes chères amies: Hayet, Saadia, Ikram, Amel.*

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

***Sarah.***

# Dédicace

*Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que me dédie À:*

*Mes chers parents, pour leurs dévouements, Leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements jusqu'au bout. Je souhaite que vous restiez toujours près de moi et que DIEU vous protège et vous donne bonne santé.*

*Merci!!*

*À la source de la tendresse de patience et de générosité,*

*Ma mère "Hadjchaib.B"*

*À mon père "Mohammed " qui m'appris que la patience est*

*le secret du succès.*

*A Mes sœur  $\kappa$  halida, Lydia et mon frère Riadh, pour vos encouragement et soutien moral. toute famille Haouhat, Hadjchaib et Bouziane.*

*A mes amies Sara et Hayet. Et toutes mes Amies sans exception.*

*A tous mes collègues de promotion: Biotechnologie Microbienne*

*A tous ceux que je porte dans mon cœur.*

*Bouchra.*

# Dédicace

*Louage à dieu qui m'a donné la vie, la santé, la volonté et le courage de  
mener cette recherche*

*C'est un réel plaisir, une grande fierté et un grand bonheur que moi « Bekkouche  
Hayet » tiens à dédier ce modeste travail à tous ceux qui j'aime:*

*« À mes chers parents », pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur  
soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*À mes chères sœurs « Rachida », « Sihem » et « Souad » pour leurs  
encouragements permanents, et leur soutien moral*

*À mes chères frères « Mourad » et « Nacereddine »*

*À toute ma famille leur soutien tout au long de mon parcours, que ce travail soit  
l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,  
merci d'être toujours là pour moi*

*À Mon binôme et ma très chère amie « SARA » et « BOUCHRA » et ses familles.*

*Sans oublier mon encadreur « Dr YEZLI » et attentif un disponible malgré ses  
nombreuses charges.*

***Hayat.***

## TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES TABLEAUX.....	i
LISTE DES FIGURES.....	ii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	lii
INTRODUCTION	

### CHAPITRE I: MATÉRIEL & MÉTHODES

<b>I. Matériels et méthodes</b>	<b>04</b>
<b>I.1 Objectif du travail</b>	<b>04</b>
<b>I.2. Date et lieu de travail</b>	<b>04</b>
<b>I.3. Matériels et produits utilisés</b>	<b>04</b>
<b>I.3.1. Matériels du laboratoire</b>	<b>04</b>
<b>I.3.2. Milieux de culture.</b>	<b>05</b>
<b>I.4. Protocole expérimentale</b>	<b>06</b>
<b>I.4.1. Échantillonnage.</b>	<b>07</b>
<b>I.4.2. Préparation de la solution mère</b>	<b>07</b>
<b>I.4.3. Préparation des dilutions décimales</b>	<b>07</b>
<b>I.4.4. solement et purification des bactéries.</b>	<b>08</b>
<b>I.4.5. identification des isolats.</b>	<b>09</b>

<b>I.4.5.1.</b> examen microscopique.	<b>09</b>
<b>I.4.5.2.</b> Examen macroscopique.	<b>09</b>
A. Coloration de Gram.	<b>09</b>
<b>A.1.</b> Principe.	<b>09</b>
<b>A.2.</b> Mode opératoire.	<b>10</b>
<b>A.3.</b> Coloration.	<b>10</b>
<b>B.</b> Caractérisation biochimique et physiologique	<b>10</b>
<b>B.1.</b> Recherche de la catalase.	<b>10</b>
<b>B.1.1</b> Principe.	<b>10</b>
<b>B.1.2.</b> Technique.	<b>11</b>
<b>B.2.</b> Recherche de l'oxydase.	<b>11</b>
<b>B.2.1.</b> Principe.	<b>11</b>
<b>B.2.2.</b> Technique.	<b>11</b>
<b>B.3.</b> Recherche de la B-galactosidase (ONPG).	<b>11</b>
<b>B.3.</b> Principe.	<b>11</b>
<b>B.3.2.</b> Technique.	<b>12</b>
<b>I.4.5.3.</b> Lutte biologique.	<b>12</b>
<b>B.</b> Test in vitro.	<b>12</b>
<b>A.</b> Test in situ.	<b>13</b>

## **CHAPITRE II: RÉSULTATS & DISCUSSION**

II. Résultats et discussion.	15
II.1. Identification des souches lactiques.	15
II.1.1. Etude morphologique.	15
II.1.2. Identification microscopique.	16
II.1.3. Reaction de la catalase.	16
II.1.4. Reaction d'oxydase.	17
II.1.5. Reaction d'ONPG.	18
II.2. Recherche d'activité antifangique de la bactérie lactique.	18
II.2.1. Test in vitro.	18
II.2.2. Test in situ.	20
II.3. discussion Générale.	22
Conclusion.	27
Références bibliographiques.	29



Résumé.

34

Annexe.

35

## Liste des Tableaux

<b>Tableau n° 01:</b>	Appareillage, verrerie et produits utilisés.	04
<b>Tableau n° 02:</b>	Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactique	09
<b>Tableau n° 03:</b>	Suivi d'activité antifongique in situ à différentes périodes	19
<b>Tableau n° 04:</b>	Suivi d'activité suivi d'activité antifongique in vitro.	21
<b>Tableau n° 05:</b>	Caractéristiques physico- chimique du lait de chèvre	37
<b>Tableau n° 06:</b>	Le taux de contamination des aliments.	38
<b>Tableau n°07:</b>	Le taux d'inhibition des champignons par les métabolites des lactobacillus spp	38

## Liste des Figures

<b>Figure n° 01:</b>	Schéma du protocole experimental;	06
<b>Figure n° 02:</b>	Photo de l'incubation des bactéries lactiques isolées sur le milieu MRS dans dessiccateur	08
<b>Figure n° 03:</b>	Représente les différents aliments enrobés dans la suspension bactérienne	12
<b>Figure n° 04:</b>	Les fraises enrobées par la suspension bactérienne et d'autre n enrobée	13
<b>Figure n° 05:</b>	Aspect macroscopique de quelque colonie purifie de souches lactiques isolées sur gélose MRS	15
<b>Figure n° 06:</b>	Photo de trouble des bactéries dans bouillon MRS	15
<b>Figure n° 07:</b>	Aspect et mode d'association des souches lactiques après la coloration de Gram	16
<b>Figure n° 08:</b>	Résultat de test de la catalase pour identifier les bactéries lactiques	17
<b>Figure n° 09:</b>	Résultat de test d'oxydase pour l'identification des isolats lactiques	17
<b>Figure n° 10:</b>	Résultat de test d'ONPG	18
<b>Figure n° 11:</b>	Histogramme représente le pourcentage d'inhibition des champignons	22

## Liste des abréviations

<b>LAB :</b>	Bactérie Lactique
<b>EDS :</b>	Eau Distillé Stérilisé
<b>LB :</b>	Lactobacillus
<b>MRS</b>	Milieu de Man Rogosa and Sharpe
<b>ONPG :</b>	Orthonitrophényl-B-D-galactopyranoside
<b>PDA :</b>	Potato Dextrose Agar
<b>Susp B :</b>	Suspension Bactérienne
<b>Spp :</b>	plusieurs espèces
<b>SM :</b>	Solution Mère.

# **INTRODUCTION**

Parmi les problèmes les plus grave et difficile à régler actuellement la contamination des denrées alimentaires par des champignons toxiques comme les moisissures. Car elle due à d'énormes pertes économiques. Les toxines produites par ces champignons ont été considéré comme l'un des contaminants les plus dangereux dans l'alimentation. (**Dalié et al., 2010**).

L'être humain a cherché pendant des années un moyen de lutter contre ce fléau et de pouvoir s'en débarrasser une bonne fois pour toute, malgré l'avancement technologique et les découvertes effectué dans le domaine de la science ça reste un grand défi pour les industries alimentaires. Après le développement de plusieurs méthodes physiques et chimiques pour l'inhibition de la prolifération fongique dans les denrées alimentaires et après nombreux essais il a été conclu que la solution est entre les mains des bactéries lactiques qui ont été estimé comme une arme efficace contre la croissance des champignons. (**Oranusi et al., 2013**).

La bio-conservation des aliments se base principalement sur l'inhibition de la croissance fongique. Les méthodes de conservation physiques et chimiques peuvent entrainer des changements dans la qualité nutritionnelle et sensorielle des aliments et réduire leur utilité après que les micro-organismes pathogènes développent une résistance .cette résistance est attribuée à une utilisation excessive et une utilisation fréquente à long terme de produits chimiques , ce qui fait que les souches développent des mécanismes de résistance face à ces problèmes, la recherche scientifique s'oriente vers la conservation biologique , c'est-à-dire l'application de micro-organismes ou leurs métabolites pour éviter la détérioration des aliments et prolonger leur durée de conservation(**Stiles et al., 1996, Gould, 2000 et Singh, 2018**).

La bio-préservation est une méthode alternative très prometteuse, grâce à son efficacité et son ubiquité antagoniste, sa diversité et sa persistance dans l'environnement. Des rapports de recherche affirment qu'il existe des souches de certains micro-organismes qui peuvent contrôlé la croissance des champignons, tels que Bacillus, Streptomyces, Burkholderia et Trichoderma..., mais certains d'entre eux peuvent causer des problèmes de santé. Les antagonistes doivent pouvoir assurer une saine bioconservation et être tolérés par l'homme et l'animal. Parmi eux, les bactéries lactiques sont non seulement connues pour leur innocuité, mais aussi pour leur activité antibactérienne, qui permet de réduire l'utilisation de produits chimiques dans l'alimentation (Djossouet al., 2011).

L'utilisation de bactéries lactiques (LAB) pour conserver les aliments est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus distinctives (Siedler et al., 2019). Les LAB sont utilisés dans la production alimentaire depuis des siècles, non seulement parce qu'ils sont délicieux, mais aussi parce qu'ils peuvent conserver les aliments longtemps. Ils jouent un rôle important dans la préparation, la conservation et la transformation de nombreux aliments fermentés, ce qui leur a valu le statut de GRAS « reconnu sûr ». De nombreux représentants de ce groupe présentent une activité antagoniste élevée (Matevosyan et al., 2019)

Les bactéries lactiques sont connues pour leur capacité à produire des composés actifs au cours de la croissance, à savoir des acides organiques en milieu acidifié, des dérivés du métabolisme de l'oxygène ( $H_2O_2$ ) et des substances naturelles aux propriétés protéiques antagonistes. Laissez-les se développer d'abord dans divers écosystèmes (Klaenhammer, 1988 ; Jack et al., 1995 ; Matilla-Sandholm et al., 1999).

Tout ceci nous a incité à réaliser ce travail afin de définir l'importance des bactéries lactiques et leurs utilisations comme des bio-conservateurs ou des bio-protecteurs ; ainsi l'étude de la capacité de ces microorganismes à exercer leurs activités antifongiques, et leurs efficacités dans la conservation des aliments.

## **Chapitre I:**

# **MATÉRIEL & MTHODES**



## I. Matériel et Méthodes

### I.1. Objectif du travail

Les objectifs assignés à se présent travail s'articule autour des points suivants :

- L'isolement et l'identification des bactéries lactiques à partir d'un produit laitier ; le lait de chèvre.
- Recherche d'une activité antifongique des souches lactiques contre les moisissures d'altération
- La bio-conservation des denrées alimentaires par les bactéries lactiques

### I.2. Date et lieu de travail

Notre travail pratique a été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université IBN- Khaldoun Tiaret. Ce travail a nécessité une période de deux mois allant du 25/04/2021 jusqu'au 13/06/2021.

### I.3. Matériel et produits utilisés

#### I.3.1. Matériel du laboratoire

Plusieurs produits et matériels ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, et sont récapitulés sans le tableau 01

**Tableau n° 01:** Appareillage, verrerie et produits utilisés.

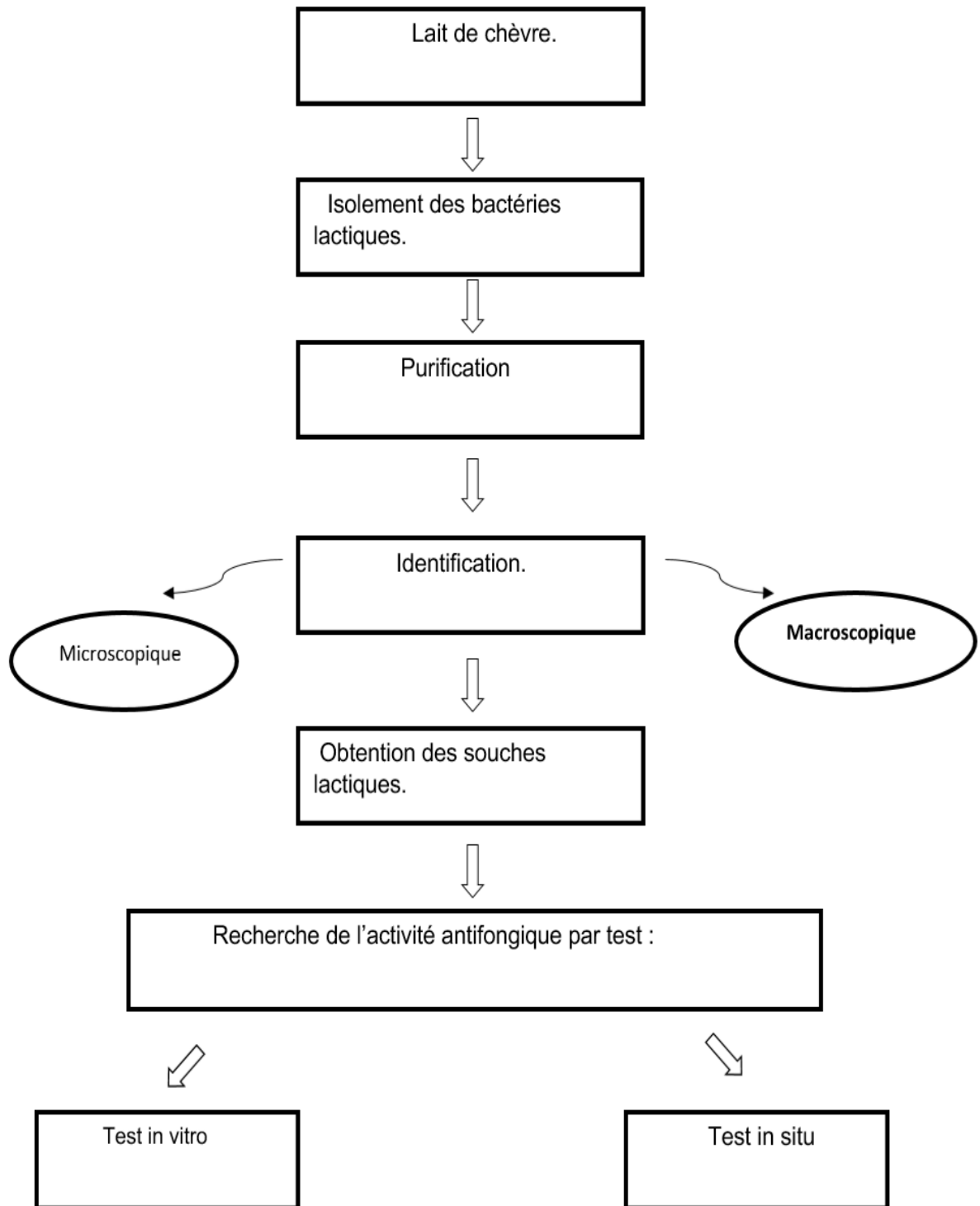
Verreries	Appareillages	Produits	Autres
Béchers	Agitateur magnétique	Agar 20g	
Boites de Pétri	(STUART)	Eau distillé stérile	Lances de platines
Flacons stériles	Autoclave (ISOLAB)	Éthanol (C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O)	Seringues stériles
Lames	Bain-Marie (GFL)	Fuschine (colorant)	
Pincés	Bec Bunsen	L'eau oxygéné	
Pipettes Pasteur	Dessiccateur	(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	
Tubes à essais	Etuve (NUVE)	Lugol (l'eau iodée)	
stériles	Micropipettes	Violet de	
	Microscope (OPTICA)	gentiane (colorant)	

### **I.3.2. Milieux de culture**

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale :

- **MRS:** Milieu plus utilisé pour isolement et identification des bactéries lactiques (pH 5.7) incubation 30°C pendant 36 heures.
- **PDA:** Milieu de culture utilisé pour la croissance des champignons dans les denrées alimentaires.

### I.4. Protocole expérimental



**Figure 01:** Schéma du protocole expérimental.

### **I.4.1. Échantillonnage**

L'échantillon du lait de chèvre provient de la région ouest-algérien, à Tiaret exactement d'une ferme à Mechraa Safa.

Le lait de chèvre une source importante de protéines d'excellente qualité. Il contient tous les acides aminés essentiels à l'organisme en proportion satisfaisante. Sa teneur en phosphore, en potassium, en magnésium et surtout en calcium est élevée. Du côté des vitamines, il est riche en vitamines du groupe B qui contribuent au bon fonctionnement cellulaire.

D'abord ont a prélevé 100 ml de lait de chèvre dans un flacon stérile pour évite la contamination du lait et la multiplication des microorganismes et le transporté au réfrigérateur de laboratoire a une température qui ne dépasse pas les 10°C.

Les tests *in vitro* et *in situ* ont été testés sur le riz et le blé qui sont des céréales qui constitue la base de l'alimentation pour environ la moitié de la population du globe sont contaminées soit au champ soit au moment du stockage et généralement sont commercialisées sans emballage ce qui conduit à des contaminations par des toxines. Nous avons utilisé aussi les dattes et les fraises, qui sont des fruits recouverts d'une multitude de moisissures, sous forme de spores, capables de proliférer facilement, et sont plus sensibles à l'altération fongique due à leurs acidités.

La recherche d l'activité antifongique a été réalisée en premier lieu par un test *in vitro*, puis par un test *in situ*.

### **I.4.2. Préparation de la solution mère**

Pour la préparation de la solution mère, 1ml d'échantillon est placé dans un tube contenant 9ml d'eau distillé stérile (EDS).

### **I.4.3. Préparation des dilutions décimales**

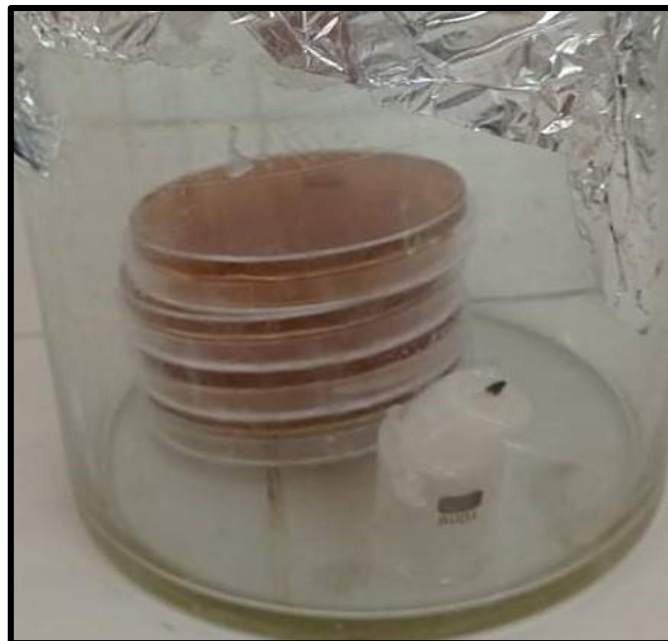
La dilution est un processus qui consiste à réduire la concentration d'une substance dans une solution. Dans ce but, des dilutions décimales sont ensuite réalisées en cascade jusqu'à la dilution ( $10^{-3}$ ).

#### I.4.4. Isolement et purification des bactéries lactiques

L'isolement des bactéries lactiques est effectué par étalement de 1ml des différentes dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ) et ensemencés en profondeur dans des boites Pétri contenant du milieu gélosé sélectif MRS. L'incubation est réalisée à 30-40°C pendant 36 heures en anaérobiose, dans un dessiccateur.

La purification est réalisée par des repiquages successifs sur géloses MRS, jusqu'à l'obtention de colonies présentant les mêmes caractéristiques (souches pures), et aussi la purification des bactéries isolés a été établie par la réalisation des subcultures sur bouillon (apparition de troubles dans le milieu liquide) et milieu MRS solide jusqu'à l'obtention distincte et homogène.

Ces colonies isolées ont été prélevées dans le milieu MRS solide et transférées dans MRS liquide, vice versa. La pureté des souches a été vérifiée par l'aspect des colonies (forme, couleur, taille) sur milieu solide, aspect caractéristique des cultures en milieu liquide et par examen microscopique.



**Figure 02:** Incubation des bactéries lactiques isolées sur le milieu MRS dans un dessiccateur.

Microorganismes	Milieu d'isolement	Température (C)	Durée (heure)	Incubation
Lactocoques	MRS	30	72	Aérobiose
Lactobacilles mésophiles	MRS	30	24-36	Anaérobiose
Lactobacilles thermophiles	MRS	40	24-36	Anaérobiose

**Tableau 02:** Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques. T°C: température optimale de croissance

#### I.4.5. Identifications des isolats

L'identification des bactéries lactiques est établie en se basant sur l'étude de leurs caractères morphologiques (examens macroscopique et microscopique) et divers caractères biochimiques : le teste catalase et le teste oxydase.

##### I.4.5.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieux gélosés (MRS et M17) en tenant compte des critères suivants : la taille, la forme, et la couleur des colonies (Guiraud, 2003).

##### I.4.5.2. Examen microscopique

Les colonies obtenues sur milieux gélosés MRS sont soumises à une coloration de Gram, afin de déterminer la forme des cellules (coques et bacilles), leur arrangement et leur Gram (Guiraud, 2003).

#### A. Coloration de Gram

##### A.1. Principe

Après la coloration, les bactéries Gram+ deviennent violettes alors que les bactéries Gram – apparaissent en rose. La répartition des Bactéries en Gram + ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. Ainsi que la coloration de Gram

reste une étape essentielle pour la détermination des souches. Elle permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles

## **A.2. Mode opératoire**

- Préparation du frottis :
- Nettoyer une lame à l'alcool.
- Déposer une goutte d'eau distillée sur la lame.
- Prélever une colonie à l'aide d'une anse de platine à partir des boîtes pétries.
- Frotter la pointe dans la goutte d'eau. Laisser sécher.
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

## **A.3. Coloration**

- Déposer quelques gouttes de violette de gentiane sur le frottis fixé et laisser agir 1 minute. Ce dernier colore les composants cellulaires.
- Jeter l'excès de colorant dans le bac.
- Réaliser deux bains de 30 secondes de Lugol.
- Jeter la solution dans le bac.
- Discoloration en faisant couler l'alcool sur la lame pendant 30 secondes.
- Interrompre la décoloration par un rinçage avec de l'eau distillée.
- Réaliser une coloration secondaire en appliquant le fuschine pendant 1 minute.
- Rincer avec de l'eau distillée.
- Sécher les lames avec la flamme jaune du bec bunsen.
- Observer au microscope en utilisant l'objectif(x40) ou bien l'objectif (x100) enajoutant une goutte d'huile d'immersion.

## **B. Caractérisation biochimique et physiologique**

### **B.1.Recherche de la catalase**

#### **B.1.1. Principe**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène, produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries, en H<sub>2</sub>O et ½ O<sub>2</sub> (**Ahmed et Irene, 2007**)

### B.1.2. Technique

- Déposer une goutte d'eau oxygène sur une lame
- Déposer à l'aide de l'anse platine une colonie isolée (ou plusieurs si petites colonies) de la souche à tester.
- Observer l'apparition des bulles. (Le dégagement de gaz se traduit par la formation des bulles d'air sous l'action de l'enzyme à tester).

## B.2. Recherche de l'oxydase

### B.2.1. Principe

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme: la phénylène diamine oxydase des bactéries. Cette enzyme est capable d'oxyder un reactive:

Le N- diméthyle paraphénylène diamine (**Guillaume, 2004**).

### B.2.2. Technique

- Placer un disque non imprégné sur une lame à l'aide d'une pince flambée
- Avec l'anse de platine prélever une colonie sur le disque
- La lecture après 30 secondes ;( Le changement de couleur indique le résultat positif, si le disque prend une couleur violette l'oxydase est positive, si le disque reste incolore l'oxydase est négative).

## B.3. Recherche de la B-galactosidase (ONPG)

### B.3.1. Principe

Il s'agit d'une recherche particulière de la dégradation du lactose, souvent encore appelée recherche de la B-galactosidase ou communément test ONPG (orthonitrophényl-B-D-galactopyranoside). Ce composé possède un radical B-galactosidique comme le lactose, il est incolore, une fois scindé par l'enzyme en question, il libère du galactose et de l'orthonitrophénol composé soluble jaunâtre.



### B.3.2. Technique

Les souches sont mises en suspension dans des tubes contenant quelques gouttes d'eau distillée stérile, un disque d'ONPG est mis dans la suspension. La coloration jaune traduit l'hydrolyse d'ONPG après incubation à 30°C pendant 24 à 48h (Guiraud, 2003).

### I.4.5.3. Lutte Biologique

#### A. Tests in vitro

Après l'obtention des souches, des délutions jusqu'à ( $10^{-3}$ ) sont réalisées. Ensuite le matériel végétal (fraises, dattes) a été coupé en morceaux et désinfecté par l'eau de javel (20%) pendant 3 min pour éliminer la flore saprophyte puis rincer trois fois dans de l'eau distillée stérile. Les tissus végétaux sont ensuite séchés sur du papier filtre stérile puis ont été enrobés dans les suspensions bactérienne pendant 30 min (en gardant des échantillons sans enrobage pour les utilisées comme un témoin négatif). Ces fragments ont ensuite été transférés dans des boites Pétri contenant du milieu de gélose dextrose de pomme de terre (PDA). Et incubées pendant 3 à 7 jours à 27°C



**Figure 03:** Représente les différents aliments enrobés dans la suspension bactérienne.

**B. Tests *in situ***

Nous avons utilisé des fraises en les plaçant dans des boites ; dans la première boite en mettant 3 fraises enrobées par la suspension bactérienne en parallèle en gardant d'autres dans une boite comme témoin négatif par suite nous avons suivies les variations pendant 7 jours.

**A)****B)**

**Figure 04:** Tests de bio-conservation *in situ*. **A:** fraises enrobées dans la suspension bactérienne; **B:** témoin négatif (non enrobées).

## **Chapitre II:**

# **RÉSULTATS & DISCUSSION**

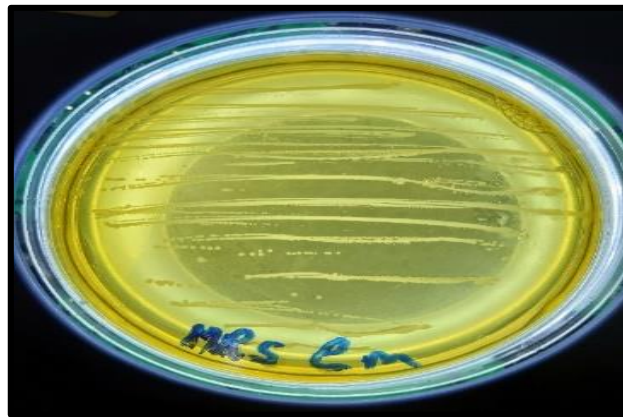
## **II. Résultats et discussions**

### **II.1. Indentification des souches lactiques**

#### **II.1.1. Étude morphologique**

On observe à l'œil nu les cultures obtenues sur les boîtes de pétri pour la caractérisation de forme, taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies. Les colonies sont apparues de petite taille variable, de forme arrondie ou lenticulaire, et avec une couleur blanchâtre (Figure 05).

La croissance des bactéries apparaît sous forme de trouble homogène fumeux dans le milieu MRS liquide, en remarquant que ce trouble est concentré au fond du tube en vue de la recherche des conditions anaérobiques de ces bactéries (Figure 06).



**Figure 05:** Aspect macroscopique des colonies purifiées de souches lactiques, isolées sur gélose MRS.



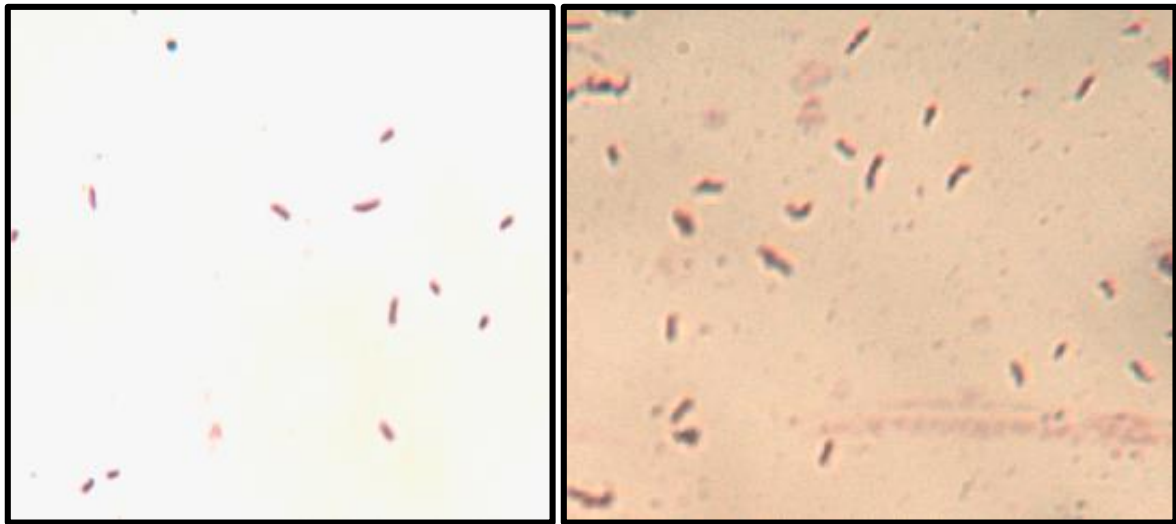
**Figure 06:** Aspect du trouble des bactéries dans bouillon MRS

### I.1.2. Identification microscopique

Après la réalisation de coloration de Gram à partir des colonies obtenues. L'observation microscopique a affirmé que les colonies isolés et purifiés sont à Gram positif, apparaissant sous forme des bacilles avec différents modes d'associations (isolés, diplobacilles ...).

La figure montre l'aspect microscopique après la coloration de Gram de souches de bactéries lactiques (grossissement X100).

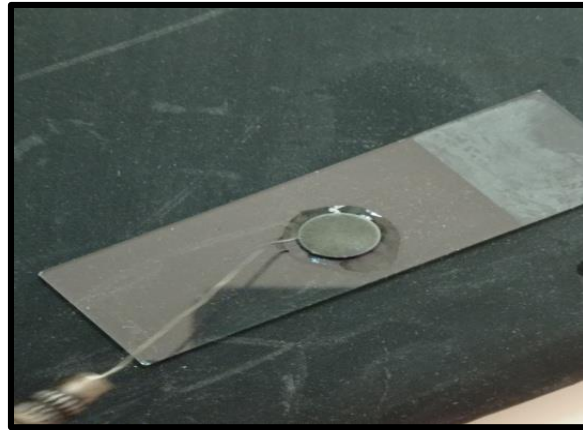
D'après la comparaison de nos résultats de ce test et celle (**Patrick, 2004**). Les résultats ont montré que, parmi les bacilles isolés et diplobacilles, la majorité appartenait au genre *Lactobacillus*.



**Figure07:** Aspect et mode d'association des souches lactiques après la coloration de Gram.

### II.1.3. Réaction de catalase

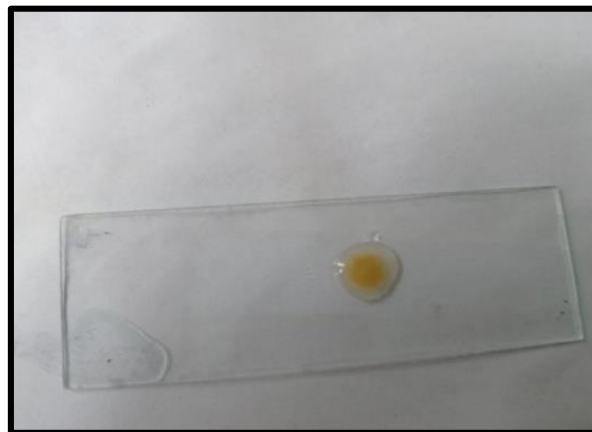
Dans le test de catalase on a remarqué l'absence de dégagement de gaz (O<sub>2</sub>) (aucune bulle d'air) ce qui nous confirme que ces isolats lactiques étaient catalase négative. Les résultats pour ce test sont montrés dans la Figure 08.



**Figure 08:** Résultat de test de la catalase pour identifier les bactéries lactiques.

#### II.1.4. Réaction d'oxydase

Dans le test d'oxydase la couleur de disque ne change pas vers le violet donc ces isolats étaient oxydase négative (Pas l'activité d'oxydase). Les résultats pour ce test sont montés ci-dessous dans la Figure 09.



**Figure 09:** Résultat de test d'oxydase pour l'identification des isolats lactiques.

### II.1.5. Recherche d'ONPG

Dans ce test on remarque que la couleur de disque ne vire pas' au jaune donc la souche est de test négatif (pas de dégradation de lactose). La Figure 10 montre les résultats de ce test.



Figure 10: Résultat du test d'ONPG.

## II.2. Recherche de l'activité antifongique des bactéries lactiques

### II.2.1. Tests *in vitro*

L'histogramme représente la variation du taux d'inhibition par rapport aux témoins, SM et les différentes concentrations ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ).

Selon l'analyse de cet histogramme le taux d'inhibition apparait très variable. Aucune inhibition n'a été observée pour le témoin (0%) par contre l'effet inhibiteur est très élevé pour la SM et la  $10^{-1}$  (100 %) chez tous les aliments, cependant l'effet est 100% pour les céréales et 25% pour les fraises et les dattes dans la suspension  $10^{-2}$  .et pour la suspension  $10^{-3}$  une inhibition totale pour le riz, et 20% pour le blé et une contamination totale des fruits.

**Tableau 03:** suivi d'activité antifongique *in vitro* à différentes périodes (1j/4j/7j).

		Riz	Blé	Dattes	Fraises.
1 <sup>er</sup> jour.					
4 <sup>ème</sup> jour.					
7 <sup>ème</sup> jour.					



### II.2.2. Tests *in situ*

D'après les résultats illustrés sur le Tableau 04, on remarque que la durée de conservation des fraises enrobées est plus longue que celles non enrobées. Au 3<sup>ème</sup> jour, on a observé un changement de couleur, texture ; et le jus des fraises est apparu avec les fraises témoins non traitées ; et au 7<sup>ème</sup> jour on a constaté une pourriture totale. Par contre, pour les fraises traitées aucun changement n'a été observé après le 3<sup>ème</sup> jour. Cependant, un changement de couleur seulement a été marqué chez les fraises enrobées par les LAB, qui ont minimisé la contamination et prolongé la durée de conservation et réduit le taux de croissance fongique.







D'après les résultats obtenus *in vitro* et *in situ* on a constaté que l'effet inhibiteur est très élevé à des fortes concentrations (SM, suspension  $10^{-1}$ ) par contre il se diminue à des faibles concentrations donc une corrélation positive existe entre le taux d'inhibition et la concentration de la suspension bactérienne.

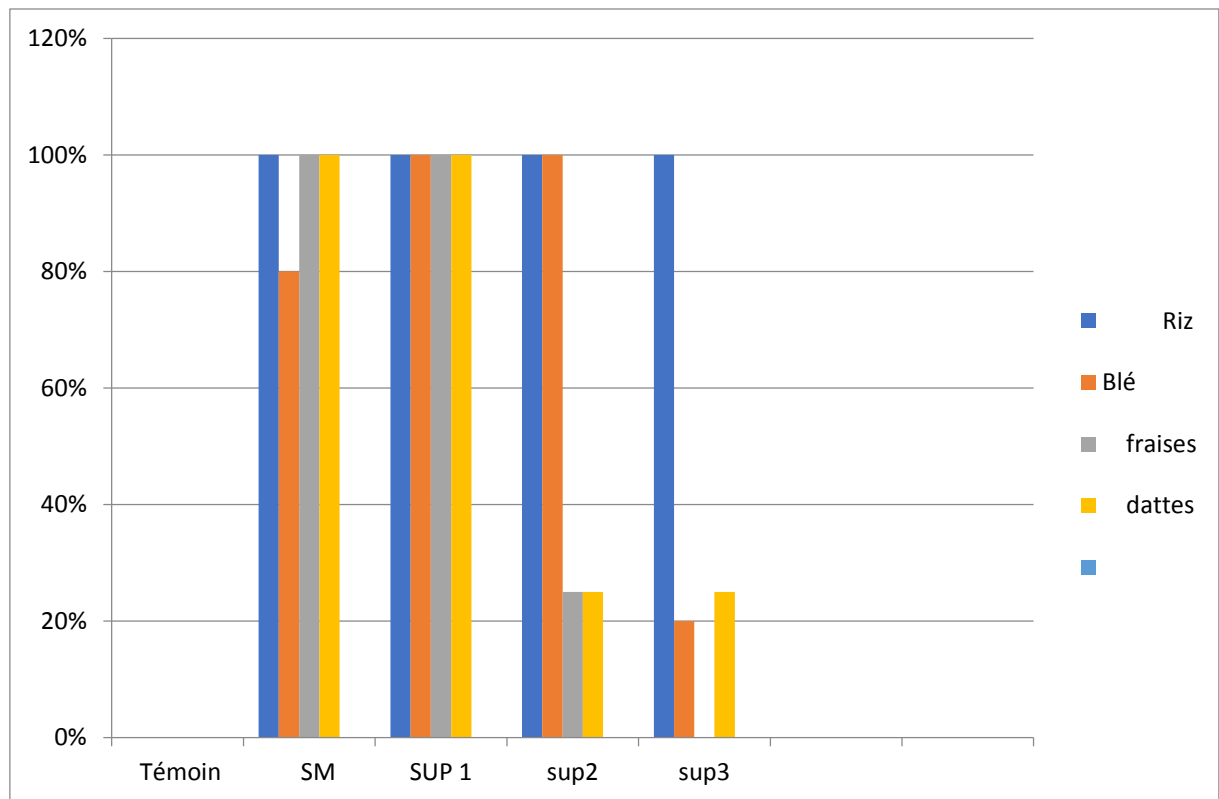
Enfin d'une manière générale, nous concluons que *Lactobacillus* spp a une activité contre plusieurs espèces de moisissures et levures d'altération des denrées alimentaires donc une activité antifongique a été détectée.

On a calculé le taux d'inhibition par la relation suivante :

$$\text{Taux d'inhibition} = \left[ \frac{(\text{Témoin} - \text{Test})}{\text{Témoin}} \right] \times 100 \text{ (Wang et al., 2002).}$$

**Tableau 04: Suivi d'activité antifongique *in situ* pendant différentes périodes (1j/4j/7j).**

Jours Fraises	1 <sup>er</sup> jour	3 <sup>ème</sup> jour	7 <sup>ème</sup> jour
Témoin			
Enrobées			



**Figure11:** Pourcentage d'inhibition des champignons in vitro.

### II.3. Discussion générale

Actuellement les champignons sont considérés comme agents responsable sur la contamination dans la quasi-totalité des denrées alimentaires. La lutte contre ces pathogènes, est un réel besoin dans le domaine agroalimentaire et le développement de nouvelles stratégies telles que la bio-préservation qui constitue une approche très **prometteuse** (Stile, 1996; Magnusson et Schnürer, 2001; Kim, 2005).

La bio-conservation consiste à ajouter à un aliment une culture simple, ou mixte de microorganisme, ou une molécule purifiée d'origine microbienne, en vue d'augmenter sa date limite de consommation (DLC) et de lutter contre les pathogènes (Stiles, 1996; Ross *et al.*, 2002). Ces microorganismes Pour être applicables dans les produits alimentaires, ils doivent être incapables de provoquer chez le consommateur des affections et de transférer à celui-ci la résistance aux antibiotiques (Strömet *et al.*, 2005).

Parmi ces microorganismes les LAB qui sont considérées comme non pathogènes et ne présentent pas de problème de sécurité sanitaire. À cet effet, les scientifiques sont toujours à la

recherche des alternatives naturelles comme le cas de l'emploi de ces bactéries ou de leurs métabolites.

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

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

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

Une année après, **Fernandez et al. (2017)** ont établi une étude dans le but de sélectionner une nouvelle culture protectrice et de valider son efficacité en tant qu'inhibitrice de la prolifération fongique dans le fromage de type cottage. L'activité antifongique a été testée contre quatre moisissures d'altération communément isolées du fromage. Il a été démontré que les souches de *Propionibacterium* et de *Lactobacillus* ont été les plus actives et que la souche *Lactobacillus rhamnosus*A238, utilisé seul ou en combinaison avec *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*A026 est le meilleur candidat bio-conservateur du fromage frais.

**Ouidiret et al. (2019)** ont testé l'activité antifongique des différents LAB et leur efficacité en tant que cultures bio-protectrices utilisées dans les produits laitiers et les produits de

boulangerie. L'activité antifongique des 30 isolats appartenait au genre *Lactobacillus* et *Leuconostoc* dont 17 *Lactobacillus paracasei*, 2 *Lactobacillus plantarum* et 11 *leuconostocmesenteroides* a été testée *in vitro* sur milieu MRS puis sur 2 modèles : hydrolysats de la farine de blé (WFH) (produit imitant les produits de boulangerie) et le yaourt miniaturisé (produit imitant les produits laitiers) contre respectivement (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Paecilomycesformosus*) et (*M. ramosus*, *Penicillium commune*, *Yarrowialipolytica*).

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

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

Dans la même approche nous avons affirmé dans notre étude qu'une activité antifongique a été détectée par les *Lactobacillus* spp contre différents champignons d'altération des denrées alimentaires en vue de retarder et minimiser la croissance fongique et assurer une bioconservation. Cette activité a été déterminée par:

LAB produisent de nombreux métabolites antifongiques tels que les acides organiques, le diacétyle, les antimycotiques bioactifs, peptides, acides gras, acides carboxyliques, bactériocines, peroxyde d'hydrogène, lactones, alcools, CO<sub>2</sub> et la reutérine qui ont la capacité d'inhiber la croissance fongique (**Crowley *et al.*, 2013b**). Elles peuvent aussi dégrader les mycotoxines telles que ; les ochratoxines, les aflatoxines et les toxines de *Fusarium* (**Sadiq *et al.*, 2019**).

Les principaux métabolites des LAB qui affectent considérablement les champignons par l'inhibition de la croissance mycélienne sont les acides organiques. L'acide lactique est le métabolite principal des BL causant la réduction du pH qui inhibe beaucoup de microorganismes (**Schnürer et Magnusson, 2005**). La forme non dissociée et plus hydrophobe de l'acide se répand au-dessus de la membrane des cellules et se dissocie à l'intérieur de la cellule, libérant les ions H<sup>+</sup> qui acidifient le cytoplasme (**Piard et Desmazeaud, 1991**). En plus

de l'effet du pH, l'acide non dissocié fait chuter le gradient électrochimique de proton, entraînant la bactériolyse et finalement la mort des bactéries sensibles.

# **Conclusion**

La contamination des aliments par des germes pathogènes est un problème majeur pour le consommateur surtout dans la période estivale où les intoxications d'origine alimentaires apparaissent ainsi que l'altération des denrées alimentaires. Pour lutter contre ces germes pathogènes un certain nombre d'auxiliaires technologiques sont utilisés dans le secteur des industries agroalimentaires parmi lesquels les bactéries lactiques qui peuvent accroître la durée de conservation des aliments par la production naturelle de composé antimicrobiens tels des acides organiques, du peroxyde d'hydrogène, et des bactériocines.

Dans ce but nous avons réalisé notre étude qui démontre que le lait cru de chèvre pouvait être une bonne source d'isolement des souches des LAB qui peuvent être utilisées comme culture bio-protectrices dans plusieurs types d'aliments ayant la capacité d'inhiber la croissance fongique et minimise leurs contaminations.

Comme perspective, on peut dire qu'il nous reste à:

- S'intéresser à comprendre ce qui inhibe l'activité probiotique de la bactérie lactique.
- Comprendre le mécanisme d'action de *Lactobacillus* sur les mycotoxines.
- Etudier plusieurs souches lactiques qui assurent la bio-conservation des aliments.
- Réaliser une identification moléculaire de la souche lactique.



**RÉFÉRENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

**A**

**Ahmed Frais Mohd Adnan. Irene K.P. Tan,2007.** Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresourcetechnology.*, 98 :1380-1385

**B**

**Bulgasem Y. Bulgasem, Mohd Nizam Lani, Zaiton Hassan, Wan Mohtar Wan Yusoff & Sumaya G. Fnaish. (2016).** Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Natural Honey against Pathogenic Candida Species. *Mycobiology* 44, 302-309. DOI: 10.5941/MYCO.2016.44.4.302

**Brahimi, Kihel Mabrouk, Emmanuel Coton, Jérôme Mounier. (2019).** Selection of Algerian lactic acid bacteria for use as antifungal bioprotective cultures and application in dairy and bakery products. *Food Microbiology*, p160-170

**C**

**Crowley S., Mahony J., & van Sinderen. (2013).** Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, P33(2), 93–109

**D**

**Dalié D.K. D, Deschamps A.M, Richard-Forget F., 2010b,** Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review, *Food Control*, 21, 370-380.

**Djossou O, Perraud-Gaime I, Lakhalmirleau F, Rodriguez-Serrano G, Karou G, Niamke S, Ouzari I, Boudabous A, Roussos S., 2011,** Robusta coffee beans post harvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. As potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*, *Anaerobe*, 17, 267-272

## F

**Fernandez, B., Vimont, A., Foucault, E.D., Daga, M., Arora, G. et Fliss, I. (2017)** .Antifungal activity of lactic and propionic acid bacteria and their potential as protective culture in cottage cheese. *Food Control*, 350-356 for a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* CNRZ 481. *Neth. Milk Dairy J.* 44: 143-158.

**Fnaish. (2016).** Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Natural Honey against Pathogenic

## G

**Gould G.W. 2000.** Préservation: Past présent and future. *Bertich Médical Bulletin.* 56: 84-96.

**Guillaume P.Y. (2004).** La microbiologie: les tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques, (en ligne). Lyon, France. Disponible sur:

**GUIRAUD J.P., 2003.** Microbiologie Alimentaire. *Tec & Doc, Dunod.* Paris. 90-292.

**Guiraud JP. (2012).** Microbiologie Alimentaire, édition DUNOD, Paris, France, p 92-139-

**Guo, J., Brid Brosnan, Ambrose Furey, Elke K. Arendt, Pdraigin Murphy et Aidan Coffey. (2012).** Antifungal activity of *Lactobacillus* against *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* and *Epidermophyton floccosum*, *Bioengineered*, 3:2, 104-113.

## K

**Klaenhammer T.R. (1988).** Bacteriocin of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70: 337-349.

## M

- Magnusson J, Schnürer J., 2001,** *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* Strain Si3 Produces a Broad-Spectrum Proteinaceous Antifungal Compound, *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 1-5.
- Matevosyan L., Bazukyan I. et Trchounian A. 2019.** Antifungal and antibacterial effects of newly created lactic acid bacteria associations depending on cultivation media and duration of cultivation. *BioMed Central Microbiology*.19: 102. 6-8.
- Matilla-Sandholm T., Mättö J., et Saarela M. (1999).** LAB with health claim interactions and interference with gastrointestinal flora. *Int. Dairy. J.*, 9: 25–35

## N

- Niamke S, Ouzari I, Boudabous A, Roussos S., 2011,** Robusta coffee beans post harvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. As potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*, *Anaerobe*, 17, 26

## O

- Ouiddir, M., Guessas Bettache, Marcia Leyva Salas, Audrey Pawtowski, Christelle Donot, Samira Brahim, Kihel Mabrouk, Emmanuel Coton, Jérôme Mounier. (2019).** Selection of Algerian lactic acid bacteria for use as antifungal bioprotective cultures and application in dairy and bakery products. *Food Microbiology*, p160-170

## P

- Piard J.C, Desmazeaud M. (1991).** Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 1. Oxygen metabolites and catabolism end-products. *Le Lait*. 71(5), 525-541.

## R

**Ross R.P, Morgan S, Hill C., 2002,** Preservation and fermentation: past, present and future, *International Journal of Food Microbiology*, 79, 3-16.

## S

**Sadiq, F. A., Yan, B., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H. et Chen, W. (2019).** Lactic Acid Bacteria as Antifungal and Anti-Mycotoxigenic Agents. *Institute of Food Technologists*, p1541-4337.

**Schnürer, J., et Magnusson, J., 2005.** Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Food*

**Siedler S., Balti R. et Neves A.R. 2019.** Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Current Opinion in Biotechnology*. 56 : 138-146.

**Singh V.P. 2018.** Recent approaches in food bio-preservation: a review. *Open Veterinary Journal*. 8(1) :104

**Stiles M. E. 1996.** Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 70 : 331–345

**Stiles M.E., 1996,** Biopreservation by lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 331-345.

**Ström K., 2005,** Fungal inhibitory lactic acid bacteria, Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala

## W

**Wang S.L, Hsiao W.J, Chang W.T. (2002).** Purification and characterization of an antimicrobial chitinase extracellularly produced by *Monascus purpureus* CCR31499 in a shrimp and crab shell powder medium. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2002, pp. 2249–2255. DOI: 10.1021/jf011076x.

**Sites internet :**

[http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests\\_microbiologie2.htm](http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm)

## Résumé:

La bio-préservation des aliments repose sur l'utilisation de micro-organismes et de leurs métabolites pour retarder ou inhiber la croissance de micro-organismes contaminants. L'activité antifongique des bactéries lactiques est l'une des propriétés biologiques requises. L'hypothèse d'empêcher la croissance d'organismes producteurs de mycotoxines par des bactéries lactiques moins agressives peut être une solution efficace et saine. En fait, ces souches peuvent produire une large gamme de métabolites antifongiques pour inhiber la croissance des moisissures. Elles ont la capacité d'adsorber, de décomposer ou de détoxifier les mycotoxines, ce qui en fait un bon substitut aux produits chimiques utilisés pour conserver les aliments.

Motd clé: bio-préservation, micro-organismes , activité antifongique, mycotoxines , bactéries lactiques.

## Abstract

The bio preservation of food relies on the use of microorganisms and their metabolites to retard or inhibit the growth of contaminating microorganisms. The antifungal activity of lactic acid bacteria is one of the biological properties required. The hypothesis of inhibiting the growth of mycotoxin-producing organisms by less aggressive lactic acid bacteria can be an effective and healthy solution. In fact, these strains can produce a wide range of antifungal metabolites to inhibit mold growth. They have the ability to adsorb, break down or detoxify mycotoxins, making them a good substitute for chemicals used to preserve food.

Keywords: biopreservation , microorganisms , antifungal activity , mycotoxins , lactic acid bacteria.

## ملخص

الحفظ البيولوجي للأغذية يستند على استخدام الكائنات الحية الدقيقة أو مستقبلاتها لتأخير أو منع التعفن. يعتبر النشاط المضاد للفطريات للبكتيريا اللبنية أحد الخصائص البيولوجية المرغوبة. فرضية منع نمو الكائنات الحية المنتجة للسموم الفطرية بواسطة البكتيريا اللبنية يمكن أن تكون حلاً فعالاً وصحياً. في الواقع يمكن أن تنتج هذه السلالات مجموعة واسعة من المستقبلات المضادة للفطريات لمنع نمو الفطريات. ولديها القدرة على امتصاص أو تحليل السموم الفطرية. مما يجعلها بدائل جيدة للمواد الكيميائية المستخدمة في الحفاظ على الأغذية.

الكلمات المفتاحية: الحفظ البيولوجي – الكائنات الحية الدقيقة – النشاط المضاد للفطريات – السموم الفطرية – البكتيريا اللبنية.

# **ANNEXES**



## Annexe n° 1

### Composition des milieux de culture:

#### 1. Gélose MRS:

Peptone bactériologique.....	10g.
Extrait de levure.....	05g.
Extrait de viande .....	10g.
Acétate de sodium.....	05g.
Phosphate dipotassique .....	02g.
Sulfate d'ammonium .....	02g.
Sulfate magnésium.....	0.2g
Sulfate de manganèse .....	0,1g.
Glucose .....	20g.
Agar.....	10 g
Tween .....	1g
PH final est de .....	7,5 à 7,8 g.

#### Bouillon MRS:

27.5 g dans 500 ml                      Ph=6.5 Autoclaves 1 heure à 121 C.

#### 2.PDA (Gélose dextrose à la pomme de terre):

Pomme de terre .....	200g.
Sucre blanc de cannes .....	20g.
Agar .....	20g.
L'eau distillée .....	200ml.

#### 3.ONPG:

Composition théorique en milligrammes par disque:

Nitro-2-Phényl-ED-Galactopyranoside.....	1,2
--	-----

**Annexe n° 2****Tableau 05:** Caractéristiques physico-chimiques du lait de la chèvre

<b>Composition</b>	<b>Chèvre</b>
Energie	600-750
Densité du lait entier à 20C	1,025-1,027
Point de congélation(C)	-0,55-0,583
pH	6,45-6,60
Acidité titrable	14-18
Tension superficielle du lait entier à 15C (cm)	52
Conductivité électrique à 25C (Siemens)	43-56.10 <sup>-4</sup>
Indice de réfraction	1,35-1,46
Viscosité du lait entier à 20C	1,8-1,9

### Annexe n° 3

**Tableau 06:** représente le taux de contamination des aliments

	Riz	Blé	Fraises	Dattes
Témoin	100%	100%	100%	100%
SM	0%	20%	0%	0%
Susp10 <sup>-1</sup>	0%	0%	0%	0%
Susp 10-2	0%	0%	75%	75%
Susp 10-3	0%	80%	100%	75%

**Tableau 07:** représente le taux d'inhibition des champignons par les métabolites des *Lactobacillus* spp.

	Riz	Blé	Fraises	Dattes
Témoin	0%	0%	0%	0%
SM	100%	80%	100%	100%
Susp 10 <sup>-1</sup>	100%	100%	100%	100%
Susp10 <sup>-2</sup>	100%	100%	25%	25%
Susp 10 <sup>-3</sup>	100%	20%	0%	25%