

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Ghardaïa



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

En : Science biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée.

Par :

- ❖ Hadjer HAMZA
- ❖ Roumisa HINANA

Thème

**Étude du potentiel biotechnologique des levures isolées
du lait de chamelle dans la région de Ghardaïa**

Soutenu publiquement, le 05 / 11 / 2020, devant un jury composé de :

- | | | | |
|---------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|---------------------|
| ➤ M^{me}. MAIDI Leila | Maitre-Assistant A | Univ. Ghardaïa | Présidente |
| ➤ Mr. IDER Sofiane | Maître-Assistant A | Univ. Ghardaïa | Encadrant |
| ➤ M^{me}. DAFRI Ahlame | Maître de conférences B. | Univ. Ghardaïa | Examinatrice |

Année universitaire : 2019-2020.

Remerciement

Au terme de ce travail, on tient à remercier Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadrant monsieur, IDER Sofiane pour la confiance qu'il nous a témoigné en acceptant d'encadrer ce travail et pour son aide précieux et ses conseils.

Nous remercions par ailleurs vivement les membres du jury, Mme DAFRI Ahlame Maître de conférence B et Mme MAIDI Leila, Maître-Assistant A de l'Université de Ghardaïa de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail et d'assister à la soutenance.

Notre sentiment les plus profonds et remerciements infinis à tous nos enseignants pour leurs patiences et servitudes surtout de département de biologie. Et tous les techniciens de laboratoires de S.N.V de l'université de Ghardaïa.

Merci également à nos chères camarades, Fatima, Safaa, Chahinez, Fella, Fariha, Wafaa, Nadjla, pour leur bonne humeur et leur gentillesse.

Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

Dédicace



Je remercie, tout d'abord Allah le tout, puissant de m'avoir aidé à achever ce modeste travail. Je dédie affectueusement ce mémoire,

À mes chères mère et père,

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitte jamais assez. Puisse Dieu, vous accordez santé, bonheur et longue vie.

À ma grande mère, et à la mémoire de mes grands-pères et ma grande mère.

À mes chères sœurs et frères,

Khadidja, Nawal, Marwa, Safa, Taha, Othman et Youssef mon petit frère que j'adore. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, vous protégez et vous gardez.

À petit enfant de ma sœur, Siradje, que Dieu le protège.

À mon binôme Roumisa,

Qui a une place spéciale dans mon cœur, une amie qui a partagé beaucoup de choses avec moi et qui m'a toujours soutenu.

À ma chère amie Fatima,

Qui m'a soutenu dans les moments difficiles et m'a accompagné sur mon chemin vers mes études universitaires, que Dieu la protège.

À tous les membres de ma grande famille, et à tous mes fidèles amies,

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

Hadjer

Dédicace



Je remercie Allah le tout puissant qui m'accompagne et m'aide toujours dans ma vie et de m'avoir accordé santé, volonté pour réaliser ce travail, Tout d'abord, Je dédie ce modeste travail

À mon très cher père, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, rien de ce que je dirai ne suffira pour lui exprimer ma gratitude alors Merci beaucoup papa.

À ma très chère mère, qui m'a permis de devenir ce que je suis aujourd'hui, à la lumière de mes jours qui me guide mes routes et qui m'emmène aux chemins de la réussite, à la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, Je t'adore maman.

À ma chère sœur, Zineb tu es mon idole dans la vie, la moitié de mon sourire et de ma vie, Je te remercie pour ton amour et ton soutien moral à toute ma vie.

À mes chères frères, Mohamed Sadek, Mouad Abd al-Monim vous êtes la parure de ma vie et mon soutien dans ce monde Je vous souhaite un bonheur permanent Que Dieu vous protège de tout mal.

À l'épouse de mon frère une autre sœur Nour el Houda, À l'épouse de mon sœur Mohamed Lamine.

Aux plus jeunes de la famille, Ikram Alabrar, Ahmed Louay Abdelmoize.

À ma grande mère et mon grand-père, à tous mes oncles, tantes, cousins, cousines et tous les membres de la famille.

À mon binôme Hadjer. Qui a une place spéciale dans mon cœur, une amie qui a partagé beaucoup de choses avec moi et qui m'a toujours soutenu.

À ma chère amie Fatima, Qui m'a soutenu dans les moments difficiles et m'a accompagné sur mon chemin vers mes études universitaires, que Dieu la protège. À tous mes amis.

Roumisa

Résumé

L'objectif principal de cette étude est l'isolement des levures à partir des échantillons du lait de chamelle collectés dans les régions (Souarg, Metlili El-Jadida et Sabsabe) situés à Ghardaïa, puis d'étudier leur aptitude biotechnologique. L'analyse de la microflore fongique de lait de chamelle de nos échantillons a révélé qu'il contient en moyenne 6.9×10^7 UFC/ml de levures. L'identification préliminaire des isolats de cette microflore était basée particulièrement sur l'étude macroscopique, microscopique et biochimique par l'étude de leur profil d'assimilation des carbohydrates en utilisant le kit API 20C AUX spécifiques aux levures, cela nous a fournis une identification excellente à l'échelle de l'espèce, représenté principalement par une seule espèce, celle de *Candida kefyr*. Cette dernière n'était pas hémolytique, ce qui lui confère une innocuité en cas de consommation humaine.

En ce qui concerne le potentiel biotechnologique de notre souche *candida kefyr*, cette partie d'étude a été interrompue à cause d'une pandémie d'un coronavirus dénommé COVID-19, ce qui a fait l'accès aux laboratoires interdit pour assurer le confinement. Pour cela, nous avons décidé de poursuivre ce travail théoriquement.

Selon la littérature, *C. kefyr* est présente dans de nombreux produits laitiers fermentés, comme le Kefyr et les fromages à pâte persillée, cela est probablement due à ses capacités enzymatiques protéolytiques et lipolytiques. En outre *C. kefyr* à une activité antimicrobienne contre *Escherichia coli*. Par la suite, nous pouvons conclure que la souche de *C. kefyr* isolée à partir du lait de chamelle fermenté peut présenter un intérêt technologique car elle peut être utilisée dans la transformation du lait de chamelle.

Les mots clés : lait, chamelle, *Candida kefyr*, biotechnologique, protéolyse et lipolyse, activité antimicrobienne.

Abstract

The current study aims at investigating the isolation of camel milk's yeasts by analyzing samples collected from Ghardaïa exactly from Swareg, Metlili Al Jadida and Sebseb. The study shed lights also on its biotechnological ability. The analysis of the fungal microflora present in camel milk showed that it contains an average of 6.9×10^7 CFU / ml of yeast.

The preliminary identification of the isolate in particular relied on the microscopic, macroscopic and biochemical study by diagnosing their carbohydrate assimilation profile using the API 20C AUX kit specific to yeasts. This in fact provided us an excellent identification at the species level which is mainly represented by one species *candida kefyr*. This latter was not hemolytic which makes it harmless in human consumption.

Regarding the biotechnological potential of *C.kefyr* strain, this part of the study was discontinued due to the Coronavirus epidemy called COVID-19. This made access to the laboratories prohibited to ensure the quarantine, so we decided to continue theoretically this work.

According to the literature, *C.kefyr* is found, in many fermented dairy products, such as kefir and blue cheese, possibly due to its proteolytic and lipolytic enzymatic aptitudes. Moreover, *C.kefyr* has antimicrobial activity against the bacteria *Escherichia coli*. Then we can conclude that *C.kefyr* isolated from fermented camel milk may be technological interest because it can be used in converting camel milk.

Key Words: Milk, Camel, *Candida kefyr*, Biotechnology, Proteolysis and Lipolysis, Antimicrobial Activity.

الملخص

الهدف الرئيسي لهذه الدراسة هو عزل الخميرة من عينات حليب الإبل التي جمعت في المناطق (سوارق، متليلي الجديدة، سبب) التي تقع في غرداية، ثم دراسة قدرتها التكنولوجية الحيوية. أظهر تحليل الكائنات الدقيقة الفطرية الموجودة في حليب الإبل في عيناتنا أنه يحتوي في المتوسط على $10^7 \times 6.9$ وحدة تشكيل مجموعة الكائنات الدقيقة /مل من الخميرة.

اعتمد التحديد الأولي لعزلات هذه الكائنات الدقيقة بشكل خاص على الدراسة العيانية والمجهريّة والكيميائية الحيوية من خلال دراسة حصيلة هضم الكربوهيدرات باستخدام مجموعة (API 20C AUX) الخاصة بالخمائر، وقد زدنا ذلك بتعريف ممتاز على مستوى الأنواع، ويمثله بشكل رئيسي نوع واحد، إنها *Candida kefyr*، هذه الأخيرة لم تكن انحلالية في الدم، مما يجعلها غير ضارة في الاستهلاك البشري.

فيما يتعلق بالإمكانات التكنولوجية الحيوية لسلالة *C.kefyr*، توقف هذا الجزء من الدراسة بسبب وباء فيروس كورونا المسمى كوفيد-19. مما جعل الوصول إلى المختبرات محظورًا لضمان تطبيق الحجر الصحي، لذا قررنا مواصلة العمل نظريًا.

وفقًا للأدبيات، توجد *C.kefyr*، في العديد من منتجات الألبان المخمرة، مثل الكفير والجبن الأزرق، وربما يرجع ذلك إلى قدراته الإنزيمية المحللة للبروتين والدهون، علاوة على ذلك، فإن *C.kefyr* لها نشاط مضاد للمكروبات ضد البكتيريا *Escherichia coli*. بعد ذلك يمكننا أن نستنتج أن *C.kefyr* المعزولة من حليب الإبل المخمر قد تكون ذات أهمية تكنولوجية حيث يمكن استخدامها في تحويل حليب الإبل.

الكلمات المفتاحية: الحليب، الإبل، *Candida kefyr*، التكنولوجيا الحيوية، تحلل البروتينات وتحلل الدهون، النشاط المضاد للميكروبات.

Liste des figures

Figure 1: L'effectif mondial des dromadaires s'élève à environ 34 millions de têtes en 2017, dont plus de 30 millions sont recensées en Afrique et 4 millions en Asie.	4
Figure 2 : Répartition géographique des têtes camelins dans quelque wilaya d'Algérie.	4
Figure 3 : Evolution de l'effectif camelin (en nombres de têtes)..	5
Figure 4 : Répartition géographique des races camelines algériennes.	6
Figure 5 : la production de lait de chamelle à l'échelle mondiale à partir du début des années 1961	7
Figure 6: La production laitière nationale selon le type d'animal laitier	7
Figure 7: Présentation d'une cellule de levure	22
Figure 8: Filamentation des levures. A : pseudomycélium ; B : vrai mycélium ; C : vrai mycélium cloisonné.	23
Figure 9: Schéma d'interprétation de la reproduction asexuée d'une levure	24
Figure 10: Schéma d'interprétation de la reproduction sexuée d'une levure	24
Figure 11: La phylogénie fongique basée sur 42 génomes complets. Ascomycota, Basidiomycota et Zygomycota constituent trois des quatre phylums fongiques et sont présents comme des clades monophylétiques	31
Figure 12: Populations camelines choisies pour l'échantillonnage du lait cru.	41
Figure 13: schéma explicative montre le processus de la dilution et l'ensemencement. ...	44
Figure 14: Résulta de test de sporulation de la souche sur le milieu RAT (G x 100).	55
Figure 15: Résultats de l'identification biochimique de la levure par utilisation de la galerie API 20C AUX.	56
Figure 16: Résultat de test hémolytique de la souche S.L.E3.I. L'absence de l'hémolyse.	58

Liste des tableaux

Tableau 1 : compositions moyennes du lait de différentes espèces	8
Tableau 2 : Les concentrations moyennes des vitamines dans le lait de chamelle, de la vache, et de la femme (mg /kg)	10
Tableau 3 : Les concentrations moyennes des minéraux dans le lait de chamelle de la vache, et de la femme (mg /100g).....	11
Tableau 4 : intervalle de concentration en LF de laits à différents stades de la lactation des mammifères (en mg par ml)	13
Tableau 5: Moyenne des diverses flores (ufc mL ⁻¹) dénombrées dans du lait de chamelle cru	17
Tableau 6: Forme parfaite (téléomorphe) et imparfaite (anamorphe) de quelques levures	30
Tableau 7: Quelques enzymes et protéines recombinantes synthétisées par des levures utilisées en thérapie.	35
Tableau 8: Quelques enzymes industrielles produites par les levures	35
Tableau 9: Caractéristiques des échantillons prélevés.	42
Tableau 10: résultats des analyses physicochimiques des échantillons du lait de chamelle.....	51
Tableau 11: Résultats de l'isolement des levures à partir des échantillons du lait de chamelle.....	52
Tableau 12: les caractères cultureux d'isolat de levure sur milieu YEPGA.	54
Tableau 13: La morphologie cellulaire et mode de reproduction végétative des isolats de levures à (G x 100).	54
Tableau 14: Résultats de l'identification biochimique de levure.	56
Tableau 15: Résultats des tests de la mise en évidence des activités protéolytiques et lipolytiques chez des souches de levure testées	59

Listes d'abréviation

- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **Ag** : Argent.
- **Al** : Aluminium.
- **ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique.
- **ARN** : Acide ribonucléique.
- **AW** : Activity Water.
- **B** : bifidobacterume.
- **Br** : Brome.
- **Ca** : calcium.
- **CO₂** : Dioxyde de carbone.
- **Cr** : Chrome.
- **Cu** : Cuivre.
- **FAO** : Organisation des nations unies pour l'alimentation et agriculture.
- **Fe** : fer.
- **Fe⁺³** : fer ferrique.
- **g**: gramme.
- **GRAS**: Generally Recognised As Safe.
- **Ig**: immunoglobulines.
- **ITS**: Internal transcribed spacer.
- **K**: potassium.
- **Kg**: kilogramme.
- **L**: litre.
- **LAB** : Bactéries lactique.
- **LB** : lactobacillus.
- **Lf** : lactoferrine.
- **LPS** : lactoperoxydase enzyme system.
- **MADR** : Ministère d'Agriculture et du Développement Rurale.
- **Mg** : magnésium.
- **mg** : milligramme.
- **MH** : Mueller-Hinton.
- **ml** : millilitre.
- **Mn** : Manganèse.
- **mph**: méga pascal.
- **Na**: sodium.
- **NaCl**: Chlorure de sodium.
- **NAGase** : N-acétyl- β -glucosaminidase.
- **P**: Phosphore.
- **pH**: Potentiel hydrogène.
- **Pb**: Plomb.
- **RAT**: Riz, Agar et Tween.
- **Sn**: Stannum.
- **Sr** : Strontium.
- **Ssp** : Sous sous espèce.
- **TI** : Thalium.
- **TSA** : Gélose Trypticase soja.
- **UFC** : Unité Formant Colonie.
- **UI** : unité internationale.
- **YEPGA**: Yeast Extract Peptone Glucose Agar.
- **YNB**: Yeast Nitrogen Base.
- **Zn**: zinc.
- **α -CN** : Caséine α .
- **β -CN** : Caséine β .
- **°C** : Degré Celsius.
- **°D** : Acidité dornic.

▪ μm : micromètre.

▪ μl : microlitre.

Table des matières

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Partie I : Revue bibliographique

I. Aperçu sur le dromadaire.....	3
1. L'origine.....	3
2. Effectif et répartition géographique du dromadaire.....	3
2.1. Dans le monde.....	3
2.2. En Algérie.....	4
3. Populations camelines Algériennes.....	5
4. Production laitière.....	6
4.1. Dans le monde.....	6
4.2. En Algérie.....	7
II. Le lait camelin.....	8
1. Généralité sur le lait de chamelle.....	8
2. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques.....	8
3. Composition biochimique.....	8
3.1. Eau.....	9
3.2 Matière grasse.....	9
3.3. Vitamines.....	9
3.4. Les minéraux.....	10
3.5. Les protéines.....	11
3.6. Glucides.....	12
4. Propriétés thérapeutiques et médicales.....	12
4.1. Activités antimicrobiennes et immunologiques.....	12
4.1.1. Les factures antimicrobiennes.....	12
4.2. Propriétés antidiabétique.....	14
4.3. Actions anticancéreuse et anti-tumorale.....	14
4.4. Traitement pour les allergies.....	15
4.5. Effet cosmétique et anti-âge.....	15
4.6. Traitement pour l'autisme.....	15
5. Qualités microbiologiques du lait camelin.....	16
5.1. Microflore de lait.....	16
5.1.1. Les flores saprophytes.....	17
5.1.2. Les bactéries pathogènes.....	20
III. Les levures.....	22
1. Généralité.....	22
2. Morphologie et Structure.....	22

3. Reproduction.....	23
3.1. La reproduction asexuée.....	23
3.2. La reproduction sexuée.....	24
4. Physiologie et croissance des levures.....	25
4.1. Besoins nutritionnels.....	25
4.2. Besoins physicochimiques.....	27
5. Métabolisme.....	28
5.1 Métabolisme oxydatif.....	28
5.2. Métabolisme fermentaire.....	28
6. Classification des levures.....	29
7. Méthodes d'identification des levures.....	32
7.1. Méthodes phénotypiques.....	32
7.2. Méthodes génotypiques.....	32
8. Applications des levures en biotechnologie.....	33
8.1. Utilisation des levures pour la production des boissons alcoolisées.....	33
8.2. Utilisation des levures pour la panification.....	33
8.3. Affinage des fromages.....	34
8.4. Utilisation des levures pour la production d'alcools industriels.....	34
8.5. Production d'enzymes et de protéines recombinantes.....	34
9. Les levures en tant que probiotiques.....	36
9. 1. Activité hémolytique des levures.....	37
9.2. Activité antioxydante des levures.....	37
10. Activité antimicrobienne des levures.....	38
10.1. Généralités.....	38
10.2. Applications des levures killer.....	40

Partie II : Matériel et méthodes

1.Échantillonnage.....	41
2. Analyse physicochimique.....	42
2.1. La mesure du pH.....	42
2.2. La mesure de l'acidité titrable.....	43
3. Analyses microbiologiques.....	43
3.1. Fermentation de lait.....	43
3.2. Dénombrement des levures.....	44
3.3. Isolement des levures.....	45
3.4. Purification des levures isolées.....	46
3.5. La conservation des isolats.....	46
3.5.1. Conservation à court terme.....	46
4. Identification des levures selon les méthodes conventionnelles.....	46

4.1. Étude des caractères cultureux (macroscopiques).....	46
4.2. Étude des caractères morphologiques (microscopiques).....	46
4.2.1. Test de filamentation.....	47
4.2.2. Test de sporulation.....	47
4.3. Etudes des caractères biochimiques.....	47
5. Les caractéristiques biotechnologiques.....	48
5.1. Activité hémolytique.....	48
5.2. Mise en évidence des activités enzymatiques.....	48
5.2.1. Détermination de l'activité protéolytique.....	48
5.2.2. Détermination de l'activité lipolytique.....	49
5.3. Activité antimicrobienne des levures.....	49

Partie III : Résultats et discussion

1. Analyse physicochimique.....	51
2. Dénombrement et isolement des levures.....	52
3. Etude des caractères cultureux.....	53
3.1. Caractères cultureux sur milieu solide (macroscopique).....	53
3.2. Caractères morphologiques (microscopique).....	54
3.2.1. Morphologie cellulaire et mode de reproduction végétative.....	54
3.2.2. Test de filamentation.....	55
3.2.3. Test de sporulation.....	55
3.3. Etudes des caractères biochimiques.....	55
4. Les caractéristiques biotechnologiques.....	58
4.1. Activité hémolytique.....	58
4.2. Activités enzymatiques chez les levures.....	58
4.2.1. Sélection des souches protéolytiques.....	59
4.2.2. Sélection des souches lipolytiques.....	59
4.3. Activité antimicrobienne des levures.....	60
Conclusion et perspectives.....	62
Références bibliographiques	64
Annexe.....	82

Introduction générale

Introduction générale

La consommation de lait du dromadaire (*Camelus dromedarius*) est très populaire dans les pays africains et arabes, notamment dans les zones sahariennes en Algérie en raison de son caractère médicinal et propriétés diététique (Amrouche et *al.*, 2020). Il est reconnu depuis longtemps pour fournir un traitement potentiel pour une série de maladies telles que l'hydropisie, la jaunisse, les antihypertenseurs, l'asthme et la leishmaniose ou le kala-azar (Kula, 2016). Le lait de chamelle a la propriété de pouvoir être conservé plus longtemps que le lait de vache lorsqu'il est réfrigéré et même avec la chaleur du désert, il ne s'altère pas très vite (Hassan et *al.*, 2008).

De nos jours, les besoins en lait sont de plus en plus importants vu que ce produit peut être consommé à l'état frais mais aussi sous forme pasteurisé. Sa richesse en éléments nutritifs lui permet d'héberger une grande variété de microorganismes. Ces derniers ont un impact considérable sur le processus de la coagulation et la fermentation du lait cru de chamelle (Ider et *al.*, 2019), La transformation de lait en produits dérivés laitier nécessite, une bonne connaissance de sa microflore lactique (karam et karam, 2006), la microflore levurienne du lait de chamelle restent peu étudiée dans la littérature (Zamouche et Nedjar, 2018).

En effet, les levures sont des composants importants de la microflore de nombreux produits alimentaires. Ces micro-organismes sont généralement détectés en grand nombre dans les produits laitiers (lait fermenté, fromages avec tous ces types, ...etc) reflétant une bonne adaptation à un substrat riche en protéines, lipides, sucres et acides organiques. Cette large distribution est la conséquence de la production des activités enzymatiques protéolytiques et lipolytiques extracellulaires par les souches de levures ainsi que l'assimilation et/ou la fermentation du lactose (Corbaci et *al.*, 2012).

De nombreuse et diverses activités biologiques en font des levures prometteuses pour un large éventail d'application non limitées au secteur alimentaire (Rima et *al.*, 2012). Les levures probiotiques potentielles se trouvent souvent dans des aliments ou des boissons fermentés et tel que le kéfir qui est l'une des sources possédantes ce type de souche (Azharat et Munaim, 2019). En plus leurs activités antimicrobiennes envers les bactéries et les champignons indésirables, en utilisant divers mécanismes antagonistes (Rima et *al.*, 2012). L'innocuité des levures leur confère d'être sélectionner en tant que souche probiotique (Ragavan et Das, 2017).

Les chercheurs scientifiques s'intéressent à l'étude des propriétés biotechnologiques des bactéries d'origine laitière, et levures laitières moins décrit par les littératures, pour cela nous avons choisi le lait de chamelle comme source d'isolement des levures alimentaire.

Cette étude a été entreprise pour acquérir des connaissances sur la biodiversité des levures présentes dans le lait de chamelle à Ghardaïa et comprend les éléments suivants

1. Isolement, dénombrement et identification des levures dans le lait de chamelle.
2. caractériser les propriétés biotechnologiques importantes, à la fois physiologiques, biochimiques, Enzymatiques, hémolytiques et antimicrobiennes.

Notre manuscrit est structuré en trois parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour de trois chapitres, le premier présente un aperçu sur le dromadaire et le deuxième présente les caractéristiques du lait camelin, les levures et leurs principales caractéristiques biotechnologiques sont détaillé dans le troisième chapitre.

La seconde partie du manuscrit présente les matériels et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail, l'étude de quelques paramètres physicochimiques, ainsi que l'étude des procédés d'identification des levures isolées à partir du lait de chamelle, et leurs propriétés biotechnologique. Les résultats obtenus au cours de cette étude sont ensuite exposés et discutés dans la troisième patrie.

Finalement, une conclusion générale permet de récapituler les principaux résultats de ce travail avec une présentation des principales perspectives envisagées pour la poursuite de cette thématique de recherche.

Revue
Bibliographique

I. Aperçu sur le dromadaire

1. L'origine

Le nom « dromadaire » dérive du terme grecque « dromos » (Ouajd et Kamel, 2009) qui signifie route ou chemin (Medjour, 2014). Le dromadaire ou "vaisseau du désert" vit dans les régions chaudes, arides et semi arides de la planète (Figure 1) (Bouallala et *al.*, 2011).

Le dromadaire appartient à l'embranchement des vertébrés, classe des mammifères ongulés. Il appartient à l'ordre des artiodactyles et à la famille des camélidés, la famille des camélidés comprend actuellement 3 genres le Genre *camelus*, il comporte trois espèces l'un à une bosse et deux l'autre à deux bosses (Patel et *al.*, 2016).

- Genre *camelus*

Camelus dromedarius (dromadaire).

Camelus bactrianus (chameau de Bactriane).

Camelus ferus (chameau sauvage de Tartarie).

- Genre *Lama*

Lama gamla (lama).

Lama guanicoe (guanicoe).

Lama pacos (alpaga ou alpaca).

- Genre *vicugna*

Vicugna vicugna (vigogne) (Samman, 1993).

2. Effectif et répartition géographique du dromadaire

2.1. Dans le monde

L'aire de répartition géographique du dromadaire, se situe aux niveaux des zones tropicales et subtropicales et s'étend des régions arides et semi-arides du nord de l'Afrique jusqu'au nord-ouest du continent asiatique (Rahli, 2015).

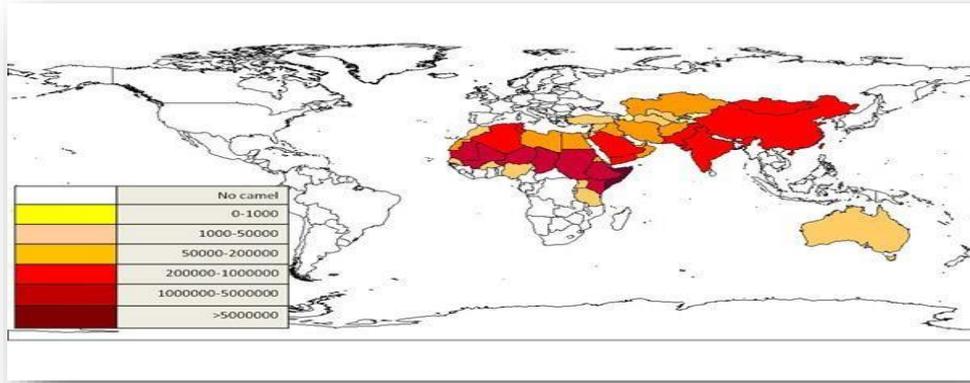


Figure 1: L'effectif mondial des dromadaires s'élève à environ 34 millions de têtes en 2017, dont plus de 30 millions sont recensées en Afrique et 4 millions en Asie (F.A.O, 2019).

2.2. En Algérie

Le dromadaire en Algérie n'est pas seulement un animal d'élevage destiné pour la production de viande, lait et autres produits, mais de surcroît au transport du bois de l'Erg vers les villes et son rôle culturel et sportif (Ouled belkhir, 2018). Les camelins sont réparties sur 17 wilayas dont 9 sahariennes et 8 Steppiques (Ben hamadouche et Nesnas, 2019).

Selon les statistique de MADRP en 2018, les grandes effectifs camelins en Algérie trouver dans les 3 wilayat de sud saharienne, Tamanrasset de 67189 têtes camelins, Tindouf de 62215 têtes enfin Adrar de 53629 têtes.

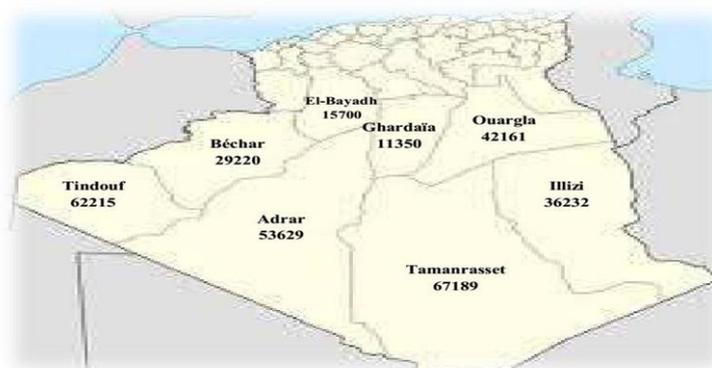


Figure 2 : Répartition géographique des têtes camelins dans quelque wilaya d'Algérie (statistique de MADR, 2018).

Durant la décennie 2005 à 2017, le cheptel camelin algérien a connu une croissance marquée, contrairement aux autres pays d’Afrique du Nord. En effet, la population cameline est passée de 286 670 têtes en 2005 à 381 882 têtes en 2017 (Figure3) (FAO, 2018).

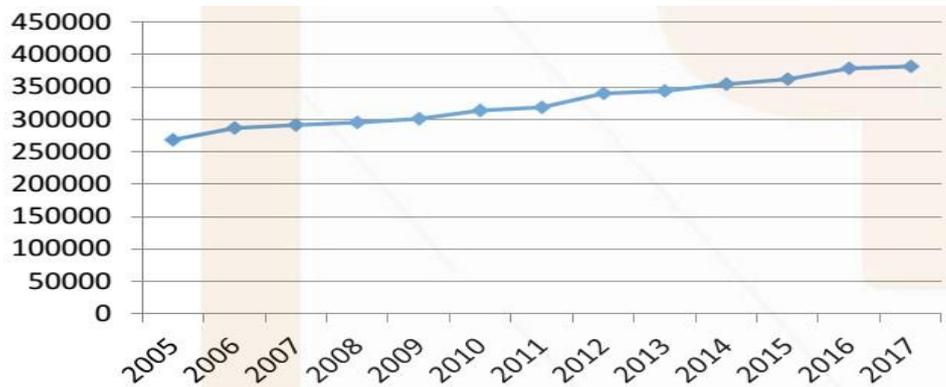


Figure 3 : Évolution de l’effectif camelin (en nombres de têtes). FAO stat (de 2005 à 2017).

3. Populations camelines Algériennes

Les différentes populations camelines rencontrées en Algérie se retrouvent dans les trois pays d’Afrique du Nord (Algérie, Maroc et Tunisie) ce sont des races de selle, de bât et de trait, Il s’agit des populations suivantes : Chaambi, Ouled Sidi Cheikh, Saharaoui, Ait Khebbach, Chameau de la steppe, Targui, Ajjer, Reguibi, Berberi et Chameau de l’Aftouh (Hamidi ,2015). Il s'agit des populations suivantes :

- ✓ Le Chaambi : Très bon pour le transport, moyen pour la selle. Sa répartition va du grand ERG Occidental au grand ERG Oriental. On le retrouve aussi dans le Metlili des Chaambas.
- ✓ L'Ouled Sidi Cheikh : C'est un animal de selle. On le trouve dans les hauts plateaux du grand ERG Occidental.
- ✓ Le Saharaoui : Est issu du croisement Chaambi et Ouled Sidi Cheikh. C'est un excellent méhari. Son territoire va du grand ERG Occidental au Centre du Sahara.
- ✓ L'Ait Khebbach : Est un animal de bât. On le trouve dans l'aire Sud-Ouest.
- ✓ Le Chameau de la Steppe : Il est utilisé pour le nomadisme rapproché. On le trouve aux limites Sud de la steppe.

- ✓ Le Targui ou race des Touaregs du Nord : Excellent Méhari, un animal de selle par excellence, souvent recherché au Sahara comme reproducteur. Réparti dans le Hoggar et le Sahara Central.
- ✓ L'Ajjer : Bon marcheur et porteur. Se trouve dans le Tassili d'Ajjer.
- ✓ Le Reguibi : Très bon méhari. Il est réparti dans le Sahara Occidental, le Sud Orannai (Béchar, Tindouf). Son berceau : Oum El Asse1 (Reguibet).
- ✓ Le Chameau de l'Aftouh : Utilisé comme animal de trait et de bât. On le trouve aussi dans la région des Reguibet (Tindouf, Bechar).(Ben aissa. 1989).

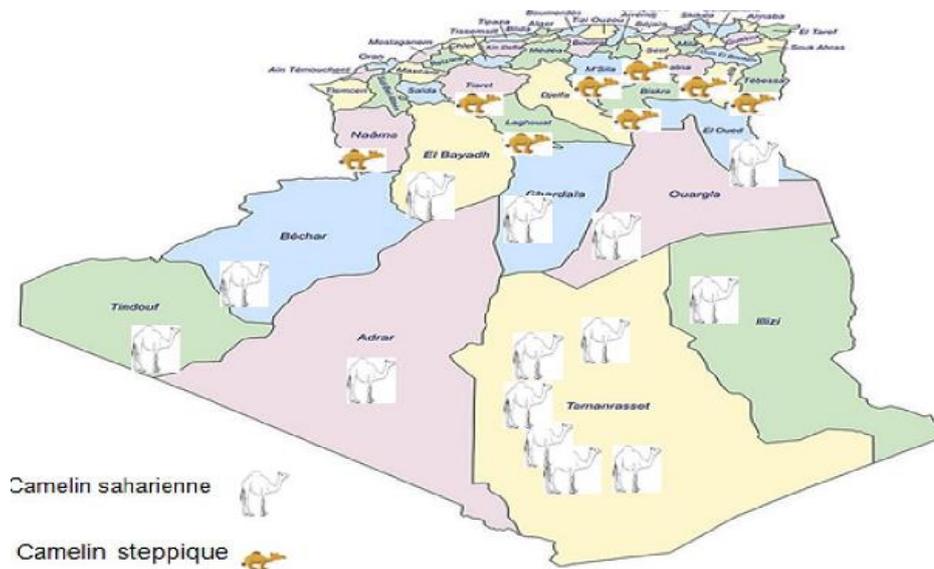


Figure 4 : Répartition géographique des races camelines algériennes (Ben aissa, 1989).

4. Production laitière

4.1. Dans le monde

En se basant sur les seules statistiques de la FAO (FAO stat, 2019), on remarque une augmentation brusque de la production des chamelles laitière à l'échelle mondiale à partir du début des années 2000 (figure 4). Alors que la population des grands camélidés a été multipliée par 2,7 entre 1961 et 2017, leur production laitière aurait été multipliée par 4,5 au cours de la même période passant de 630,000 à 2, 900,000 tonnes, chiffre probablement sous-estimée.

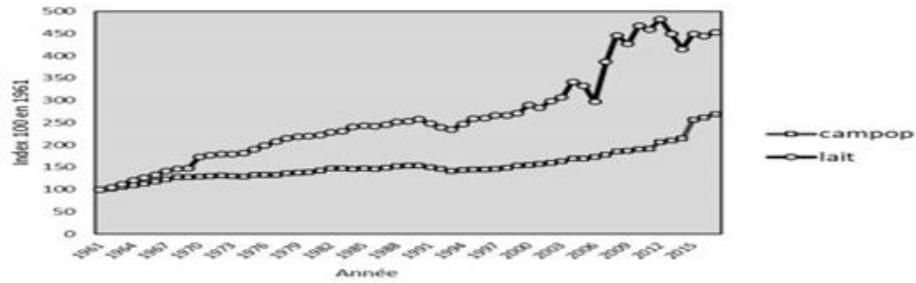


Figure 5 : la production de lait de chamelle à l'échelle mondiale à partir du début des années 1961(FAO, 2019).

4.2. En Algérie

La production nationale varie entre 0,5 à 10 kg de lait par jour avec une période de lactation moyenne de 14 mois, cette production varie d'une région à l'autre, en fonction de la population cameline, de l'alimentation, des conditions climatiques et d'autres facteurs intrinsèques (rang de lactation, stade de lactation, nombre de traite, présence du chamelon...) (Meribai et *al.*, 2016).

Selon FAO(2017), La production laitière cameline algérienne est d'environ 14004 tonnes (figure5). En effet, la chamelle laitière reste très loin derrière les autres femelles laitières, soit par sa part dans l'effectif national des femelles laitière (88970 têtes), ou dans la production laitière nationale donc elle reste moins introduite dans la filière du lait.

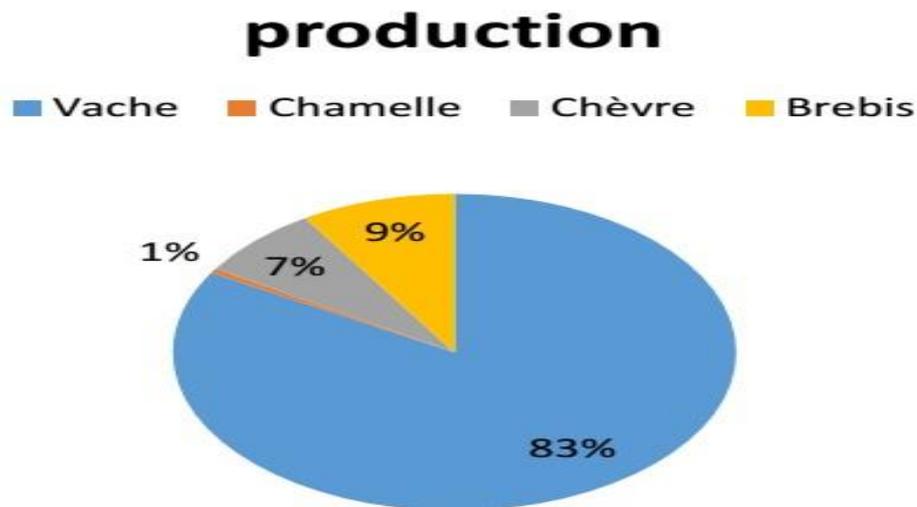


Figure 6: La production laitière nationale selon le type d'animal laitier (FAO STAT, 2017).

II. Le lait camelin

1. Généralité sur le lait de chamelle

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des mammifères tels que la chèvre, la vache et la chamelle...ect (Carole et *al.*, 2002). Il est le résultat de transformation des protéines végétales en protéines animales (Hansal, 2015), caractérisée par sa richesse en substances nutritives (Bekhouche, 2006) fournisses à l'homme et concéder comme alimentation presque complet (Belarbi, 2011).

2. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques

Le lait de chamelle a une couleur blanche opaque (Patel et *al.*, 2016). Sa couleur est due aux graisses qui sont finement homogénéisées dans le lait (Kumar et *al.*, 2012). Il a un goût légèrement sucré avec un goût acide parfois salé et/ou amère (Al-Adhadh, 2014). Les changements de goût sont dus au type de fourrage et à la disponibilité de l'eau potable (Kumar et *al.*, 2012). Et d'un aspect plus visqueux (Al-Adhadh, 2014). La valeur de pH du lait de chamelle se situe entre 6,31 à 6,64 (Kula et Dechasa, 2016). Son acidité moyenne est 14,5 °D (Siboukeur, 2011). Sa densité moyenne est de 1,029 g cm⁻³ (Laleye et *al.*, 2008). Sa viscosité à 20° C est de 1,72 mPa (Khaskheli, 2005). Son point de congélation est compris entre -0,57° C et -0,61° C (Benguella, 2015).

3. Composition biochimique

Depuis longtemps, le lait a été reconnu par des nombreux avantages pour la santé, il représente un milieu nutritionnel grâce à sa richesse en éléments nutritifs (calcium, protéines, glucides, vitamines...) et en eau (Ghaoues, 2011). Les composants du lait varient d'un mammifère à l'autre ils peuvent être classés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : compositions moyennes du lait de différentes espèces (Belarbi, 2015).

Animaux	Eau (%)	Matière grasse%	Protéines (%)	Glucide (%)	Minéraux (%)
Chèvre	87.0	8.3	2.9	4.4	0.9
Chamelle	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
Vache	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8

3.1. Eau

L'eau est un facteur important qui affecte la composition du lait de chamelle. Sa teneur varie selon son apport dans l'alimentation, atteint son maximum pendant la période de sécheresse. En effet, il a été montré que la restriction en eau alimentaire des chameaux se traduit par une dilution du lait : un régime riche en eau donne un lait ayant un taux de 86% alors que dans un régime déficient, celui-ci s'élève à 91 % (Yagil et *al.*, 1980 ; Faye et *al.*, 1991).

3.2 Matière grasse

La matière grasse laitière qui représente une source importante d'énergie est constituée essentiellement de lipides et de substances lipidiques (Glass et *al.*, 1967). Selon les données de la littérature la teneur en matière grasse du lait de chamelle en (g / 100 ml) est de $3,82 \pm 1,08$ (Konuspayeva et *al.*, 2009). Comme dans le lait des autres espèces des mammifères la fraction lipidique du lait camelin constituée essentiellement de triglycérides qui représentent 97 à 98% de la matière grasse totale, une faible teneur en acide gras à chaîne courte et une teneur relativement élevée en (C14: 0, C16: 0, C18: 0, C18:1) (Gnana et Shereha , 1986). Le lait de dromadaire est par contre riche en acides gras insaturés par rapport au lait de vache (konuspayeva, 2007), qui peuvent diminuer l'hyperlipidémie chez l'homme (Fukuda, 2013).

3.3. Vitamines

Le lait de dromadaire a été signalé pour contenir diverses vitamines, telles que la vitamine C, A, E, D et du groupe B, et se singularise par sa richesse relative en vitamines B3 (niacine) et en vitamine C (Tableau 2). Même si des variations importantes (de 25 à 60 mg/l) de la teneur de cette dernière dans le lait camelin sont rapportés, il n'en demeure pas moins que les teneurs signalées sont en moyenne trois fois plus élevées que celles présentes dans le lait de vache (Omar et Hamad, 2010), car elle permet au lait de cette espèce par son apport important en cette vitamine de répondre aux besoins nutritionnels, l'inconvénient dans la composition de lait camelin contient des teneurs plus faibles en vitamines A et E (Farah, 1993).

Tableau 2 : Les concentrations moyennes des vitamines dans le lait de chamelle, de la vache, et de la femme (mg /kg) (Kenji et *al.*, 2013).

Vitamines	Chamelle	Vache	Femme
A	0.21	0.28	0.55
B1 (thiamine)	0.41	0.59	0.15
B2 (riboflavine)	1.1	1.6	0.38
B3 (niacine)	0.78	0.7	1.7
B5 (acide pantothénique)	2.3	3.8	2.7
B6 (pyridoxine)	0.54	0.5	0.14
B7 (biotine)	AD	0.04	0.01
B9 (acide folique)	0.0046	0.055	0.042
B12	0.0053	0.009	0.0005
D	0.003	0.009	0.014
C	140	13	40
E	0.18	0.6	8

3.4. Les minéraux

Le lait de dromadaire constitue une bonne source d'apport en minéraux (macro et oligoéléments) (Bengoumi et *al.*, 1994), qui se trouvent sous forme de sels (phosphates, chlorures et citrates) ou de métaux divers (sodium, potassium, magnésium, calcium, fer, cuivre, zinc...etc.). En général la composition en macroéléments (Na, K, Ca, Mg...) est relativement similaire à celle du lait bovin (Tableau 3), cependant le lait camelin se caractérise par des taux plus élevés en oligo-éléments (Alloui-Lombarkia et *al.*, 2007 ; Siboukeur, 2008; Sbou et *al.*, 2010).

Farah, (1993) a rapporté que la variation de la composition minérale du lait camelin est influencée par la saison, l'état sanitaire de la mamelle et le stade de lactation.

Tableau 3 : Les concentrations moyennes des minéraux dans le lait de chamelle de la vache, et de la femme (mg /100g) (Kenji, 2013).

Minéraux	Chamelle	Vache	Femme
Ca	114	120	31
Mg	11	12	2.7
Na	59	51	12
K	156	137	64
P	55	65	7.8
Zn	0.59	0.4	0.15
Mn	0.005	0.003	0.001
Fe	0.29	0.03	0.047

3.5. Les protéines

Le lait de chamelle est une source considérable des protéines et des peptides capables de moduler diverses fonctions physiologiques (Tableau 04). Sur le plan nutritionnel, il est de bonne qualité puisqu'on retrouve tous les acides aminés indispensables (Azza *et al.*, 2007). La teneur moyenne en protéines dans le lait de chamelle est $3,35 \pm 0,62$ g/100 ml (Konuspayeva *et al.*, 2009), est aussi relativement comparable à celle du lait bovin. La composition en acides aminés de ces protéines est aussi très similaire à celle rapportée dans le lait de référence. (Sawaya. *et al.*, 1989 ; Mehaia et Alkanhal, 1992).

Selon leur solubilité en milieu acide, ces protéines se répartissent comme pour le lait d'autres animaux laitiers en deux fractions : les caséines et les protéines de lactosérum (Wangoh *et al.*, 1998). Les caséines (α_1 , α_2 , β , et κ) sont les protéines majeures représentent environ 70% des protéines totales dans le lait camelins, leur pourcentage est de 27,02 à 54,58% pour α_1 / α_2 caséines de la protéine totale, 12,56 à 33,95% pour β -caséine, et κ -caséine d'indécelable à 8,42% (Ereifej *et al.*, 2011). D'autres formes des protéines sont les α -lactalbumine qui se présentent en deux variantes dans le lactosérum du lait de dromadaire (Ereifej *et al.*, 2011).

3.6. Glucides

Le principal glucide du lait est le lactose, il est de teneur moyenne de $4,46 \pm 1,03\text{g}/100\text{ml}$ (Konuspayeva et al., 2009), Le lactose dans le lait de dromadaire reste invariable du premier mois jusqu'à la fin de la lactation (Ramet, 2001). Mais la déshydratation provoquée par conditions de sécheresse entraîne une diminution de la teneur en lactose à 2,9% (Yagil et Etizion, 1980). La présence de tel oligosaccharides dans le lait sont soupçonnés de jouer un rôle important dans la protection contre les micro-organismes pathogènes, dans l'attribution à la formation de la flore bifidus, et le développement du système nerveux (Urashima et al., 2009).

4. Propriétés thérapeutiques et médicales

Dans de nombreuses régions, le lait de dromadaire est utilisé pour traiter certaines maladies et problèmes de santé tels que la jaunisse, la tuberculose, l'asthme, l'anémie et ayant des propriétés anti-cancéreuses (Hamidi, 2015). Le lait contient des protéines protectrices qui pourraient jouer un rôle dans l'amélioration du mécanisme de défense immunitaire, hypoallergéniques et antidiabétique (Kotbelsayede et al., 2001).

4.1. Activités antimicrobiennes et immunologiques

Le lait de chamelle contient plusieurs protéines protectrices (lactoferrine, lactoperoxydase, N-acétyl- β -glucosaminidase (NAGase), immunoglobulines (Ig) et Lysozymes) qui exercent une activité antibactérienne, antifongique et antiparasitaire, antivirale, des propriétés immunologiques et une activité anti tumorale (Gizachew et al., 2014).

4.1.1. Les facteurs antimicrobiennes

A-La lactoferrine

La lactoferrine (LF) est une glycoprotéine contenant deux sites capables chacun de fixer un ion ferrique (Fe^{3+}). Cette capacité à capter le fer explique en partie son rôle dans le contrôle de la croissance de certaines bactéries pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* ou *Escherichia coli* (Faye, 2004).

Sur le plan des propriétés physiques, la lactoferrine de la chamelle comme beaucoup d'autres protéines laitières camelines serait plus thermorésistante que chez les autres

espèces (Elagamy, 2000). La LF n'est pas une protéine spécifique du lait. On la trouve dans la plupart des sécrétions (Larme, salive, sécrétions utérines, sang, sécrétions nasales, urines, fluide amniotique, plasma séminal) des mammifères, mais c'est dans le lait de chamelle qu'elle est la plus abondante que dans le lait de vache (Senoussi, 2011).

Une étude récente a montré que, parmi toutes les LF spécifiques, la LF caméline possède l'activité antibactérienne la plus forte. On reconnaît à la lactoferrine des propriétés également antivirales et antifongiques. La LF agit sur des virus comme l'herpès, le virus de l'hépatite C et même sur le VIH. Enfin, l'effet inhibiteur de la LF sur la croissance de certains mycètes pathogènes (Faye, 2009). La concentration de la lactoferrine est plus élevée dans le lait camelin, son taux est 30 à 100 fois supérieur que dans le lait bovin une concentration de 0,7g/l a été rapportée par El-Hatmi et al., (2007) ; Al-Majaliet al., (2007) ont noté des taux allant de 2 à 2,1 mg/l (Senoussi, 2011).

Tableau 4 : intervalle de concentration en LF de laits à différents stades de la lactation des mammifères (en mg par ml) (Masson et al, 1971 ; Qian, 1995).

	Chamelle	Jument	Chèvre	Vache	Brebis
LF	2-6	0.02-0.2	0.02-0.2	0.02-0.2	0.02-0.2

B. Lysozyme

Le lysozyme est une protéine naturellement présente dans les laits de mammifères où il représente un facteur antimicrobien puissant. La quantité de lysozyme dans le lait de chamelle est plus élevée que dans le lait de vache $15 \mu\text{g}100 \text{ mL}^{-1}$ vs $7 \mu\text{g} 100 \text{ mL}^{-1}$. L'activité enzymatique du lysozyme du lait de chamelle est également plus forte que celle de la vache, (Elagamy et al., 1996). Tout comme la lactoferrine de cette espèce, le lysozyme du lait de chamelle serait thermorésistant (Elagamy, 2000).

Les bactéries Gram négatif sont plus résistantes au lysozyme car elles contiennent une membrane externe de lipopolysaccharide, qui peut protéger les bactéries contre l'accès du lysozyme. En revanche, les bactéries, telles que *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Lactobacillus plantarum*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis* les levures, telles que *Candida krusei*,

Candida albicans, *Candida glabrata*, et le virus Herpès sont sensibles au lysozyme (Konuspayeva et *al.*, 2003).

C. Lactoperoxydase

Le LPS « lactoperoxydase enzyme system » c'est un ensemble d'enzyme qui appartient aux systèmes non immuns normaux de la défense antimicrobienne du lait. La lactoperoxydase c'est une oxydoréductase sécrétée dans le lait et joue un rôle important dans la glande mammaire ainsi que dans le tractus digestif du nouveau-né contre les bactéries pathogènes. (Senoussi, 2011). Cette enzyme dans le lait de chamelle est considérée comme étant une des plus thermorésistantes par rapport au lait de vache (Elagamy et *al.*, 1996). LPS présente des propriétés bactériostatiques contre les bactéries Gram positif et des propriétés bactéricides contre les souches Gram négatif (Konuspayeva, 2007).

L'activité antimicrobienne du lait camelin due à la synergie des effets précédemment cités, confère au lait camelin une bonne aptitude à la conservation, mais se répercute négativement sur ses aptitudes à la transformation en produits dérivés (Siboukeur et Mati, 2007).

4.2. Propriétés antidiabétiques

L'amélioration du statut glycémique chez les diabétiques traités au lait de chamelle serait due à la présence d'insuline en quantité non négligeable (52 UI / l). L'insuline est normalement neutralisée par le caillage du lait dans l'estomac sous l'effet de l'acidité du milieu, mais il semble que le lait de chamelle ne caillant pas comme celui des autres espèces, l'insuline pourrait en grande partie se retrouver intacte dans l'intestin où elle pourrait être absorbée. En tout état de cause, il semble que la consommation régulière de lait de chamelle ait une action hypoglycémisante et régulatrice de la glycémie chez les patients insulinodépendants. (Agrawale *al.*, 2003).

4.3. Actions anticancéreuse et anti-tumorale

Le lait de chamelle déclenche l'apoptose (mort cellulaire contrôlée) dans le cancer du sein humain et les cellules cancéreuses du foie par des mécanismes épigénétiques (Korashy et *al.*, 2012). En outre, il aide à restaurer les traitements anti-tumoraux par leurs effets antigénotoxiques et anticytotoxiques en inhibant les érythrocytes

polychromatiques micronucléés et améliore l'index mitotique des cellules de la moelle osseuse (Salwa et *al.*, 2010).

4.4. Traitement pour les allergies

Le lait de chamelle est concédé comme aliment alternatif pour les enfants allergiques au lait bovin. L'hypoallergénicité du lait maternel serait due au pourcentage élevé de β -CN (β -caséine) au faible pourcentage d' α -CN (α -caséine) (El-Agamy et *al.*, 2009), et à la similarité des immunoglobulines (Shabo et Yagil, 2005). Bien que la β -lactoglobuline est l'allergène le plus courant, le lait de chamelle est exempt de ce composant, tout comme le lait maternel (Kappeler, 1998). Pour cela, il a été rapporté que le lait de chamelle pourrait être une nouvelle source de protéines pour les enfants allergiques au lait bovin. On s'attend à ce qu'il provoque peu de réactions d'hypersensibilité car les protéines du lait de chamelle et leurs pourcentages sont similaires à ceux trouvés dans le lait humain, et que le rapport protéines de lactosérum à caséine dans le lait de chamelle est élevé, ce qui entraîne un caillé mou et donc une digestibilité plus facile (El-Agamy et *al.*, 2009).

4.5. Effet cosmétique et anti-âge

Le lait de chamelle a un effet cosmétique dû à la présence d'acides α -hydroxylés. Les acides alpha-hydroxylés aident à éliminer la couche cornée externe des cellules mortes de la peau (épiderme). Cela aide à révéler de nouvelles cellules, plus élastiques et plus claires. Les acides alpha-hydroxylés aident à éliminer les rides et les taches de vieillesse et à soulager la sécheresse, car ils rendent la couche externe de la peau plus fine et soutiennent la couche inférieure du derme en la rendant plus épaisse. De plus, les liposomes présents dans le lait de chamelle sont applicables à un ingrédient cosmétique potentiel pour améliorer l'effet anti-âge (Choi et *al.*, 2013).

4.6. Traitement pour l'autisme

L'autisme est un trouble neuro-développemental grave caractérisé par des troubles de l'orientation sociale, de la communication et des comportements répétitifs (Mcpheeters et *al.*, 2011). Un dysfonctionnement du système immunitaire provoque une inhibition de l'enzyme alimentaire, provoquant la dégradation de la caséine en casomorphine, et non en acides aminés. La casomorphine est un opioïde puissant, beaucoup plus

puissant que la morphine elle-même et est capable de causer des dommages au cerveau et des symptômes cognitifs et comportementaux de l'autisme. Les enfants autistes qui boivent du lait de chamelle ont eu des améliorations incroyables dans leur comportement et leur alimentation (Shabo et Yagil, 2005).

5. Qualités microbiologiques du lait camelin

Le lait forme un milieu biologique favorable pour la croissance des différents microorganismes à cause de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (Djouhri et Madani, 2015).

5.1. Microflore de lait

Ce sont les microorganismes qui peuvent être présentés dans le lait au cours de leur sortie du pis d'un animal sain, leur pourcentage ne devrait pas dépasser 5000UFC (unités formant colonies). Cette flore originale joue un rôle important en ce qui concerne les caractéristiques organoleptiques du lait (Belarbi, 2015), il s'agit essentiellement de germes saprophytes sont des microcoques mais aussi *Lactococcus* et lactobacilles (Joseph-Pierre, 1998). Il y a des divers microorganismes de notre environnement pouvant contaminés le lait (Entérobactéries, Pseudomonas, Bacillus, Corynebactéries, Coliformes, Clostridium, les levures et moisissures) et ceci est causé soit par une flore d'altération qui provoque des défauts sensoriels ou contribuer à réduire le temps de conservation de lait, soit par une flore pathogène qui conduit à l'apparition des maladies après la consommation de lait (Carole et *al.*, 2002 ; Mami, 2013). Le tableau en dessous relève un exemple pratique sur le dénombrement de différentes flores microbiennes du lait de chamelle cru.

En raison de la grande diversité des flores présentes dans le lait, et en se basant sur certain nombre de propriétés important qu'elles ont en commun on les divise en deux catégories : les flores saprophytes et les bactéries pathogènes.

Tableau 5: Moyenne des diverses flores (ufc mL⁻¹) dénombrées dans du lait de chamelle cru (Alaoui et *al.*, 2016).

Flore (UFC mL ⁻¹)	Moyenne	Valeur min	Valeur max
Flore aérobique totale	1.76×10 ⁸	5.6×10 ³	1.8×10 ⁹
Coliformes totaux	1.18×10 ⁷	1.0×10 ²	1.5×10 ⁸
Coliformes fécaux	3.24×10 ⁶	1.0×10 ²	3.1×10 ⁷
Flore psychrotrophique	9.84×10 ⁵	1.0×10 ³	9.7×10 ⁸
Moisissure	1.60×10 ⁵	0.0 ×10 ⁴	1.4×10 ⁶
Enterocoque	3.76×10 ⁶	8.6×10 ¹	9.0×10 ⁷
Lactocoques	4.24×10 ⁷	8.2×10 ²	4.01×10 ⁸
Leuconostoc	4.45×10 ⁷	1.2×10 ³	4.9×10 ⁸
Lactobacilles	3.55×10 ⁷	1.4×10 ³	4.2×10 ⁸
Staphylococcus aureus	2.32×10 ⁵	1.0×10 ²	5.6×10 ⁶
Levures	3.12×10 ⁶	1.7×10 ²	3.0×10 ⁷

5.1.1. Les flores saprophytes

Elles peuvent avoir un intérêt hygiénique et technologique.

5.1.1.1. Flore lactique

Les bactéries lactiques forment un groupe très hétérogène présentant les caractères généraux suivants (Pilet et *al.*, 1979): elles sont à Gram+, micro-aérophiles ou anaérobies facultatifs, peu ou pas protéolytiques dans le lait. Parmi les genres appartenant à cette flore on cite les *Streptococcus* ou (*Lactococcus*) les *Lactobacillus*, les *Leuconostoc* et les *Bifidobacterium* (Rahu, 2015).

A. Genre *streptococcus* ou (*lactococcus*)

Le genre *Lactococcus* joue un rôle de conservation dans le lait, les espèces telles que *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* produisent respectivement de la nisine et la diplococcin, bactériocine inhibant les bactéries non lactiques au profit des bactéries lactiques d'où leur intérêt technologiques (Greaume, 1975). Une étude réalisée par

(Karam, 2006) et en évidence la présence dans le lait de chamelle des espèces *Lactococcus lactis ssp* et *Lactococcus cremoris ssp* ayant une capacité inattendue de résister à une concentration de 6.5% de NaCl (Rahu, 2015).

B. Genre lactobacillus

Les lactobacillus occupent une place de choix en bactériologie appliquée parmi les bactéries utiles, ils appartiennent en effet, aux ferments lactiques et à ce titre, ils interviennent en industrie laitière (fabrication de yaourts, kéfirs, fromages) (Dieng, 2001).

Selon Karam et Karam, (2006) montré la présence de *Lb. Plantarum* comme seule espèce de lactobacilles retrouvée dans des échantillons de lait camelin étudiés, a été signalée comme espèce majoritaire de la flore lactique de lait cru de vache, de brebis ou de de chèvre mais toujours auprès d'autres lactobacilles, comme par exemple *Lactobacillus brevis* (Bouix et Leveau,1980).

C. la Bifidobacterume

La flore bifidogène connu pour ces exigences en matière de facteur de croissance est capable de dégrader les acides aminés libres et autres composés azotés non protéiques dont le taux est plus élevé dans le lait camelin que bovin (Siboukeur, 2007).En effet, des travaux portant sur la culture de quatre espèces (*Bifidobacterume bervis* ; *B. bifidum*; *B. longumet B. angulatum*), rapportent que le lait camelin est un excellent milieu de culture, naturel pour le Bifidobactéries . En outre, le stockage de ce lait à 4°C n'affecte pas leur viabilité et leur activité protéolytique est plus forts que dans le lait bovin (Abu-tarboush et *al.*, 1998).

5.1.1.2. Flore d'altération

Ce sont des bactéries et champignon indésirables apporté par la contamination. Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotrophes, les levures et moisissures (Dieng, 2001).

A. Flore thermorésistantes

Un certain nombre de bactérie est capable de résister aux traitements thermiques usuels utilisés dans le but d'assainir ou de conserver le lait. Elles sont dit thermorésistantes. Leur développement ultérieur peut altérer les produits et parfois, être dangereux pour

la santé. On distingue : la flore thermorésistante totale, la flore moyennement thermorésistante et la flore fortement thermorésistante (Rahu, 2015). Les composants de cette flore sont *Micrococcus*, *Microbactérium* et *Bacillus* dont l'espèce *Bacillus cereus* produit une entérotoxine stable après pasteurisation. Le genre *Bacillus* réalise en outre des activités enzymatiques lactiques pouvant être responsables de l'acidification, la congélation ou la protéolyse de lait de longue conservation (Rahu, 2015).

B. les coliformes

D'un point de vue technologique, certains coliformes sont lactiques et fermentent le lactose sur un mode hétéro fermentaire. Ils peuvent se retrouver dans tous les types de lait. Ce sont des germes qui vivent dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Leur présence est un signe de contamination lors de la traite et pendant la manipulation et transvasements multiples que subissent les produits avant la commercialisation (Badio, 2000).

C. les psychrotrophes

Le terme «psychrotrophe» désigne des microorganismes qui ont la faculté de se développer à une température inférieure à 7°C (Lahélec et Colin 1991). Parmi les microorganismes qui composent ce groupe sont : Gram(-) : *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*...ect. Et Gram (+) : *Micrococcus*, *Corynebactériume* ...ect.

En générale dans le lait, le genre *Pseudomonas* qui domine. Il est fortement psychrotrophe et se multiplie par 100 en 48 heures à 4°C (Dieng, 2001). Ces germes produisent des lipases et des protéases thermorésistantes ayant pour conséquence l'apparition de goûts très désagréables dans les produits laitiers : gout amer, rance putride (Rahu, 2015).

D. les flores fongiques

1. Les levures et moisissures

Les levures et les moisissures sont des cellules eucaryotes, regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre ainsi que dans tous les autres produits laitiers (Alais, 1984).

1.1. Les levures

De forme arrondie ou ovale volumineuses et unicellulaires, sont utiles en industrie laitière car elles peuvent servir comme agents d'aromatisation. Elles sont aérobies facultatives et se développent en surface formant les boutons de nature mycélienne (Dieng, 2001). Par contre, d'autres levures (*Kluyveromyces fragilis*, *Kluveromyces fragilis*, *Saccharomyces fragilis*, *Saccharomyces lactis* peuvent avoir des effets néfastes dans les aliments. Sont supportent des pH de 3 à 8 avec un optimum de 4.5 à 6.4 ce qui explique leur présence dans le lait cru comme dans le lait caillé (Bouix et al., 1988) .elle entraînent des altérations rendant le produit finale indésirable1: aspect trouble, odeurs ou goûts anormaux, gonflement des produit ou de leur emballage (Rahu, 2015).

1.2. Les moisissures

Les moisissures sont en général plus complexes dans leur morphologie et dans leur mode de reproduction. Elles peuvent être utiles ou indésirables en industrie alimentaire. Elles se développent en surface ou dans les parties internes aérées en utilisant le lactose, cette propriété leur confère une utilité incontestable en fromagerie. C'est ainsi que le *Penicillium camemberti* et *Penicillium roqueforti* sont utilisés dans la fabrication de divers types de fromages. Certaines moisissures élaborent des mycotoxines thermostables et liposolubles donc difficiles à éliminer une fois formées (Rahu, 2015).

5.1.2. Les bactéries pathogènes

Le lait et les produits laitiers peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme. L'animale, l'homme et l'environnement peuvent être à l'origine de cette contamination. Différentes espèces bactériennes sont capables de pénétrer dans la mamelle par le canal du trayon et sont excrétées dans le lait. Certains de ces germes en particulier, les streptocoques et staphylocoques provoquent des mammites avec contamination de lait (Kagembege, 1984).

A. Les staphylocoques

Ils sont fréquemment retrouvés dans le lait et parfois en nombre important. Leur fréquence tend à augmenter du fait de leur antibiorésistance. Ils provoquent, par leur production de toxines thermo stables (Kagembega, 1984), les staphylocoques pathogènes ont la particularité de posséder une coagulas, une phosphatase et une DNase thermostable ou thermonucléase certaines souches appartenant aux espèces *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus intermedius* sont capable de produire des entérotoxines (Debuyser, 1991).

B. les entérobactéries

Sont des bacilles ou coccobacilles Gram(-), oxydase négative, catalase positive asporulés. Ils rodusent les nitrates en nitrites. Ils sont anaérobie facultatifs (guiraud et Galzy, 1980) et constituent l'une des plus grandes familles de bactéries. Les entérobactéries sont divisées en deux groupes : Les genres *Shigelle*, *Salmonella*, *Serratia*, *Proteus*, *Yersinia* (lactose-), et les genres : *Escherichia Coli*, *Citrbacter Klebsiella*, et *Enterobacter Hafnia* (lactose+). Les salmonelles son responsable de nombreuses toxi-infection. En effet, les toxi-infections alimentaires à *Salmonella typhimurium* et *Salmonella enteritidi* sont souvent pour origine la consommation de lait, beurre, crème glacée...etc ; n'ayant subi aucun traitement d'assainissement ou décontaminés (Rahu, 2015). Les colibacilles tels que l'espèce *Escherichia Coli*, dont certaines souches sont entéro pathogènes, peuvent être responsables de graves toxi-infection suite à la consommation de produits laitiers et du lait infectés. La pollution par les coliformes est très fréquente ; même légère, elle présente un risque. Des coliformes banaux absorbés en quantité massive peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux (Rahu, 2015).

III. Les levures

1. Généralités

Le mot levure, selon Phaff et *al.*, (1968), provient du mot latin « levare » qui se traduit par lever. Ce mot a été appliqué aux levures en raison de l'aptitude de ces microorganismes à produire du CO₂ pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation (Farhat et Laklouka, 2015). Les levures sont des eucaryotes chimio-hétérotrophe microscopiques avec un ADN double brin (figure 7) (Kurtzman et *al.*, 2011). Ce sont des champignons microscopiques unicellulaires pour tout ou une partie de leur cycle végétatif (Rezki-Bekki, 2014). Certaines peuvent former des associations cellulaires, ou se présenter sous forme filamenteuse à certains stades de leur vie (Merabti, 2006). Elles forment des bourgeons sous forme de courte chaîne de cellules, immobiles, appelée pseudohyphe (Toumi, 2018).

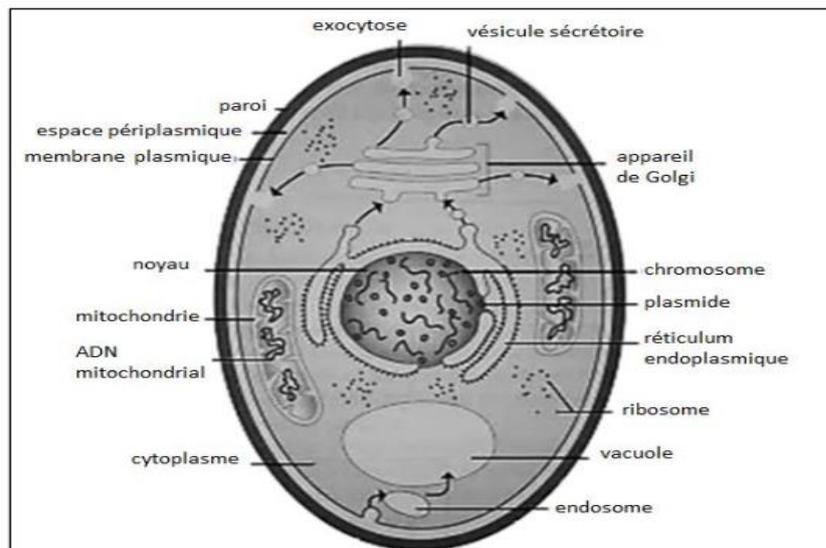


Figure 7: Présentation d'une cellule de levure (Labbani, 2015).

2. Morphologie et Structure

Les levures possèdent une structure plus complexe que celle des bactéries notamment par la présence d'un noyau, de mitochondrie, d'un appareil de golgi et de plus d'un chromosome (Labrecque, 2003). Les cellules végétatives sont généralement ovoïdes ou sphériques, mais il existe d'autres formes spécifiques : triangulaires, ogivales, en

forme de citron ou même en forme de bouteille (Bouix et Leveau, 1991). Elles se trouvent isolées, en paires, en chaînes ou en petits amas, leur taille est très variable 2,5-10,5 μ m de largeur contre 4,5-21 μ m de longueur. Ces dimensions et aspects dépendent fréquemment des conditions de culture et l'âge des cellules (Toumi, 2018). Les colonies sont régulières et généralement blanches (très rarement roses ou rouges), les cellules peuvent rester accolées et donner naissance à un pseudomycélium ou même un vrai mycélium (figure 8) (Guiraud, 1998).

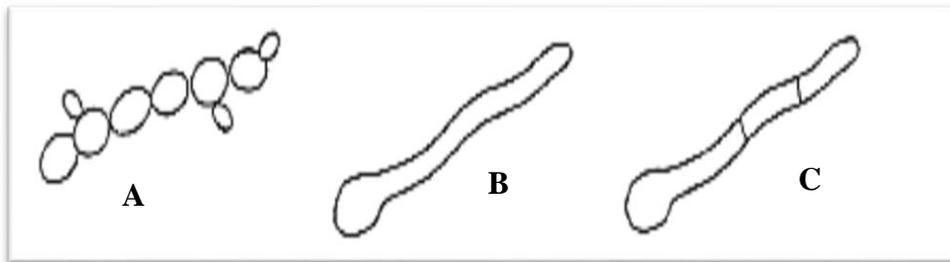


Figure 8: Filamentation des levures. A : pseudomycélium ; B : vrai mycélium ; C : vrai mycélium cloisonné (Guiraud, 1998).

3. Reproduction

Il existe deux modes de reproduction ; la reproduction asexuée par bourgeonnement où la cellule mère donne naissance à deux cellules filles et la reproduction sexuée par sporulation qui consiste en la fusion de deux cellules préexistantes (Nedjar et Zamouche, 2018).

3.1. La reproduction asexuée

La reproduction asexuée s'effectue par bourgeonnement. Une petite masse saillante apparaît à la surface de la cellule mère qui grossit petit à petit puis se détache lorsqu'elle atteint la même taille. Au même moment, le noyau de la cellule mère se déplace vers la périphérie, il s'étire, une partie s'infiltré dans le bourgeon. Il se sépare alors de la cellule mère y laissant parfois une petite «cicatrice» (Castan, 2016). La cellule fille ainsi produite grandit jusqu'à atteindre environ un diamètre égal au deux tiers de la cellule mère, puis donne à son tour de nouveaux bourgeons (figure 09) (Guinet et Godon, 1994).

Dans des conditions optimales de croissance, cette population double toutes les quatre-vingt-dix minutes, ce qui représente un temps record pour des cellules eucaryotes (Silar et Malagnac, 2013).

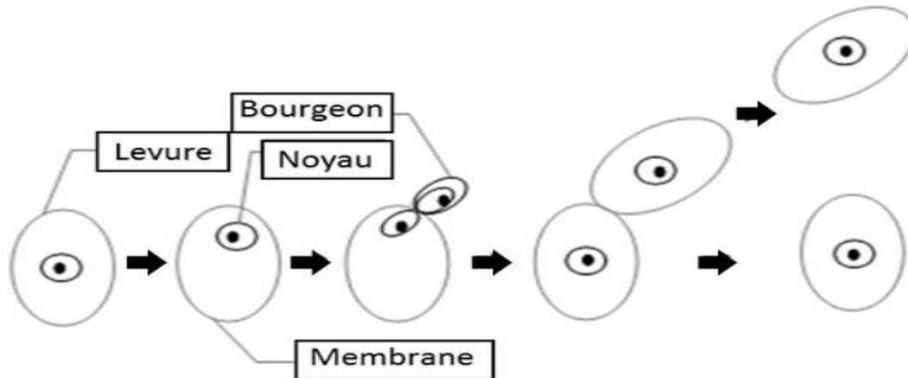


Figure 9: Schéma d'interprétation de la reproduction asexuée d'une levure (Castan, 2016).

3.2. La reproduction sexuée

Lorsque le milieu est défavorable (riche en acétate, pauvre en nutriments, températures extrêmes...) (Hencke, 2000), la cellule diploïde de levure va sporuler c'est à dire produire 4 ou 8 cellules haploïdes, nommées « ascospores » chez les Ascomycètes et « basidiospores » chez les Basidiomycètes, qui resteront en vie ralentie. Si les conditions du milieu redeviennent favorables, les spores sont libérées, vont germer, croître et commencer un nouveau cycle de multiplication végétative sous la forme haploïde ou diploïde (figure10) (Nedjar et Zamouche, 2018).

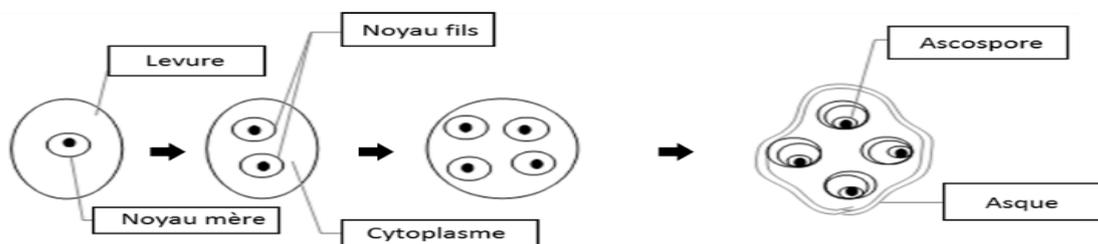


Figure 10: Schéma d'interprétation de la reproduction sexuée d'une levure (Castan, 2016).

4. Physiologie et croissance des levures

4.1. Besoins nutritionnels

Les nutriments sont apportés au milieu de culture de façon graduelle pour maintenir une faible concentration de glucose afin d'encourager la respiration et la reproduction cellulaire des levures. Les éléments chimiques nécessaires à la croissance des levures sont :

➤ Sources de carbone

Les sources carbonées sont d'une grande importance pour les levures puisqu'elles fournissent le carbone nécessaire pour la biosynthèse de constituants cellulaires et l'énergie nécessaire à son fonctionnement. Les levures utilisent fréquemment des glucides, en particulier des monosaccharides (ex : le glucose, le fructose), des disaccharides (ex : le maltose, le saccharose), et des tri-saccharides (ex : le maltotriose) comme source principale de carbone et par conséquent d'énergie (ReakiI-Bekki, 2014). D'autres levures particulières utilisent des sources de carbone non conventionnelles (éthanol, glycérol). Cependant, leur croissance sur des substrats non-glucidiques les oblige à synthétiser des sucres exigés pour la biosynthèse macromoléculaire, en particulier celle des polysaccharides complexes (Merabti, 2006).

➤ Source d'azote

L'azote est le deuxième constituant important, jouant un rôle capital puisqu'il entre dans la composition de plusieurs molécules, essentielles au fonctionnement cellulaire allant des plus simples comme les acides aminés, les sucres, les nucléotides, les coenzymes et les vitamines jusqu'aux macromolécules, telles que les protéines, les acides nucléiques et la chitine (Nedjar et Zamouche, 2018). Comme les levures ne peuvent pas fixer l'azote libre, elles dépendent de ses formes oxydées ou réduites pour la synthèse des composés azotés structuraux et fonctionnels de la cellule. L'assimilation des ions d'ammonium (fournis dans le milieu ou dérivés du catabolisme d'autres composés azotés) est largement répandue chez les levures. Cependant, d'autres espèces levuriennes se caractérisent par une capacité à utiliser les nitrates et d'autres composés, comme source d'azote (Merabti, 2006).

➤ **Besoins des lipides**

Ils peuvent être indispensables pour la croissance. D'ailleurs, de nombreuses espèces sont lipolytiques : *Saccharomycopsis lipolytica*, *Candida lipolytica*, *C.unelinii*, *C.rugosa*, *C.ceylanoïdes*, *C.magnoiïac*, *C.versatilis*, *Leucosporidium scottii*, *Trichosporon pullulans*, *Cryptococcus albidus*, *Hansenula subpelliculosa* (Hencke, 2000).

➤ **Oligoéléments et facteurs de croissance**

Les levures ont besoin d'éléments nutritifs pour assurer un développement adéquat (Belmaziz et Djalal, 2017). Il s'agit de sels minéraux ont un rôle plastique (pour l'édification des cellules), et fonctionnel (ce sont des facteurs de croissance) et les oligo-éléments (Al, Cr, Br, Cu, Pb, Mn, Ag, Sr, Tl, Zn, Sn...) ne sont peut-être pas tous indispensables mais beaucoup sont à très faible dose, des constituants essentiels des systèmes enzymatiques : le silicium est un constituant obligatoire de la membrane ; le manganèse, le zinc et le cuivre stimulent la croissance et la fermentation (Hencké, 2000).

De plus, d'autres facteurs sont essentiels comme les vitamines (la biotine, la thiamine et l'acide pantothénique), qui interviennent lors des réactions enzymatiques, comme des coenzymes (Amamria et Abed, 2018).

➤ **Milieux de culture des levures**

Il est assez facile de cultiver des levures en laboratoire sur une variété de milieux complexes et synthétiques (Walker, 2009). Les milieux généraux recommandés pour la culture des levures sont l'extrait de malt ou l'extrait de levure additionné de peptone et de glucose (comme dans le YEPG). La base azotée de levure (YNB) est un milieu commercial chimiquement défini qui contient du sulfate d'ammonium et de l'asparagine comme azote ainsi que des sels minéraux, des vitamines et des oligo-éléments. La source de carbone de choix (par ex, le glucose) est généralement ajoutée à une concentration finale de 1 % (p/v). Pour la culture continue des levures dans des chimiostats, les milieux qui garantissent que tous les nutriments nécessaires à la croissance sont présents en excès sauf un (le nutriment limitant la croissance) sont

généralement conçu. Les chimiostats peuvent donc faciliter les études sur l'influence d'un seul nutriment (par ex, le glucose, dans les chimiostats à limitation de carbone) sur la physiologie des cellules de levure, tous les autres facteurs étant maintenus constants. Dans l'industrie, les levures sont cultivées dans une variété de matières premières de fermentation, y compris le moût de malt, la mélasse, le jus de raisin, le lactosérum de fromage, les sirops de glucose et la liqueur de sulfite (Walker, 2009). Le milieu, liquide ou solidifié, peut être utilisé pour étudier les caractéristiques morphologiques et culturelles des espèces de levures (Prescott, 1975).

4.2. Besoins physicochimiques

➤ Température et pH

Généralement, les levures sont adaptées à des environnements hostiles aux bactéries et se distinguent par certains besoins nutritifs (Toumi, 2018). Les températures optimales d'incubation des levures se situent entre 20°C et 30°C et pour certaines espèces elle peut être 37°C (Kherraz et Lorbi, 2015). Comme les autres microorganismes, les levures peuvent être classées en levures psychrophiles, mésophiles et thermophiles. D'une façon générale, les levures ne sont pas aussi tolérantes, telles que les bactéries, aux températures élevées, cependant, certaines levures peuvent supportées la température de 50°C (Walker, 2009).

Les levures se développent surtout en milieu acide : leur optimum de pH se situe entre 4.5 et 6.5 mais elles tolèrent des valeurs entre de 2.5 et 8.0 (Labrecque, 2003). En dessous de pH=5,5 ; elles entrent facilement en compétition avec les bactéries, les levures sont fortement inhibées par les acides acétique et lactique (Hencké, 2000).

➤ L'oxygène

Toutes les levures sont capables de se développer en présence d'oxygène, il n'y a pas de levures anaérobies strictes. Certaines levures sont aérobies strictes comme les genres : *Rhodotorula*, *Lipomyces* et *Cryptococcus*. Les autres sont aéro-anaérobies facultatives préférant un métabolisme soit fermentaire comme : *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* et *Brettanomyces* soit respiratoire comme : *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Hansenula* et *Torulopsis* (Belmaziz et Djalal, 2017).

➤ La pression osmotique et l'activité d'eau

L'activité de l'eau, abrégée « aw » est le rapport de la pression osmotique de vapeur d'eau du milieu sur la pression d'eau distillée à la même température. C'est donc l'état d'équilibre qui s'établit entre l'atmosphère et le produit (Hencké, 2000).

L'effet de la pression osmotique varie d'une souche de levure à l'autre. La plupart des souches ne peuvent se développer pour des activités de l'eau inférieures à 0,90 ; mais certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées correspondant à une activité de l'eau de l'ordre de 0,60 mais avec un métabolisme lent (Randrianantoandro, 2014). Ce sont des levures « xérotolérantes » ou « osmotolérantes ». La plus xérotolérante est *Saccharomyces rouxii* mais on retrouve aussi dans cette catégorie : *Candida krusei*, *C.sake*, *C.uropicalis*, *C.glabrata*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Pichia pastoris*, *Torulopsis candida*, *Saccharomyces cerevisiae*, *S.pombe*, *Torulaspota delbrueckii*, *Debaryomyces hansenii* (Hencké, 2000).

5. Métabolisme

5.1 Métabolisme oxydatif

Les levures utilisant le glucose en présence d'oxygène, par conséquent, leur métabolisme est exclusivement respiratoire et le pyruvate est oxydé par le cycle de Krebs. Cette voie métabolique est très énergétique et permet aux levures une importante multiplication. En plus des sucres simples, certaines levures utilisent d'autres glucides (mono, di ou tri saccharides et des polysaccharides comme l'amidon), mais aussi des alcools, des acides et des alcanes (Maamra et Maissa, 2018).

5.2. Métabolisme fermentaire

En plus du métabolisme oxydatif, certaines levures peuvent privilégier une dégradation des glucides par un métabolisme fermentatif qui conduit à la formation d'éthanol et de CO₂. En plus de ces composés majoritaires des alcools ; des aldéhydes ; des esters ; des acides sont formés en plus petites quantités. Ce métabolisme est moins énergétique que le métabolisme oxydatif (Guiraud et Rosec, 2004).

6. Classification des levures

Les levures sont classées d'après leur forme, leur possibilité de former un voile, de fermenter les sucres, de les assimiler (glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose, raffinose). Toute souche incapable de fermenter le glucose, ne peut fermenter aucun autre sucre. Toute souche capable de fermenter le glucose, fait également fermenter le fructose et le mannose. Le raffinose, sucre en C₁₈, peut être fermenté complètement ou seulement le tiers de sa molécule. L'assimilation des nitrates, l'utilisation de l'éthanol, la production de pigments, sont aussi des critères de classification (Kherraz et Lorbi, 2015). L'ADN, la structure de la paroi, le type de coenzyme Q sont pris en compte pour permettre des études plus rigoureuses (figure 11) (Bouix et Leveau, 1991). La classification de référence est actuellement celle de Kreger-Van (1984), qui présente des changements sensibles par rapport à la précédente classification de Lodder (1971). Il s'agit d'un groupe hétérogène, qui d'un point de vue taxonomique, comprend 60 de genres et près de 500 espèces (Kreger-van, 1984). Les levures se divisent en 3 grandes classes :

- ❖ **Les Ascomycotina** : « levures vraies » ou « levures ascosporegènes » : il y a formation d'endospores ou « ascospores » contenues dans un asque, par reproduction sexuée, après transformation d'une cellule par méiose (Larpen, 1991 ; Bourgeois et *al.*, 1996 ; Guiraud, 1998). Cette classe regroupe de nombreuses levures de fermentation ainsi que des levures d'altération (Leveau et Bouix, 1993).
- ❖ **Les Basidiomycotina** : « levures fausses » sont parfois classées parmi les Deuteromycota. A l'issue d'une reproduction sexuée, sont formées des exospores ou « basidiospores » portées par une baside (Larpen, 1991 ; Leveau et Bouix, 1993 ; Guiraud, 1998). Ce groupe comporte peu de levures capables de fermenter (Leveau et Bouix, 1993 ; Guiraud, 1998).
- ❖ **Les Deuteromycota** : « levures imparfaites » ou « levures asporogènes » sont des espèces ayant des affinités avec les Ascomycotina ou les Basidiomycotina, mais chez les quelles le stade sexué (stade parfait) n'est pas connu avant leur mise en culture sur un milieu adéquat permettant de les classer (Leveau et Bouix, 1993 ; Bourgeois et *al.*, 1996 ; Bourgeois et Larpen, 1996). La multiplication est donc exclusivement asexuée (Guiraud, 1998). Ce groupe

comprend des levures de fermentation et des levures pathogènes pour l'homme.

Ex : *Candida* (Leveau et Bouix, 1993).

Il faut préciser que sont toujours mentionnées dans la classe des Deutéromycètes, des levures pour lesquelles le stade parfait est maintenant connu, bien souvent, était déjà décrit sous un autre nom d'espèce. Il s'agit donc bien d'une entité levurienne (holomorphe), décrite sous deux noms différents correspondant aux formes parfaites (téléomorphes) et imparfaites (anamorphes) (Leveau et Bouix, 1993).

Tableau 6: Forme parfaite (téléomorphe) et imparfaite (anamorphe) de quelques levures (Leveau et Bouix, 1993).

Forme parfaite (ascomycètes)	Forme imparfaites	Forme parfaite (basidiomycètes)
<i>Citeromyces matritensis</i>	<i>Candida globosa</i>	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Candida famata</i>	
<i>Dekkera bruxellensis</i>	<i>Brettonomyces bruxellensis</i>	
<i>Dekkera intermedia</i>	<i>Brettanomyces intermedius</i>	
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Filobasidiella neoformans</i>
	<i>Candida japonico</i>	<i>Filobasidium capsuligenum</i>
	<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	<i>Filobasidium uniguttulatum</i>
<i>Hanseniaspara guilliermondii</i>	<i>Kloeckera apis</i>	
<i>Hanseniaspora occidentalis</i>	<i>Kloeckera javanica</i>	
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Kloeckera apiculata</i>	
<i>Hanseniaspora osmophila</i>	<i>Kloeckera corticis</i>	
<i>Hanseniaspora volbyensis</i>	<i>Kloeckera japonica</i>	
<i>Hanseniaspora vineae</i>	<i>Kloeckera africana</i>	
<i>Hansenula anomala</i>	<i>Candida pelliculosa</i>	
<i>Hansenula bimundalis</i>	<i>Candida bimundalis</i>	
<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>	<i>Candida dattila</i>	
	<i>Candida frigida</i>	<i>Leucosporidium frigidum</i>
	<i>Candida gelida</i>	<i>Leucosporidium gelidum</i>
	<i>Candida nivalis</i>	<i>Leucosporidium nivalis</i>
	<i>Candida scotti</i>	<i>Leucosporidium scotti</i>
<i>Metschnikowia reukoufii</i>	<i>Candida reukoufii</i>	
<i>Pichia fermentans</i>	<i>Candida lambica</i>	
<i>Pichia guilliermondii</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	
<i>Pichia membranaelociens</i>	<i>Candida valida</i>	
<i>Pichia norvegensis</i>	<i>Candida norvegensis</i>	
	<i>Rhodotonula minuta</i>	<i>Rhodosporidium dacryoidum</i>
	<i>Rhodotonula glutinis</i>	<i>Rhodosporidium diobovatum</i>
<i>Saccharomycopsis lipolytica</i>	<i>Candida Lipolitica</i>	

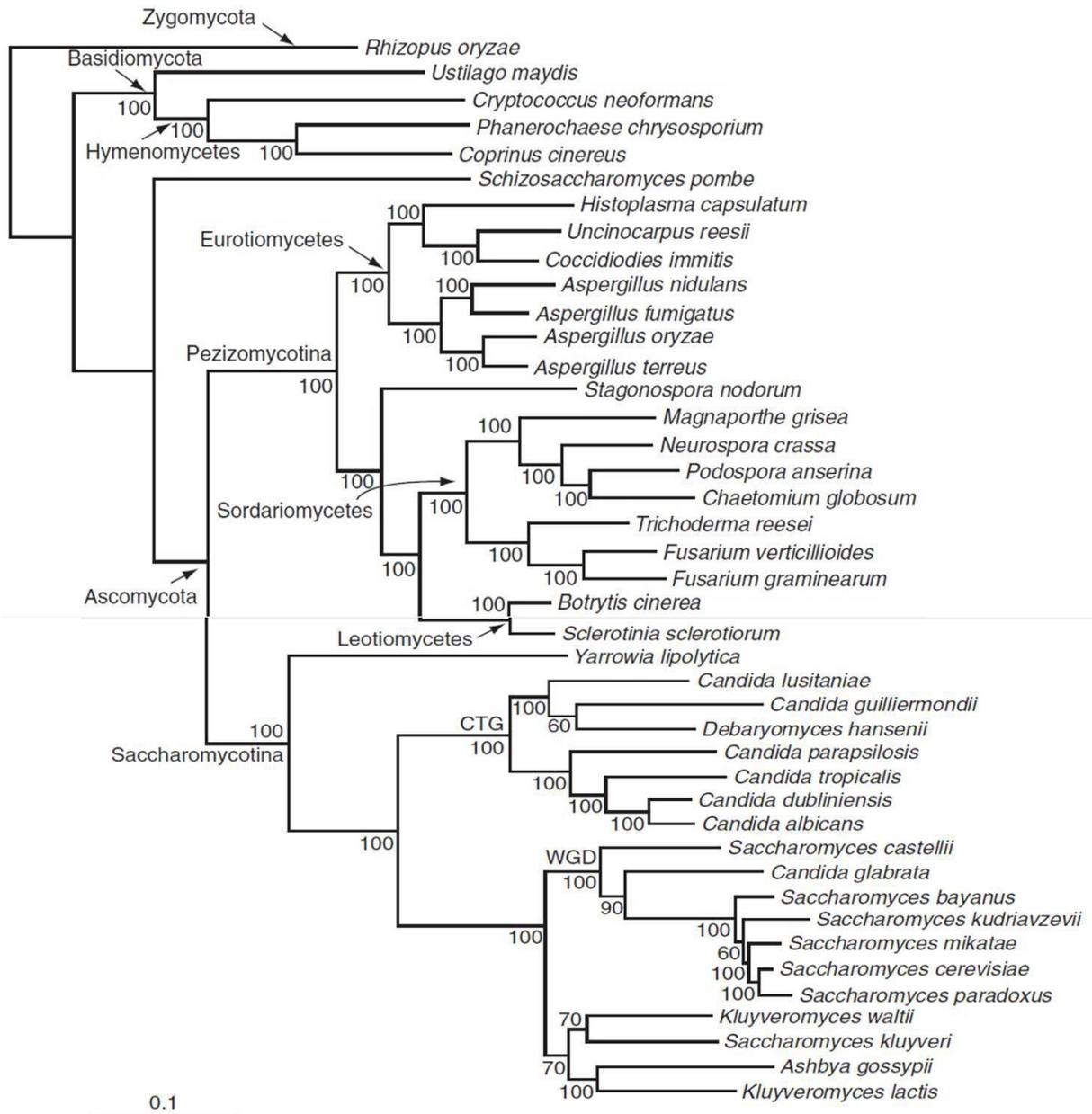


Figure 11: La phylogénie fongique basée sur 42 génomes complets. Ascomycota, Basidiomycota et Zygomycota constituent trois des quatre phylums fongiques et sont présents comme des clades monophylétiques (Fitzpatrick et *al.*, 2011).

7. Méthodes d'identification des levures

L'identification des levures peut être évaluée par un ensemble de méthodes basées sur des caractéristiques phénotypiques et génotypiques.

7.1. Méthodes phénotypiques

Les méthodes phénotypiques incluent toutes les techniques ne faisant pas appel aux acides nucléiques et reposent sur la détermination des caractéristiques morphologiques, biochimiques et physiologiques des levures via des techniques standardisées (Kurtzman et *al.*, 2011).

Les critères morphologiques fournissent des renseignements concernant les caractéristiques sur la forme de la cellule levurienne et l'aspect des colonies observées sur la boîte de culture (taille, forme, couleur, état de la surface). Les principales méthodes biochimiques sont basées sur la détermination de l'activité de différentes enzymes caractéristiques de certaines espèces de levures (Bennamoun, 2017). L'étude des caractères physiologiques couramment utilisés pour l'identification sont les suivants : fermentation de sept à huit glucides, croissance sur diverses sources de carbone et d'azote, détermination des besoins en vitamines, croissance à diverses températures, croissance sur des milieux à forte teneur en sucre ou en chlorure de sodium, test d'hydrolyse de l'urée et de résistance aux antibiotiques (Kurtzman et *al.*, 2011).

Les caractéristiques phénotypiques classiques sont toujours admises comme étape primordiale pour la description et l'identification des souches d'une même espèce (Marcellino et *al.*, 2001).

7.2. Méthodes génotypiques

L'apparition de la biologie moléculaire a permis de comprendre que les méthodes d'identification des micro-organismes fondées sur les phénotypes des différents individus n'étaient pas toujours faibles, car les résultats pouvaient varier dans le temps. Plusieurs techniques ont donc été développées pour discriminer et /ou identifier les microorganismes par l'analyse de l'ADN (Turner, 2000) ou d'ARN, soit au niveau de l'ensemble du génome, soit en ciblant certains fragments bien définis. Parmi les techniques appliquées le séquençage de la région D₁/D₂ du gène de l'ARNr 26S et de la région ITS (Bennamoun, 2017).

8. Applications des levures en biotechnologie

Au cours des dernières décennies, des recherches importantes ont été entreprises sur les capacités des enzymes à être appliquées industriellement : forte thermostabilité et reproductibilité dans le temps par le biais de la biotechnologie, la biochimie et la microbiologie qui assurent une maîtrise hautement qualifiée, répondant aux besoins industriels, industrie agro-alimentaire ou pharmaceutique (Dali et Hamame, 2016).

Les levures sont actuellement en tant qu'usine cellulaire, sont les sources les plus exploitées dans une large gamme d'applications industrielles biotechnologiques (Zamouche et Nedjar, 2018). En raison de leur thermorésistance avérée et leur caractère non pathogènes GRAS (Generally Recognised As Safe) (Benamoun, 2017).

8.1. Utilisation des levures pour la production des boissons alcoolisées

Le rôle le plus ancien des levures est la fabrication des boissons alcoolisées. Cette fabrication repose sur la fermentation alcoolique qui consiste à transformer les sucres simples en alcool. Ainsi, elles interviennent au cours de la vinification et de l'élaboration de la bière (Béguin et *al.*, 2008). La levure *Saccharomyces cerevisiae*, est la plus utilisée (Leveau et Bouix, 1993).

8.2. Utilisation des levures pour la panification

La levure de boulangerie est caractérisée par le fait qu'elle est composée de cellules vivantes de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. Le pain traditionnel correspond au produit résultant de la cuisson dans un four d'une pâte pétrie et composée uniquement de farines panifiables, en mélange ou non d'eau potable et de sel de cuisine. Cette pâte est fermentée par des agents de fermentation autorisés, employés simultanément ou non : levure de panification, levain. On ajoute éventuellement des additifs ou adjuvants dont l'emploi est limité et autorisé (Larpen, 1992).

8.3. Affinage des fromages

Les levures contribuent de manière significative au processus d'affinage des fromages (Lamarche, 2019). Dans la fabrication d'un fromage, l'action des levures commence dès les premières heures de l'égouttage et se poursuit pendant tout l'affinage (Mansour, 2009). Ces souches *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus* et *Yarrowia lipolytica* sont essentiellement actifs de la phase d'affinage des fromages affinés (Vignola, 2018). Elles contribuent au développement des qualités organoleptiques du fromage par leurs contributions aux phénomènes tels que la protéolyse, la lipolyse, la consommation d'acide lactique et la fermentation du lactose (Addis et coll, 2001).

8.4. Utilisation des levures pour la production d'alcools industriels

Depuis quelques temps, une nouvelle utilisation des levures est apparue. Les levures, essentiellement des souches du genre *Saccharomyces*, grâce à leur haute capacité fermentaire, peuvent assurer la bioconversion de nombreux substrats saccharosés (jus de betteraves, sirop, mélasse de sucrerie) en bioéthanol (Zamouche et Nedjar, 2018).

8.5. Production d'enzymes et de protéines recombinantes

Les levures constituent une des importantes sources d'enzymes commerciales en raison de leurs capacités polyvalentes et de la frugalité de leurs exigences permettant, d'obtenir une biomasse importante à prix bas (Pol, 1996). Les levures peuvent assurer la production de diverses protéines recombinantes utilisées en thérapie (tableau 7). Le marché de ce type de protéines est en nette progression, il peut atteindre plus de 20 milliards de dollars à l'horizon 2020 (Gaëlle Fleitour, 2012). Les enzymes digestives et leur utilisation en bio-industries sont très développées, et les levures sont concédées comme des usines potentielles de ces enzymes (tableau 8). Selon Morvan, (2010), à l'horizon 2015, les lipases occupèrent 38,5 %, suivi par les amylases 30,5 % du marché européen des enzymes utilisées dans les applications alimentaires.

Tableau 7: Quelques enzymes et protéines recombinantes synthétisées par des levures utilisées en thérapie.

Types d'enzymes	Code	Levures utilisées	Pathologie à traiter	Références
β-glucosidase	EC 3.2.1.21	<i>Clavispora lusitaniae</i>	Maladie de Gaucher	(Lamers et al., 2016 ; Regenboog et al., 2016)
Glucose-6-phosphate Déshydrogénase (G6PD).	EC 1.1.1.49	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Le favisme	(Loiudice et al., 2001)
Lipases	EC 3.1.1.3	<i>Candida lipolytica</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Aide digestive	(Sikandar et al., 2010 et Deive et al., 2003)
Protéines vaccins	-	<i>Sporidiobolus</i>	Prévention des infections	(Bitter et al., 1984 ; Blin, 2002)
Hémoglobine	-	<i>Pichia pastoris</i>	Anémie Thalassémie	(Huaxin et al., 2007)

Tableau 8: Quelques enzymes industrielles produites par les levures (Dali et Hamame, 2015 ; Bennamoun, 2017).

Enzymes	Code	Type de liaison hydrolysée	Levures	Industrie
Amylase	EC 3.2.1.1	α 1-4 endogène	<i>Lipomyces starkey.</i> <i>Schwanniomyces castelli.</i> <i>Aureobasidium pullulans.</i>	Préparation des aliments, textile, papeterie, Pharmacie. Saccharification de l'amidon, panification
Estérase	EC 3.1.1.73	Il hydrolyse les liaisons entre les fractions d'acide uronique du xylane et le polymère de lignine	<i>A. Pullulans.</i>	Applications alimentaires et pharmaceutiques, industrie chimique production de carburants.
β-galactosidase	EC 3.3.1.23	β-1-4 du lactose	<i>Saccharomyces sp.</i>	Applications alimentaires

Lactase	EC 3.2.1.108	Hydrolyse la liaison β (1-4) du lactose en galactose et glucose	<i>Candida pseudotropicalis.</i>	Préparation des aliments laitiers
Lipase	EC 3.1.1.3	Hydrolyse les liaisons sn1 et sn3 des triacylglycéros.	<i>Candida lipolytica.</i> <i>Candida rigosa.</i> <i>Saccharomycopsis Lipolytica.</i> <i>Pseudozyma antarctica.</i> <i>Trichosporon Fermentum.</i> <i>Yarrowia lipolytica.</i>	Préparation des aliments Thérapeutique Aromes Dégraissage, biorestauration Thérapeutique, détergents
Protéase	EC3.4.21 .X EC3.4.22 .X EC3.4.23 .X EC3.4.24 .X	catalysent l'hydrolyse des protéines.	<i>A. pullulans</i> <i>Candida Debaryomyces.</i> <i>Saccharomyces cerevisiae.</i>	Brasserie, panification, domaine médical et pharmaceutique, industrie chimique, affinage des fromages.
Phénylalanine Ammonialyase	EC 4.3.1.24	Catalyse la conversion de l'acide aminé phénylalanine en acide cinnamique, avec libération d'ammoniac(NH3).	<i>Rhodotorula sp.</i> <i>Rhodosporidium sp.</i>	Pharmaceutique

9. Les levures en tant que probiotiques

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), les probiotiques sont des microorganismes vivants qui ont un effet bénéfique sur la santé de l'hôte lorsqu'ils sont ingérés. Ces micro-organismes peuvent être autochtones ou allochtones, la première catégorie apparaît par le contact de la nouveau-née avec le microbiote de la mère et la seconde comprend les micro-organismes qui ont incorporés dans le système digestif par l'alimentation (Lara-Hidalgo et al., 2017). De nombreux organismes différents sont utilisés comme probiotiques tels que la levure, sont les plus couramment utilisés dans les produits probiotiques. *Saccharomyces boulardii* et

Saccharomyces cerevisiae sont des exemples de certaines levures commercialisés disponible comme produit probiotique (Azharat et Munaim, 2019), *S. boulardii* une levure non pathogène, isolée pour la première fois de litchi en Indochine dans les années 1950 et a depuis utilisée à la fois comme agent préventif et thérapeutique pour le traitement d'une variété de maladies diarrhéiques (Lourens-Hattinghey et Viljoen, 2001).

Des levures probiotiques efficace doit présenter certains critères tels que la sécurité, la viabilité et la capacité de survie dans le tractus gastro-intestinal. De plus, possédant une activité antimicrobienne contre les microbes pathogènes et la capacité d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales sont d'autres caractéristiques nécessaires pour chaque souche probiotique isolée (Azharat et Munaim, 2019).

9. 1. Activité hémolytique des levures

L'hémolyse sur gélose au sang est largement utilisée comme outil de dépistage pour identifier et étudier les micro-organismes pathogènes (Atanassova et *al.*, 2015). L'activité hémolytique est un facteur de virulence présenté par micro-organismes pathogènes qui permettent la croissance de l'hôte en utilisant plusieurs protéines se liant au fer comme source de fer (Linares et *al.*, 2007).

Les levures ne présentent généralement pas d'activité hémolytique sur de la gélose au sang préparée avec des milieux basaux sans glucides (gélose nutritive ou gélose trypticase au soja).

Néanmoins, une hémolyse attribuée à une mannoprotéine sécrétée a été rapportée chez des espèces de *Candida* cultivées sur sang gélose enrichie en glucose ou maltose (Atanassova et *al.*, 2015). Luo et coll, (2001) ont rapporté que de nombreuses espèces de *Candida* présentent deux différents types d'hémolysines appelées alpha et bêta hémolysine. La Production d'hémolysines par *Candida albicans* détruit l'hémoglobine dans les érythrocytes et obtenir du fer élémentaire (Oufi et *al.*, 2020).

9.2. Activité antioxydant des levures

Le lait contient naturellement des composants qui ont des capacités antioxydantes, comme la caséine, la lactoferrine, les vitamines et certains flavonoïdes. La caséine de lait (caséine α , caséine β et caséine K) et la lactoferrine sont capables d'inhiber la

peroxydation lipidique (Gutteridge et *al.*, 1981 ; Cervaro et *al.*, 1999). La vitamine E, la vitamine C et les caroténoïdes sont des capteurs de radicaux non enzymatiques (Burini, 2009). Certains flavonoïdes agissent comme antioxydants qui jouent un rôle dans le piégeage radicalaire et la liaison des ions métalliques (Lindmark-Mansson et Akesson, 2000). La transformation du lait en produits fermentés fournit des nutriments bénéfiques (Adolfsson, et *al.*, 2004 ; Satir et Guzel-Seydim, 2016), augmente l'activité antioxydante (Balakrishnan et Agrawal, 2014), inhibe l'oxydation et diminue la peroxydation lipidique, en plus d'abaisser le rapport redox du glutathion (Ebringer et *al.*, 2008). Pendant la fermentation, le lait peut produire des peptides bioactifs possédant une activité antioxydante (Fitzgerald et Murray, 2006).

La levure joue un rôle dans la fermentation laitière continue de progresser favorablement. La croissance des levures dans les produits fermentés fournit des composants de saveur (Fleet, 1990), grâce à l'utilisation de lactose ou de métabolites des bactéries lactiques (LAB) (Fleet et Mian, 1987 ; Roostita et Fleet, 1996). L'interaction entre bactérie lactique et levure entraîne une baisse du pH et maintient la stabilité du LAB viable (Lourens-Hattingh et *al.*, 2003). La présence de levure peut également augmenter l'activité antioxydante des peptides de lait liés au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) et à l'élimination des radicaux hydroxyles (Lin, 2015). De plus, le β -carotène, produit à la suite du métabolisme des levures, peut également agir comme antioxydant (Jakobsen et Narvhus, 1996 ; Fitrotin et *al.*, 2015).

10. Activité antimicrobienne des levures

10.1. Généralités

Bien que les antibiotiques et les bactériocines ont été découverts dans la première moitié du vingtième siècle, il a fallu attendre les années soixante pour qu'un principe équivalent soit mis en évidence chez les levures (Pommier, 2003). C'est ainsi, en 1963 que Bevan et Makover furent les premiers, à constater que certaines souches de *Saccharomyces cerevisiae* pouvaient tuer d'autres levures de la même espèce (Bevan et Makover, 1963). Ils supposèrent que ces levures « tueuses » ou « killer » émettaient une toxine entraînant la mort des souches y étant sensibles et déterminèrent ainsi trois phénotypes pour un système « Killer ».

- Killer (k) : la souche produit la toxine et y est résistante.

- Neutre (N) : la souche ne produit pas la toxine et y est résistante.
- Sensible (S) : la souche ne produit pas la toxine et y est sensible.

Cet effet, est définit le phénomène « killer » et la substance, est nommée « la toxine killer » (Izgu et *al.*, 2004 ; Polonelli et Conti, 2009). Ce phénotype n'est pas limité au genre *Saccharomyces*. Il se trouve également chez d'autres levures comme *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Kluveromyces*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Torulopsis*, *Ustilago*, *Williopsis* et *Zygo saccharomyces* (Kurtzman, 1984 ; Polonelli et Morace, 1986 ; Schmitt et Breinig, 2002).

Les levures killer se caractérisent par la production et la sécrétion dans le milieu, de substances de natures protéiques ou glycoprotéiques (Schmitt et Reiter, 2008), appelées protéines ou toxines killer (Wickner, 1986 ; Radler et Schmitt, 1987) ; ayant une action létale sur les souches de levures sensibles de la même espèce ou d'autres espèces (Bussey et *al.*, 1990 ; Wikner, 1996) sans contact direct de cellule à cellule (interaction indirecte) (Pommier, 2003). Ces substances peuvent exercer des effets antibactériens et antifongiques (Suzzi et *al.*, 1995 ; Magliani et *al.*, 1997). En effet, plusieurs rapports suggèrent que les toxines killer des levures montrent une activité contre les bactéries, mais on sait très peu sur le mode d'action des antibactériens des levures killer (Ochigava et *al.*, 2010). Il a été établi que la production de toxines peut constituer un grand avantage, en cas de compétition avec des souches sensibles dans les conditions de limitation nutritive (Young et Yagiu, 1978 ; Starmer et *al.*, 1987 ; Abranches et *al.*, 1998).

Les levures killer profitent des substances nutritives libérées par les cellules sensibles (Gonzales-Pastor et *al.*, 2003) et peuvent dominer dans quelques temps leurs habitats naturels (Schmitt et Reiter, 2008).

10.2. Applications des levures killer

Les levures killer sont étudiées en vue de leurs exploitations pour des applications potentielles (Lammi, 2011).

- Dans les fermentations industrielles, pour combattre les levures indésirables de contamination (Michalcakova et *al.*, 1993).

- Le contrôle biologique de levures qui perturbent la conservation des produits alimentaires (Lowe et *al.*, 2000).
- Nouveaux agents antimicrobiens dans le traitement d'infections humaines et animales (Buzzini et *al.*, 2004 ; Xianghong et *al.*, 2007).
- Les propriétés antifongiques et antilevuriennes des protéines killer, leur confèrent également des potentialités dans le domaine de la protection et du traitement des infections par des organismes pathogènes ; en particulier contre la levure *Candida albicans* (Walker et *al.*, 1995).

Matériel
et
Méthodes

1. Échantillonnage

L'aire de répartition géographique du dromadaire se situe aux niveaux des zones semi-arides et arides jusqu'au plein désert, notre échantillonnage qu'est en totales de trois échantillons de laits crus de chamelle ont été collectés à partir de trois fermes dans la région de Ghardaïa (Souarg, Metlili El-Jadida et Sabsabe). Les échantillons provenant de la traite du matin ont été prélevés à deux jours successifs. L'échantillonnage a été réalisée dans des conditions d'aseptique bien contrôlées après le choix au hasard de la chamelle dont sa race est connue, sont pis est lavé avec l'eau de javel diluée, puis avec l'eau propre pour enlever les résidus de l'eau de javel, les premières gouttes du lait sont éliminées afin de diminuer le nombre des bactéries présentes dans le canal de chaque trayon ensuite le prélèvement. A partir de chaque ferme nous avons prélevé deux (2) échantillons l'un vient directement à la mamelle de la chamelle et l'autre après avoir la collection de lait individuel dans le récipient global de la traite. Les différents échantillons mis dans des flacons en verre stériles ont été envoyé le même jour au laboratoire dans une glacière mener avec des glaçons afin de les garder à 4°C et les analyses physicochimiques et microbiologiques ont été effectuées après 24h.

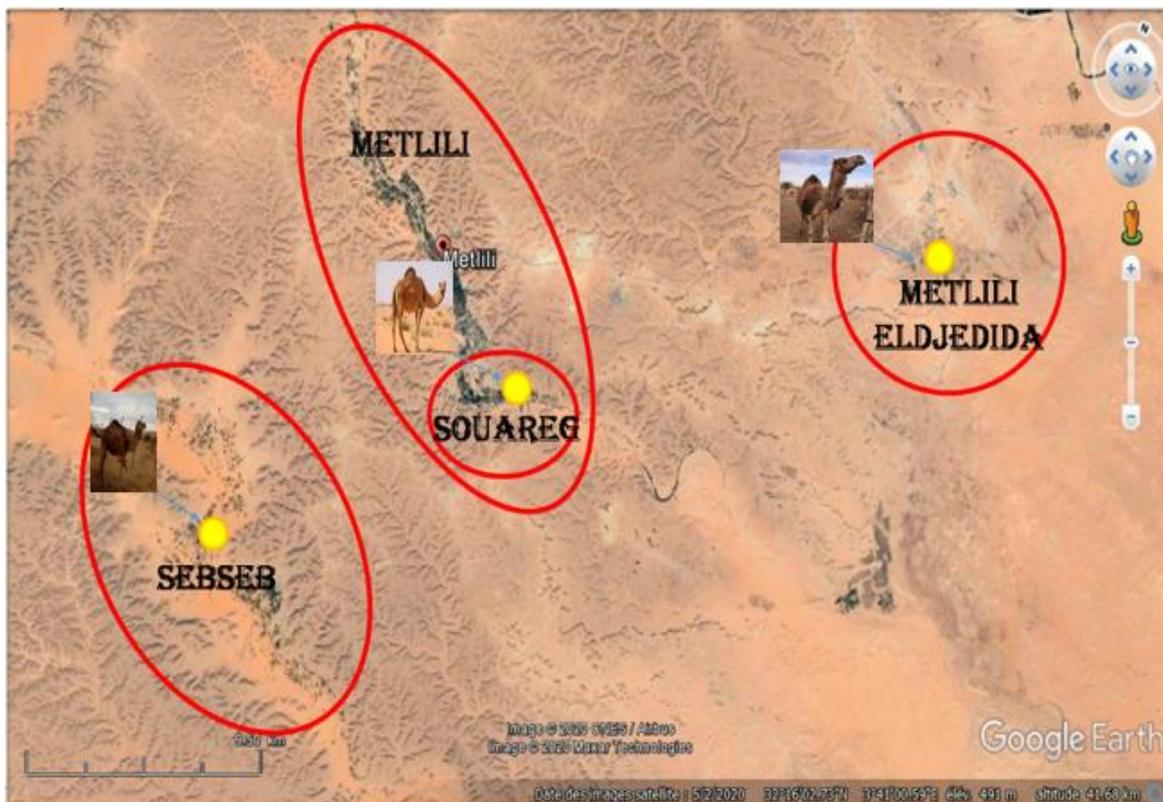


Figure 12: Populations camelines choisies pour l'échantillonnage du lait cru.

Tableau 9: Caractéristiques des échantillons prélevés.

N° d'échantillon	Date de collecte	Région	T°C de jour	Saison	La race	Mode d'élevage	Nutrition
E1	11/2/2020	Souarg	11°C	Hiver	Targia	Intensif	<i>Medicagosativa.</i> <i>HordeumVulgare.</i> <i>Zea mays.</i> <i>Cymbopogon martini.</i>
E2	12/2/2020	MetliliEl Jadida	6°C	Hiver	Arbia	Semi-intensif	<i>Atemisia.</i> <i>Hordeumvulgare.</i> <i>La datte.</i> <i>Ephedra.</i> <i>Grewiatenax.</i> <i>AristidaPungens.</i>
E3	12/2/2020	Sabsabe	8°C	Hiver	Elsafrachambia	Semi-intensif	<i>Aristidapungens.</i> <i>Hordeumvulgare.</i> <i>Cymbopogonmartini.</i> <i>Haloxylonscoparium.</i>

2. Analyse physicochimique

Afin d'avoir une idée sur la qualité des laits collectés, certains paramètres physico-chimiques ont été évalués.

2.1. La mesure du pH

La mesure du pH qui s'effectue à une température du lait à 20°C sur un pH-mètre de type ADWA. Un volume de 10ml du lait cru est mis dans un bécher, le bout de l'électrode du pH-mètre est immergé dans le lait. La valeur du pH s'affiche instantanément sur l'écran.

2.2. La mesure de l'acidité titrable

Elle est réalisée selon la Norme Française 04-206 (Janvier 1969). Elle correspond à la neutralisation de l'acidité totale par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) de titre N/9, en présence d'un indicateur coloré la phénolphtaléine (solution à 1% dans l'éthanol à 95%). Un échantillon de 10ml de lait est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 3 gouttes de phénolphtaléine, comme indicateur coloré indiquant la limite de la neutralisation. Le NaOH est ajoutée à la burette, on agiter jusqu'au virage de l'échantillon à la couleur rose pâle. La valeur de l'acidité du lait est obtenue par la formule suivante :

$$A=10(V/V') \text{ (g/l)}.$$

A : quantité d'acide lactique en (g/l).

V : volume de la solution de NaOH utilisé (ml).

V' : volume de l'échantillon (ml).

Pour obtenir l'acidité titrable en degrés dornic (°D), la valeur de A est multipliée fois 10.

3. Analyses microbiologiques

Le lait est un aliment d'origine animale renferme inévitablement des microflores normalement associées aux sols aux plantes et aux animaux. Vu que le lait est un aliment destiné à la consommation humaine, le dénombrement des microorganismes est obligatoire, puisque certains peuvent être l'origine des maladies infectieuses, des toxi-infections alimentaires.

Ces analyses permettent d'avoir une idée sur le taux de population levurienne du lait de chamelle. Elle comporte le dénombrement et/ou la recherche de la microflore levurienne.

3.1. Fermentation de lait

La fermentation de lait est un phénomène naturel, utilisé depuis des milliers d'années comme système de conservation, il s'agit la transformation de matière organique par des ferments (bactéries, levures, et moisissures) qui conduit à la modification des propriétés organoleptique du lait. Pour réaliser une fermentation du lait de chamelle

au laboratoire, on transfère 5ml de chaque échantillon dans des tubes à essai stérile, puis incubé dans une étuve à 30°C pendant 5jour.

3.2. Dénombrement des levures

La recherche de la concentration de la flore levurienne présente dans le lait de chamelle se fait par l'ensemencement des deux types du lait de chamelle (cru et fermenté). Un ml de chaque échantillon est introduit dans 9ml d'eau physiologie peptoné stérile. A l'aide d'un agitateur vortex, les solutions sont ensuite agitées pendant 5min. A partir de ces solution mère nous avons préparé une série de dilutions décimales de 10^{-1} jusqu'à 10^{-7} .

Dans l'ensemencement nous avons procédé comme suivant :

- On coule un volume de 20ml du milieu YEPGC agar (Annexe1) dans des boites de pétri stériles. La solidification des boites et le séchage a été réalisé à la température ambiante.
- On étale en surface à l'aide d'un râteau 100 µl de l'inoculum prélevé de la dilution voulue sur deux boites du milieu YEPGC agar (figure 13).
- Finalement, on incube les boites inversées dans l'incubateur à 30°C pendant 3 à 7jours.

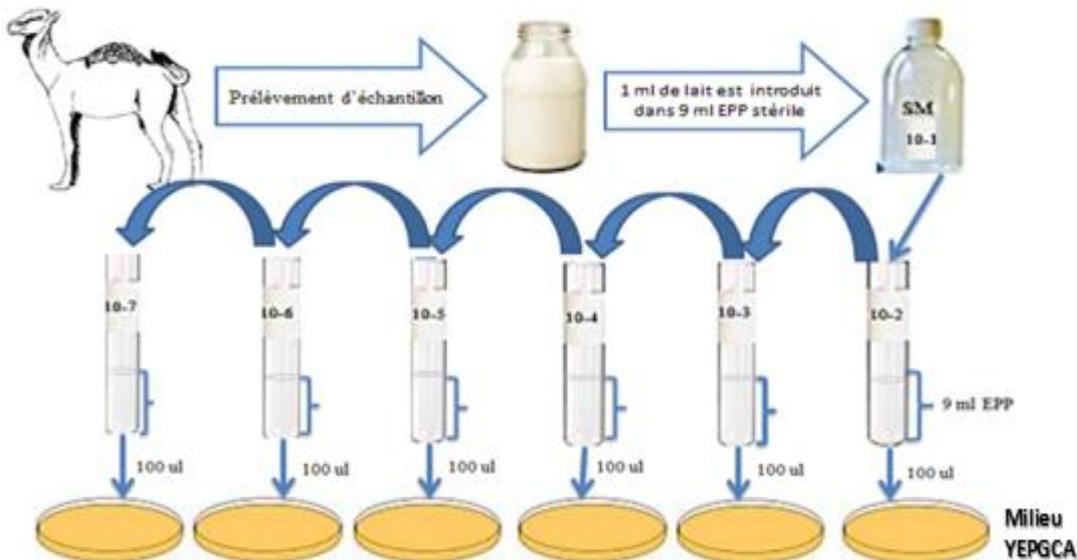


Figure 13: schéma explicative montre le processus de la dilution et l'ensemencement.

Après l'incubation, on compte les colonies ayant poussé, le dénombrement a été effectué à l'aide d'un compteur de colonies (Bio Cote®) pour pouvoir identifier le nombre des colonies dans chaque boîte de Pétri, en tenant compte uniquement les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies. La concentration levurienne est exprimé Unité Formant Colonie (UFC) par ml à l'aide de la formule mathématique suivante :

$$[N] = \frac{\sum c}{(n1 + 0.1n2)d.V}$$

$\sum C$: La somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues.

V : le volume inoculum appliqué à chaque boîte.

n1 : Le nombre de boîtes retenues à la première dilution.

n2 : Le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.

d : le taux de dilution de la première dilution retenue pour les comptages sur boîte.

Les colonies isolées sont observées sous microscope optique au grossissement x40. Certaines levures sont relativement petites, donc le passage au grossissement x100 avec l'huile à immersion, pour vérifier la morphologie et l'homogénéité des cellules.

3.3. Isolement des levures

L'isolement des levures a été effectué à partir des boîtes de dénombrement des levures. Les propriétés du milieu YEPG agar au chloramphénicol, nous permet d'obtenir des boîtes contenant des colonies de levures plus au moins pures car :

- ✓ Le chloramphénicol est un antibiotique de la famille des phénicoles à large spectre, qui nous permet d'inhiber la croissance bactérienne.
- ✓ Le pH acide du milieu $5,4 \pm 0,2$ faisant prédominer les levures et ne favorise pas la croissance des bactéries.

Après une constatation visuelle des aspects culturels sur le milieu de culture solide, on a sélectionné les colonies bien isolées. Les isolats des levures sont repiqués dans des tubes contenant le bouillon liquide (YEPG) qui a servi comme une pré-culture pour la purification.

3.4. Purification des levures isolées

La purification des isolats se fait par stries d'épuisement sur milieu YEPG agar. L'incubation est réalisée à 30°C pendant 72 h. Les aspects macroscopiques et microscopiques sont ensuite examinés afin de vérifier la pureté de la souche.

3.5. La conservation des isolats

3.2.1. Conservation à court terme

A fin de conserver nos souches pour les prochaines testes nous avons préparé des pré-cultures de chaque isolat dans le bouillon liquide (YEPG), une fois les levures sont bien poussée on les ensemence dans des tubes à essais contenant le milieu YEPG solide incliné, ce milieu contient le glucose comme seule source de carbone, cela peut réduire le risque de modification de mode de la croissance (Scheda et *al.*, 1966). Les tubes sont ensuite stockés à une température de 4°C. Les cultures restent en vie dans un intervalle d'environ 4 mois.

4. Identification des levures selon les méthodes conventionnelles

L'identification des levures selon les méthodes conventionnelles est basée sur l'étude des caractères cultureux et morphologiques (macroscopiques et microscopiques) et biochimiques (Kurtzman et *al.*, 2011).

4.1. Étude des caractères cultureux (macroscopiques)

L'aspect des cultures ou des colonies des levures a été étudié sur les milieux gélosés YEPG. Après l'incubation pendant 3 jours à 30°C, une observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies (taille, pigmentation, contour, viscosité).

4.2. Étude des caractères morphologiques (microscopiques)

Cette étude a pour le but d'examiner la morphologie cellulaire telle que la forme et la taille des levures, et leur mode de reproduction végétative. L'examen est réalisé à l'état frais sous microscope optique au grossissement x 40 et x 100 avec l'huile à immersion, les frottis ont été préparés à partir de colonies fraîches bien isolées sur milieu YEPG agar.

4.2.1. Test de filamentation

L'aptitude à la filamentation est observée à partir d'une culture sur milieu RAT (Annexe 1) en boîte de Pétri. La levure à examiner est ensemencée en une strie longitudinale à la surface du milieu gélosé. L'observation microscopique (G X 100) se fait après 3 à 5 jours d'incubation à 30°C. La bordure de la cellule, si la levure filamentée, la nature de mycélium (pseudomycélium ou vrai mycélium), son abondance, sa ramification sont notées (Kurtzman et *al.*, 2011).

4.2.2. Test de sporulation

La sporulation est observée à partir d'une culture sur milieu de gélose au riz supplémenté avec 1% de Tween 80 (RAT) en boîte de pétri. Les levures sont ensemencées à la surface du milieu, puis incubés pendant 10 jours à 30 °C et observées au microscope optique à l'état frais (GX 100). Si les levures sont capables de faire une reproduction sexuée, elle forme des asques, le nombre et la forme des ascospores, leur position, sont notés (Kurtzman et *al.*, 2011).

4.3. Études des caractères biochimiques

L'identification biochimique des levures est réalisée par la micro méthode en utilisant la galerie API 20C AUX qui permet une bonne l'identification des levures alimentaires.

❖ Composition de la galerie

L'Api 20 C AUX est composée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés, permettent de réaliser 19 tests d'assimilation miniaturisée. Le 20^{ème} test est celui de la morphologie réalisée sur le milieu RAT.

❖ Préparation, inoculation et incubation de la galerie

Ces manipulations ont été réalisées en respectant les instructions du mode opératoire du fabricant. A partir d'une culture jeune (18 à 24h) de levure sur milieu YEPG agar. Ensuite, les suspensions de levure étaient préparées en NaCl 0,85% (p / v) jusqu'à une turbidité similaire à celle du tube 2 de McFarland.

- On transfère 185 µl de la suspension préparée dans une ampoule d'API 20C Medium.

- On remplit les cupules avec la suspension obtenue dans API 20C Medium. On évite la formation de bulles en posant la pointe de la pipette sur le côté de la cupule. On veille à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects. Les galeries sont ensuite incubées à 30°C pendant 48 à 72h dans des boîtes d'incubation marquées par la référence de la souche à identifier et contenant d'eau distillée ou déminéralisée pour créer une atmosphère humide.

❖ **Lecture et interprétation**

Après 48 heures d'incubation, on observe la croissance des levures comparativement à la cupule 0, témoin négatif. Une cupule plus trouble que le témoin indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

A partir des résultats obtenus le profil d'assimilation de la souche est converti à un profil numérique composé de 7 chiffres, pour l'identification finale de la souche à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique, ou l'utilisation du logiciel format Excel ou celui de apiweb™, <https://apiweb.biomerieux.com/login>.

5. Les caractéristiques biotechnologiques

5.1. Activité hémolytique

L'activité hémolytique de levures a été déterminée par une strie de colonie sur plaque de gélose au sang TSA. Consistant en gélose tryptone soja complétée par 5% de sang humain. La plaque a été incubée à 30 C° pendant 48 h. La présence d'un halo translucide distinct autour de colonie indique une activité hémolytique positive.

5.2. Mise en évidence des activités enzymatiques

La production d'enzymes est recherchée qualitativement sur un milieu solide, les enzymes à étudiée sont des enzymes protéolytique et lipolytique.

5.2.1. Détermination de l'activité protéolytique

La mise en évidence de l'activité protéolytique des souches isolées est testée sur un milieu lait écrémé – Agar (Annexe1). On dépose 10 µl d'inoculum de la suspension de chaque isolat de levures sous forme de spots à la surface du milieu gélosé. Après 3 à 5

jours d'incubation à 30°C. La formation de zone claire autour des colonies indique la présence de la protéase (Bennamoun, 2017). Ensuite, la largeur (d) de La zone claire autour des colonies a été mesurée. Le niveau d'activité protéolytique, ont été signalées comme suit : aucune (0) ; faible ($d < 2$ mm) ; moyenne ($2 \text{ mm} \leq d < 10$ mm) ; et élevé ($d \geq 10$ mm).

5.2.2. Détermination de l'activité lipolytique

5.2.2.1. Activité estérase

La recherche de l'activité estérase est réalisée sur le milieu Peptone Tween 80-agar (Annexe 1). On dépose un inoculum de 10 µl de la suspension chaque isolat de levure en spots à la surface de la gélose. Incuber les boîtes de pétri à 30°C pendant 3 à 5 jours. L'apparition d'un halo opaque autour des colonies traduit la production de l'estérase (Kumar et al., 2012). Ensuite, la largeur (d) de La zone opaque autour des colonies est mesurée. Le niveau d'activité estérase, est signaler comme suit : aucune (0) ; faible ($d < 2$ mm) ; moyenne ($2 \text{ mm} \leq d > 10$ mm) ; et élevé ($d \geq 10$ mm).

5.2.2.2. Activité lipase

La recherche de l'activité lipase est réalisée sur le milieu gélose tributyrine (Annexe 1). On dépose un inoculum de 10 µl de la suspension chaque isolat de levure en spots à la surface de la gélose. Incuber les boîtes de pétri à 30°C pendant 3 à 5 jours. L'activité lipase se distingue par la formation d'anneau clair autour des colonies (Buzzini et Martini, 2002). Ensuite, la largeur (d) de La zone claire autour des colonies est mesurée. Le niveau d'activité lipase, est signaler comme suit : aucune (0) ; faible ($d < 2$ mm) ; moyenne ($2 \text{ mm} \leq d > 10$ mm) ; et élevé ($d \geq 10$ mm).

5.3. Activité antimicrobienne des levures

Les propriétés inhibitrices des surnageant de culture de la Souche *Candida kefyr* est évaluée par rapport à différents bactéries Gram négatives et Gram positives : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, ont également été testés. La souche de *C.kefyr* est été cultivée dans le bouillon YEG pendant 48 h à 37 °C avec agitation (160 tours/minute). Surnageant de culture (CS) est été obtenus par centrifugation à 6 000 g pendant 10 minutes à 4 °C, et stocké à cette même température pendant une au maximum 2 jours avant l'utilisation. Un ml de suspension de la souche cible dans Bouillon Mueller Hinton (MH) (Annexe 1), a été inondé sur

des plaques de gélose MH (Annexe 1). Après avoir séché les plaques à température ambiante pendant < 20 min, des puits de ~6 mm ont été réalisés avec des embouts de pipette stériles dans chaque plaque, et rempli de 50 µl de CS. Après 2 h d'incubation à 4 °C, permettant la diffusion de CS, les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 48 h. Dans toutes ces expériences, la présence ou l'absence de zones d'inhibition était visuellement déterminée (Ider et *al.*, 2020).

Remarque :

Nous n'avons pas pu réaliser l'expérience de l'activité antimicrobienne et l'activité lipolytique, en raison la propagation du virus Covid 19 dans le monde qui nous a empêché d'accéder au laboratoire pour assurer le confinement.

Résultats
et
Discussion

1. Analyse physicochimique

Après l'évaluation des paramètres physicochimiques. Le tableau ci-dessous récapitule les différents résultats des analyses physicochimiques des échantillons du lait de chamelle.

Tableau 10: résultats des analyses physicochimiques des échantillons du lait de chamelle.

Paramètres Physicochimiques Origine et type Echantillons		pH		Acidité dornic (°D)	Qnt d'acide lactique (g/l)
		Lait cru	Lait fermenté	Lait cru	Lait cru
E1(Souarg)	D	6.60	4.42	15	1.5
	I	6.50	4.22	15	1.5
E2 (Metlili El-Jadida)	D	6.81	4.97	15	1.5
	I	6.85	4.62	15	1.5
E3(Sabsabe)	D	6.70	4.54	24	2.4
	I	6.86	4.25	24	2.4

D : directe ; **I** : Indirecte

Le pH de lait cru de chamelle a été d'une moyenne de 6.72 et d'un écart type de 0.13. Ces valeurs confirment que globalement le pH du lait camelin est légèrement acide, par rapport au lait bovin entre 6.6 et 6.8 (Vierling, 2008) et humaine, pH=7,0 (kamoun, 1998). Nos résultats sont relativement semblables à celles citées dans les travaux de Khaskheli. *et al.*, (2005) qui ont relevé que les valeurs de pH se situant entre 6.57 à 6.97. La variation de la valeur de potentiel d'hydrogène (pH) due au type d'alimentation et de la disponibilité de l'eau. De plus Vignola, (2002) a signalé que le pH du lait dépend principalement de la présence de caséine, des anions phosphoriques et citriques. Par ailleurs, Yagil, (1985) a estimé que le pH du lait camelin peut être attribuable à la richesse de lait en acides organiques divers. Aussi due à la richesse particulière du lait en acide ascorbique (Yagil *et al.*, 1984).

Le pH de lait fermenté de chamelle a été d'une moyenne de 4.50 et d'un écart type de 0.25. Après la fermentation du lait la valeur de pH diminue grâce à la fermentation de lactose en acide lactique qui provoque l'acidification de lait par des microorganismes présents dans le lait.

L'acidité Dornic de lait de chamelle a été d'une moyenne de (1.8 g / L) et d'un écart type de 0.24 soit $18 \text{ }^\circ\text{D} \pm 2.4 \text{ }^\circ\text{D}$.

Les valeurs de l'acidité Dornic obtenues dans cette étude est de 15 °D pour les deux échantillons E1(Souarg) et E2 (Metlili El-Jadida) Nos résultats sont relativement semblables à celles citées dans les travaux de Boussouar, (2017) qui ont relevé que l'acidité Dornic est de (15°D). L'échantillon 3 (Sabsabe) enregistre une acidité dornic égale 24 °D est relativement similaire à celle citée dans les travaux de faye et *al.*, (2008) qui ont évoqué la valeur d'acidité titrable égale 24.04 °D. L'acidité titrable, témoigne l'état de fraîcheur du lait et de sa richesse relative en caséines, phosphates, citrate, hydrogénocarbonate et lactates, varie en sens inverse avec le pH (Siboukeur et *al.*, 2007).

Par conséquent, ces résultats de pH et de L'acidité Dornic, peuvent estimer que le lait des deux échantillons E1(Souarg), E2 (Metlili El-Jadida) sont de qualité hygiénique acceptable, vu que l'acidité globale ne dépasse pas 21 °D (Siboukeur et *al.*, 2007). Par contre l'échantillon E3(Sabsabe) commence à se dégrader.

2. Dénombrement et isolement des levures

L'isolement des levures se fait à partir de 3 échantillons de lait camelin cru et fermenté collectée à partir de trois fermes différentes dans la région de Ghardaïa (Souarg, Metlili El-Jadida et Sabsabe). L'ensemencement des échantillons se fait sur le milieu de culture YEPGA additionné de chloramphénicol à 0.1 g/ l est utilisé pour le dénombrement des levures. Après l'incubation à 30°C pendant 3 jours. Les résultats sont récapitulés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 11: Résultats de l'isolement des levures à partir des échantillons du lait de chamelle.

Origine et type d'échantillons		Lait cru		Lait fermenté	
		Dilution	Présence ou absence des souches	Dilution	Présence ou absence des souches
Souarg	D	10 ⁻² à 10 ⁻⁵	-	10 ⁻³ à 10 ⁻⁵	-
	I	10 ⁻⁴ à 10 ⁻⁷	-	10 ⁻⁴ à 10 ⁻⁶	-
Metlili El-Jadida	D	10 ⁻² à 10 ⁻⁵	-	10 ⁻³ à 10 ⁻⁵	-
	I	10 ⁻⁴ à 10 ⁻⁷	-	10 ⁻⁴ à 10 ⁻⁶	-
Sabsabe	D	10 ⁻² à 10 ⁻⁵	-	10 ⁻³ à 10 ⁻⁵	-
	I	10 ⁻⁴ à 10 ⁻⁷	-	10 ⁻⁴ à 10 ⁻⁶	+

(+) : Préséance des souches et (-) : absence des souches.

L'analyse des résultats montre que sauf l'échantillon du lait de chamelle fermenté collecté à partir de la région de Ghardaïa (Sabsabe) renferme les souches levurienne par rapport aux autres échantillons (Souarg, Metlili El-Jadida) nous avons constaté une absence totale des colonies levuriennes. Ce taux de population levurienne peut être justifié par la diversité des conditions géographique de l'environnement, ainsi que les types d'élevage (intensif, semi intensif, extensif) aussi l'état sanitaire de la mamelle et la chamelle elle-même, l'absence des origines de contamination, le lait n'est pas contaminé par des individus porteurs au moment de la traite. (Boussouar, 2017), les conditions hygiéniques, qui déterminent la qualité du lait de chamelle (Zamouche et *al.*, 2018) et la fermentation favorisé l'augmentation du taux des levures dans le lait.

Les résultats de dénombrement de la flore fongique dans le lait camelin collectés ont révélé que ce lait présente 6.9×10^7 UFC.ml⁻¹ des levures. En effet, les données acquises au dénombrement des levures dans les échantillons du lait camelin montrent que ce résultat ne s'accorde pas avec les travaux de Benkerroum et *al.*, (2003) qui ont estimé que le lait camelin marocain contient de 3.8×10^4 UFC.ml⁻¹, aussi Ider et *al.*, (2019) ont mentionné que le nombre moyen de flore fongique du lait cru de chamelle a été estimé à 3.55×10^2 UFC.ml⁻¹, de même les travaux de Elhassan et *al.*, (2013) ont dénombré que le lait camelin algérienne contient 1.69×10^3 UFC.ml⁻¹ des levures, Njage et *al.*, (2011) ont révélé la présence des levures dans le lait de chamelle (Kenya) de 10^5 UFC.ml⁻¹. Abdelgadir et *al.*, (2008) indique que le nombre de levures dans le Garriss était compris entre 6,05 et 7,79. Ceci peut être interpréter par la diversité de la qualité microbiologique du lait camelin due à la diversité des facteurs l'environnementale, ainsi que le pH normal du lait de chamelle faisant prédominer les bactéries des levures et des moisissures (El- Ziney et *al.*, 2007).

3. Étude des caractères cultureux

3.1. Caractères cultureux sur milieu solide (macroscopique)

L'étude d'aspect macroscopique d'isolat est faite après la purification des colonies isolée sur milieu YEPG agar incubé à 30°C pendant 3j. Nous avons isolé une seule souche levurienne. L'observation macroscopique des cultures montre la présence des colonies rondes d'un diamètre d'environ 0.5 à 2mm, lisse de couleur blanche et d'un contour régulier. Le résultat est résumé dans le tableau ci-dessous.

Tableau 12: les caractères cultureux d'isolat de levure sur milieu YEPGA.

Code de la Souche	Caractères cultureux sur milieu solide	Vue d'ensemble de la boîte
S.L.E 3.I	Forme : circulaire Surface : lisse Couleur : blanche Contour : régulier Profil : élevé Texture : butyreuse La taille : 0.5 à 2mm.	

3.2. Caractères morphologiques (microscopique)

3.2.1. Morphologie cellulaire et mode de reproduction végétative

Après l'incubation d'isolat sur milieu YEPGA à 30°C pendant 3j, un examen microscopique à l'état frais (grossissement x 100) a été réalisé permettant de confirmer la morphologie des souches purifiées et de vérifier leurs modes de reproduction végétative. Cela a montré que la morphologie des cellules est ronde et le type de bourgeonnement chez notre souche est unilatéral. Le résultat est récapitulé dans le tableau ci-dessous.

Tableau 13: La morphologie cellulaire et mode de reproduction végétative des isolats de levures à (G x 100).

Souche	Caractères morphologiques	Photographie microscopique (G x 100)	
		Morphologie cellulaire	mode de reproduction végétative
S.L.E 3.I	Cellules rondes Bourgeonnement unilatéral		

3.2.2. Test de filamentation

La recherche de l'aptitude de filamentation est observée après 7 jours d'incubation à 30°C sur le milieu de l'agar de riz additionné de Tween 80 à 1% (RAT), dont, l'examen microscopique révèle l'absence des hyphes (mycélium) et de pseudohyphe chez notre souche, donc elle est incapable de développer des filaments mycéliens.

3.2.3. Test de sporulation

Après la culture de la souche sur milieu RAT à 30°C pendant 10 jours d'incubation. Nous avons observé les cultures sous microscope optique (G x 100). La souche a étudié est capable de faire une reproduction sexuée avec formation des ascus de couleur verte contenant 1 à 3 ascospores dans la cellule.

La formation des ascospores quand le milieu de culture est défavorable (pauvre en nutriments) qui resteront en vie ralentie (Hencké, 2000).

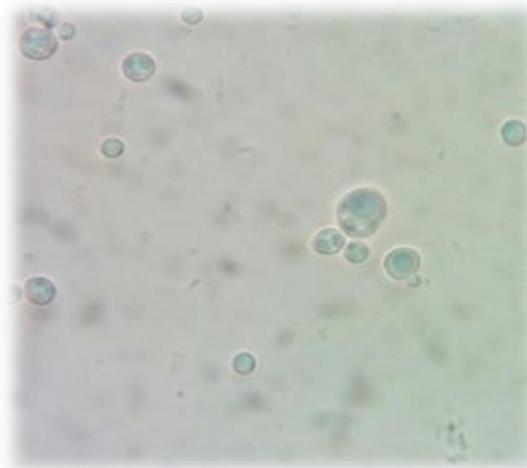


Figure 14: Résultats de test de sporulation de la souche après 10 jours d'incubation à 30°C sur le milieu RAT (G x 100).

3.3. Etudes des caractères biochimiques

On a sélectionné une seule souche pour qu'elle soit soumise à des tests de fermentation des sucres par le système d'identification Api 20C AUX, l'interprétation des résultats des tests par le logiciel d'identification et le site officiel de apiweb™, nous a fournis une identification excellente de l'espèce : *Candida kefyr*.

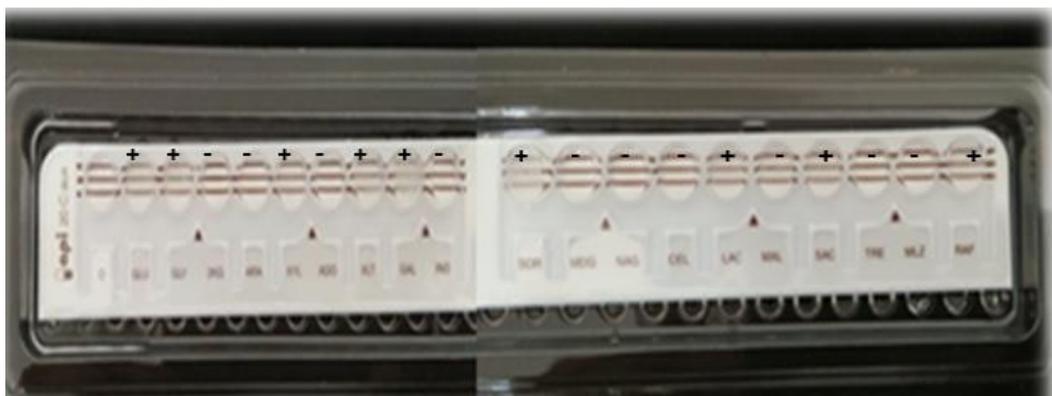


Figure 15: Résultats de l'identification biochimique de la levure par utilisation de la galerie API 20C AUX.

Tableau 14: Résultats de l'identification biochimique de levure.

Caractères morphologique	Le code de l'isolat
	S.L.E 3.I
Couleur de colonie	Blanche
Forme/texture de colonie	Circulaire
Hyphe/pseudohyphe	Absent (-)
Cellule bourgeonnante	Présente (+)
Substrats fermentés	
Glucose	+
Glycerol	+
2-keto-d-gluconate	-
L-arabinose	-
D-Xylose	+
Adonitol	-
Xylitol	+
Galactose	+
Inositol	-
Sorbitol	+
a-Methyl-d-glucoside	-
N-AcetylGlucoseamine	-
Cellobiose	-
Lactose	+
Maltose	-
Sucrose	+
Trehalose	-
Melezitose	-
Raffinose	+
Identification	<i>C. kefyr</i>
Compatibilité de l'identification*	99.8% excellent Identification

* : le pourcentage de la compatibilité P (taxon/profil) est calculé à l'aide de logiciel Excelle (V2.0).

Selon, Cai et al., (1996) ; Lachance, (2007) *Candida kefir* (anciennement *Candida pseudotropicalis*) est une levure dont le téléomorphe est actuellement reconnu comme *Kluyveromyces marxianus*.

Yam et al., (2015); Akhmetsadykova et al., (2014) ont également identifiés *Candida kefir* isolées du lait de chamelle fermenté traditionnel, à la différence de quatre espèces qu'on pas isolées dans nos échantillons celles de *Kazakhstaina Unispora*, *Sacharomyces Cervisiae* étaient prédominants, et les espèces de levures plus rarement isolées étaient *Dekkera Bruxellensis (Brettanomyces)* et *Galactomyces Geotrichum*. Njage et al., (2011) ont également identifié des espèces appartenant aux genres *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Geotrichum* et *Issatchenkia* isolés dans le lait du chamelle qui n'ont pas été démontré dans notre étude.

La souche de *Candida kefir* a été identifier dans plusieurs types de lait, dans le lait de chamelle ce qui rapporte notre étude, celle de Rahmen et al., (2009) et celle de Ider et al., (2019). Dans le lait de vache (Gadaga et al., 2007; Seker, 2010). De plus elle était l'espèce la plus abondante (21.3%) dans le lait de jument (Sudun et al., 2010). *Candida kefir* est parmi les espèces de levure les plus prédominantes et les plus importantes dans le lait (Fleet, 1990).

Kluyveromyces marxianus (forme parfaite de *Candida kefir*) ont été isolé à partir de produits laitiers fermentés indigènes de chameau et de vache en Afrique (Abdelgadir et al., 2001; Narvhus et Gadaga, 2003 ; Lore et al., 2005; Shuangquan et al., 2014).

Cependant, *C.kefir* est capable d'assimiler le lactose et métabolisme également le citrate pour produire de l'éthanol, du glycérol, de l'acide lactique et de l'acide propionique dans le lait (Fleet et Main, 1987 ; Fleet, 1990).

Les variations géographiques et les processus de fermentation naturelle pourraient jouer un rôle important sur la biodiversité des levures dans les produits laitiers (Njage et al., 2011 ; Ider et al., 2019).

4. Les caractéristiques biotechnologiques

4.1. Activité hémolytique

Dans cette étude *Candida kefyr* ne présente pas d'activité hémolytique, car aucune hémolyse sanguine a été observée autour de colonie cultivée après 48 h de croissance à 30 °C sur une plaque de gélose au sang.



Figure 16: Résultat de test hémolytique de la souche S.L.E3.I. L'absence de l'hémolyse.

En revanche, Seker, (2010) a décrit que *C.kefyr* isolée du lait de bovine présente une activité hémolytique lorsqu'il est cultivé sur la gélose au sang enrichie en glucose.

Selon les études bibliographiques, généralement les levures ne présentent pas d'activité hémolytique sur de la gélose au sang préparée avec des milieux basaux sans glucides (gélose nutritive ou gélose trypticase au soja) (Atanassova et al., 2015).

Les levures alimentaires sont rarement associées à des infections humaines graves et généralement seulement les personnes dont la santé est affaiblie et un système immunitaire déprimé sont en risque (Fleet, 2007 ; Jacques et Casaregola, 2008).

4.2. Activités enzymatiques chez les levures

Les tests de la mise en évidence des activités protéolytiques et lipolytiques chez les quatre souches du *Candida kefyr* isolée du fromage à pâte persillée indiquent que la majorité des souches isolées présente des activités enzymatiques protéolytiques et lipolytiques (Juszczuk et al., 2005) (tableau 15).

Tableau 15: Résultats des tests de la mise en évidence des activités protéolytiques et lipolytiques chez des souches de levure testées (Juszczuk et *al.*, 2005).

Souches	<i>Candida kefyr</i>	
	Protéolytique	Lipolytique
Niveau d'activité		
Types d'activité		
Haute	0/4 ^a	0/4
Moyenne	4/4	1/4
Faible	0/4	3/4
Aucun	0/4	0/4

^a Nombre de réactions positives des souches sur le nombre total de souches examinées.

4.2.1. Sélection des souches protéolytiques

Les résultats du test de la mise en évidence de l'activité protéolytique chez les quatre souches isolées sur le milieu lait écrémé agar, ils ont montré un développement d'une zone de lyse (halo clair) est observé autour de toutes les colonies des souches de *C. kefyr* (tableau 15) (Juszczuk et *al.*, 2005).

4.2.2. Sélection des souches lipolytiques

Les levures lipolytiques hydrolysées la tributyrine. Juszczuk et *al.*, (2005) ont remarqué les résultats de la mise en évidence de l'activité lipolytique chez les souches du *C.kefyr*. Une seule souche du *C.kefyr* présente une moyenne activité lipolytique et trois souches présentent une faible activité (tableau 15).

Selon la littérature, la protéolyse et la lipolyse du lait par les levures et d'autres micro-organismes ont un impact important sur sa qualité, car ils peuvent provoquer l'hydrolyse des protéines principale du lait, la caséine et la production d'acide gras libres à partir la matière grasse du lait (Chen et *al.*, 2003).

La présence des levures lipolytiques et protéolytique dans le lait pourraient favoriser la croissance d'autres espèces des levures, car les petites quantités d'acide amines et d'acides gras libres provenant de leur activité enzymatique pourrait contribuer à la croissance importante d'autres levures (Roostit et Fleet, 1996).

En effet, l'activité protéolytique et lipolytique de différentes souches de levures est bien connue. Selon les études bibliographiques, Koelsch et *al.*, (2000); Poza et *al.*, (2001) ont démontré que les espèces *Kluyveromyces* et *Candida* produisent des

protéases alcalines. Gadaga et al., (2000) ont rapporté que *Yarrowia lipolytica* est l'une des espèces les plus fréquemment présenté dans le lait, cette espèce est capable de dégrader les protéines par l'utilisation de protéase et produits également des lipases. Des espèces de levures telles que *Candida lipolytica*, *Candida catenulata*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *K.marxianus* ont montré une activité protéolytique et lipolytique (Corbo et al., 2001 ; Narvhus et al., 2003; Corbaci et al., 2012).

La prédominance des espèces de levures connues leur forte activité lipolytique suggère leur contribution dans le développement de la saveur caractéristique du lait de chèvre (Gaborit et al., 2001).

4.3. Activité antimicrobienne des levures

Les propriétés inhibitrices des souches de *C.kefyr* ont été testées contre différents organismes, notamment des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les Surnageants de culture (CS) ont été testées en tant que sources de composés inhibiteurs. *C. kefyr* a montré une forte activité antimicrobienne contre *E. coli* (20 mm), faible activité antimicrobienne contre *S. aureus* (8 mm), et aucune activité contre *P. aeruginosa* (Younis, et al., 2017).

Roostita et al., (2011) qui ont testé des isolats d'espèces de levures récupérés dans les produits du bétail sur certains pathogènes des bactéries telles que *P. aeruginosa*, *E.coli* et *S. aureus*. Les composés antimicrobiens des levures étaient connus sous le nom des acides organiques (heksanoat, oktanoat et dekanooat) et protéine qui pourrait inhiber la croissance des bactéries et des moisissures (Roostita, 2004).

Remarque :

A propos de la mise en évidence des caractéristiques biotechnologiques (activité protéolytiques et lipolytique et activité antimicrobienne) *Candida kefyr*, malheureusement, nous n'avons pas pu réaliser ces expériences en raison la propagation du virus Covid 19 dans le monde qui nous a empêché d'accéder au laboratoire pour assurer le confinement.

Conclusion

et

Perspectives

Conclusion et perspectives

Le lait est un produit indispensable à l'équilibre de l'alimentation humaine, car il contient de nombreux nutriments qui fortifient notre organisme. De même, il représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa richesse en composants biodégradables.

L'analyse des propriétés physicochimiques de 6 échantillons du lait de chamelle prélevés dans la région de Ghardaïa, ont montré une acidité titrable d'une moyenne de 18 ± 2.4 , et un pH de 6.72 ± 0.13 pour le lait cru, et une forte diminution du pH à 4.5 ± 0.25 pour le lait fermenté.

En ce que concerne le résultat de l'analyse microbiologique, nos échantillons ont révélés une charge considérable de 6.9×10^7 UFC.ml⁻¹ pour la microflore levurienne, par ailleurs, cette population a été dominée par une seule espèce de levure, d'après les résultats d'identification des différents isolats en utilisant deux approches. Le premier morphologique, a permis de regrouper les différents isolats selon leur morphologie et le deuxième métabolique, en utilisant les galeries Api 20 CAUX spécifique pour les levures, a assuré l'identification de l'espèces, qui était *Candida kefyr*. Le résultat du test de filamentation et de sporulation de cette souche sous microscope optique a montré qu'elle était incapable de développer ni des hyphes ni des pseudohyphes. En revanche, elle était capable d'entamé une reproduction sexuée avec la formation des ascospores de couleur verte contenant 1 à 3 ascospores dans la cellule, ce qu'il fait qu'elle peut adopter sa forme téléomorphe, dont le nom de l'espèce devient *Kluyveromyces marxianus*, mais cela ne peut être confirmé que par l'identification moléculaire.

Le grand avantage d'isoler et d'identifier cette espèce qu'elle n'avait pas une activité hémolytique.

A propos de la mise en évidence des caractéristiques biotechnologiques de *Candida kefyr*, malheureusement, nous n'avons pas pu réaliser ces expériences en raison la propagation du virus Covid 19 dans le monde qui nous a empêché d'accéder au laboratoire pour assurer le confinement. Pour cela cette partie d'étude devient comme des perspectives pour compléter l'objectif de cette thématique, qui sont les suivants :

- ❖ Étudier l'activité protéolytique et lipolytique de *Candida kefyr*.
- ❖ Étudier le potentiel antioxydant de *Candida kefyr* dans le lait de chamelle.
- ❖ Confirmer notre identification de la souche en utilisant les méthodes moléculaires.

- ❖ Étudier la cinétique de croissance de notre souche pour qu'elle puisse être utilisée en industrie alimentaire.
- ❖ Rechercher la possibilité de la production des amines biogènes par notre souche de *Candida kefyr*.

References

bibliographies

Abdelgadir W. S; Hamad S. H; Møller P. L. et Jakobsen M; (2001). Characterisation of the dominant microbiota of Sudanese fermented milk Rob. *International Dairy Journal*, 11(1-2): 63-70. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00042-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00042-5).

Abdelgadir W; Nielsen D.S; Hamad .S; et Jakobsen M; (2008). A traditional Sudanese camel's milk product, Gariss, as a habitat of *Streptococcus infantarius* subsp *infantarius*. *International journal of food microbiology*. 127(3):215-219.

Abranches J; Valente P ; Nobrega H.N ; Fernandez F.A.S ; Mendonça-Hagler L.C ; et Hagler A.N; (1998). Yeast diversity and killer activity dispersed in fecal pellets from marsupials and rodents in a Brazilian tropical habitat mosaic. *FEMS Microbiol. Ecol.* 26:27-33.

Abu –Tarbouch H. M ; Al-Dagal M.M ; et Al-Royli M.A ; (1998). Growth, viability and proteolytic activity of Bifidobacteria in whole camel milk. *J. Dairy Sci.* 81 : 354361.

Addis E ; Fleet G. H ; Cox J. M ; Kolak D ; et Leung T ; (2001). The growth, properties and interactions of yeasts and bacteria associated with the maturation of Camembert and blueveined cheeses. *International Journal of Food Microbiology* 69: 25-36. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00569-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00569-4).

Adolfsson O ; Meydani S. N ; et Russell R. M ; (2004). Yogurt and gut function. *The American journal of clinical nutrition*, 80(2): 245-256.

Agrawal P.P; Swami S.S; Beniwal L.R. ; Kochar D.K. ; Sahani M.S.; Tuteja F.C; et Ghouri S.K ; (2003). Effect of raw camel milk on glycémie control, risk factors and diabetes quality of life in type-1 diabetes: randomised prospective controlled study. 10(1), 45-50.

Agrawal R. P ; Jain S ; Shah S ; Chopra A; et Agarwal V ; (2010). Effect of camel milk on glycemic control and insulin requirement in patients with type 1 diabetes: 2-years randomized controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition*. 65 : 1048–1052.

Akhmetsadykova S ; Baubekova A ; Konuspayeva G ; Konuspayeva N ; et Loiseau G ; (2014). Microflora identification of fresh and fermented camel milk from Kazakhstan. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 327-332.

Al-Adhath A. J. H ; (2014). Study The Effect of Camel's Milk on Some Physiological Parameters and Histological Changes of Gastric Ulcer in Male Rats (*Rattus norvegicus*). Mémoire de master en sciences biologiques (physiologie animale). Université de Thi-Qar, Iraq.

Alais C ; (1984). Science du lait .principe des techniques laitières SEPAIC. Paris

Alaoui Ismaili M ; Saidi B ; Zahar M ; Hamama A ;et Ezzaier R ; (2016). Composition and microbial quality of raw camel milk produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.12.001.

- Alloui- Lombarkia Nam E.H; Bacha A; et Abededdaim, O; Ghenm;** (2007). Caractéristiques physicochimiques et biochimiques du lait de chamelle et séparation de ses protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamides. Laboratoire de Technologie Alimentaire, Dépt D'Agronomie, Faculté des Sciences, Université de Batna, Algérie. P : 108.
- Amamria A ; et Abed C ;** (2018). Etude de la formation de biofilm chez *Saccharomyces cerevisiae*. Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine .p :8.
- AmroucheT ; Mounier J ; PawtowskiA ; Thomas F ; et Picot A ;** (2020). Microbiota Associated with Dromedary Camel Milk from Algerian Sahara. *Current Microbiology*, 77(1): 24-31.<https://doi.org/10.1007/s00284-019-01788-4>.
- Atanassova M ; Fernández-Otero C ; Centeno J. A ; et Garabal J. I ;** (2015). Alcohol-Mediated Hemolysis in Dairy Yeast Isolates and Hemolytic Activities on Blood Agar Media Containing Milk and Cheese. *Journal of Food Safety*.35 (2):237-247.<https://doi.org/10.1111/jfs.12158>.
- Azhar M. A; et Munaim M. S. A;** (2019). Identification and Evaluation of Probiotic Potential in Yeast Strains Found in Kefir Drink Samples from Malaysia. *International Journal of Food Engineering*, 15(7).<https://doi.org/10.1515/ijfe-2018-0347>.
- Azza M. K ; Salma O. A ; et El-Saied K. M ;** (2007). Changements dans le profil d'acides aminés des protéines du lait de chamelle au début de la lactation. *Journal international des sciences laitières*.
- Ba Diao M ;**(2000). La qualité du lait et produit laitière, communication à l'atelier de restitution de l'étude sur la filière lait au Sénégal. GRET/ ENDA-GRAF Dakar.
- Balakrishnan G; et AgrawalR;** (2014). Antioxidant activity and fatty acid profile of fermented milk prepared by *Pediococcus pentosaceus*. *J. Food Sci. Technol.* 51.4138-4142. Doi: 10.1007/s13197-012-0891-9.
- Bekhouche F ;** (2006).Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noireset vertes 1. Isolement et identification biochimique.2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. 23. 38-45.
- Belarbi F ;** (2011). Isolement et sélection des souches bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes : présentation générale, Microbiologie alimentaire et industriel. Diplôme de magistère. Université d'Oran.
- Belarbi M ;** (2015) Etude comparative entre la qualité Microbiologique du lait cru de vache et le Lait de chèvre. Sciences des Aliments Es-Senia, Oran. p : 129.
- Belmaziz M ; et Djalal F ;**(2017). Analyses microbiologiques, biochimiques et biotechnologiques des levures issues du cépage Cinsault cultivé dans la commune Ben Abdelmalek Ramdane (Wilaya de Mostaganem). Diplôme de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.pp :40-50.
- Ben Aissa R ;** (1989). Le dromadaire en Algérie. CIHEAM-IAMZ, Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens n° 2. p. 19-28.

Bengoumi M ; Faye B ; et Tressol J.C ; (1994). Composition minérale du lait de chamelle du sud marocain. Actes du colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers".24-26- octobre, Nouakchott, Mauritanie.

Benhamadouche, Y ; et Nesnas, A ; (2019). Extraction et caractérisation des extraits coagulants issus de caillettes de dromadaires adultes et non sevrés. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université Mouloud Mammeri.p:5.

Benkerroum N; Boughdadi A; Bennani N; et Hidane K; (2003). Microbiological quality assessment of Moroccan camel's milk and identification of predominating lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 19 : 645–648.

Bennamoun L ; (2017). Isolement, sélection de souches levuriennes de sols arides Sahariens (El-M'gheir) productrices de polygalacturonase : Purification et caractérisation enzymatique. Thèse de Doctorat. Université Frères Mentouri Constantine 1.p:4-6.

Bevan E.A; et Makover M; (1963).The physiological basis of the killer character in yeast.In: Genetics Today, XI Int.Congr. Gen. (Geerts S.J. ed.), Pergamon Press, Oxford.pp:202-203.

Bitter G. A ; et Egan K. M ; (1984). Expression of heterologous genes in *Saccharomyces cerevisiae* from vectors utilizing the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene promoter. *Gene*, 32(3) : 263-274.[https://doi.org/10.1016/0378-1119\(84\)90002-7](https://doi.org/10.1016/0378-1119(84)90002-7).

Blin C.P ; (2002). Etude comparative du catabolisme de l'acide ricinoléique chez les levures du genre *Sporidiobolus* : mise en évidence et caractérisation du système bêta-oxydase impliqué. Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure de biologie appliquée à la nutrition et à l'alimentation, université de Bourgogne, France.

Bouallala M ; Chehma A ; et Bensetti M ; (2011). Variation de la composition chimique de principales plantes broutées par le dromadaire du Sud-Ouest Algérien. *Livestock Research for Rural Development*. 23: 5.

Bouix D; et Leveau J.Y; (1980). Les levures : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. Le contrôle microbiologique. *COL.Sci. Tech.Agro. Ali. 2* :.159-161.

Bouix M ; Leveau J.Y ; (1991).Les levures. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires Edition 2 Lavoisier-Tec et Doc. p : 206-229.

Bourgeois C.M ; Mescle J.F ; et Zucca .J ;(1996). Microbiologie alimentaire Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. 2ème Edition Ed. Tec et Doc. p : 672.

Bourgeois C.M ; et Larpent .J.P ; (1996). Microbiologie alimentaire Tome 2 : Aliments fermentés et fermentations alimentaires - 2ème édition Ed. Tec et Doc. P : 523.

Boussouar N ;(2017). Caractérisation technologique et sanitaire des *Enterocoques* isolent à partir de lait de chamelle du Sud-ouest algérien. Thèse de doctorat options:microbiologie. P: 95.

Burini G; (2009). Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk. *Int. Dairy J*; 19: 380-385d peroxidation by the iron-binding protein lactoferrin. *Biochem*. 199: 259-261.

Bussey H; Boone C; Zhu H; Vernet T; Whiteway M; et Thomas D.Y; (1990) .Genetic and molecular approaches to synthesis and action of the yeast killer toxin .*Experientia* 46:193-200. <https://doi.org/10.1007/BF02027313>.

Buxton R; (2005).Blood agar plates and hemolysis protocols. American Society for Microbiology.

Buzzini P ; Corazzi L ; Turchetti B ; Buratta M ; et Martini A ; (2004). Characterization of the in vitro antimycotic activity of a novel killer protein from *Williopsis saturnus* DBVPG 4561 against emerging pathogenic yeasts. *FEMS microbiology letters*. 238 (2) :359-365. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2004.tb09777.x>.

Buzzini P. ; et Martini A ;(2002). Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains isolated from tropical environments. *Journal of applied microbiology*. 93(6): 1020-1025. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01783.x>.

Cai J ; Roberts I.N ; et Collins M.D ; (1996). Phylogenetic relationships among members of the ascomycetous yeast genera *Brettanomyces*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, and *Kluyveromyces* deduced by small-subunit rRNA gene sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 46:542–549.

Carole-Vignola L ; Jean A ; Paul A ; et Laurent B ;(2002) Science et technologie du lait. Transformation du lait. 01. Bibliothèque nationale de Canada. p : 657.

Castan C ; (2016). La levure de bière : un champignon aux multiples bienfaits pour la santé et la beauté .Thèse de doctorat, Université De Montpellier. PP: 12-14.

Cervato G ; Cazzola R ; et Cestaro B ;(1999). Studies on the antioxidant activity of milk caseins. *Int. J. Food Sci. Nutr*. 50: 291-296.

Chen H ; Chu J ; Zhang S ; Zhuang Y ; Qian J ; Wang Y ; et Hu X ; (2007). Intracellular expression of *Vitreoscilla* hemoglobin improves S-adenosylmethionine production in a recombinant *Pichia pastoris*. *Applied microbiology and biotechnology*, 74(6): 1205-1212.<https://doi.org/10.1007/s00253-006-0705-y>.

Chen L. D. R. M ; Daniel R. M ; et Coolbear T ;(2003). Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *International dairy journal*, 13(4). 255-275.

Chethouna F ; (2011). Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologique du camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru. P : 102.

- Choi S.K ; Park K. ; Kim D.A ; Lee D.W ; et Kim Y ;** (2013). Preparation of camel milk liposome and its anti-aging effects. *Journal Society of Cosmetic Scientists of Korea* 40(2): 155–161.
- Corbaci C ; et Yalcin H. T ;** (2012). Isolation and characterization of yeasts associated with Turkish-style homemade dairy products and their potential as starter cultures. *African Journal of Microbiology Research*. 6(3), 534-542.
- Corbo M. R ; Lanciotti R ; Albenzio M. A. R. Z. I. A ; et Sinigaglia M ;** (2001). Occurrence and characterization of yeasts isolated from milks and dairy products of Apulia region. *International Journal of Food Microbiology*. 69(1-2): 147-152.
- Dali N.S; Hamame A;** (2016).Recherche de levures productrices d'enzymes glycolytiques exocellulaires thermostables : Production (sur boîte de Pétri et en batch) et Caractérisation des enzymes produites. Mémoire du Master, université MentouriConstantine. PP : 9-11.
- Debuysse M ;** (1991).Méthodes d'évaluation des microflores à incidence sanitaire : les staphylocoques coagulans + .In Technique d'analyse et contrôle dans les IAA, le contrôle microbiologique .Tcc et Doc. Vol .3 : 2^{ème} Ed. Lavoisier. Paris.
- Deive F. J; Costas M; et Longo M. A;** (2003). Production of a thermostable extracellular lipase by *Kluyveromyces marxianus*.Biotechnology letters. 25(17):1403-1406. <https://doi.org/10.1023/A:1025049825720>.
- Dieng M ;** (2001).Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarais Th.Med.vét ; n°10.Dakar, Sénégal .p : 111.
- Djoughri K ; et Madani S ;** (2015).Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (J'ben) : isolement et identification des bactéries lactiques, Microbiologie Appliquée.
- Ebringer L; Ferencik M; et Krajcovic J; (2008).** Beneficial health effects of milk and fermented dairy products-review. *Folia Microbiol*. 53: 378-394.
- El- Ziney M. G; et Al- Turki, I ;** (2007). Microbiological quality and safety assessment of camel milk (*camelus dromedaries*) in Saudi Arabia (qassim region). *Applied ecology and environmental research* 5(2): 115 - 122.
- El-AgamyE;NawarM ;Shamsia S.M ; Awad S; et Haenlein G ;**(2009). Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children. *Small Rumin Res*, 82:1–6.
- Elagamy E. I;**(2000). Effect of heat treatment on camelmilk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cow's and buffalo milk proteins. *Food Chemistry*.68: 227-232.
- El-AgamyE.I;Ruppanner R ; Ismail A ; Champagne C.P ; et Assaf R ;**(1996). Purification and characterization of Lactoferrin, Lactoperoxydase, Lysozyme and Immunoglobulins from camel's milk. *Int. Dairy J*. 6 : 129-145.

Elhassan B ; Ayat M ; DahanT; etSmahi K ;(2013). Level of control the hygienic quality of camel milk (*camelus dromedarius*) in South West Algeria and its impact on security .*Peak J Food Sci Tech*1: 53-6

EreifejK.I;Lu'datt M. H ;Lkhalidy H ; All I; etRababah T ;(2011). Comparison and characterisation of fat and protein composition for camel milk from eight Jordanian locations." *J. Food Chemistry* 127(1): 282-289.

FAO ; (2018).Données de l'alimentation et de l'agriculture ; (2005-2018), www.fao.org.

FAO ;(2019).Données de l'alimentation et de l'agriculture. www.fao.org.

Farah Z; (1993). Composition and Characteristics of Camel Milk; review. *J. Dairy Res.* 60 : 603-626.

Faye B ; (2009). L'élevage des grands camélidés : vers un changement de paradigme. *Renc.Rech. Ruminants.* 16 : 346.

Faye B ; Konuspayev A ; Messad S ; et Loiseau G ; (2008). Discriminant milk components of Bactrian camel (*Camelus bactrianus*), dromedary (*Camelus dromedarius*) and hybrids. *Dairy, journal of Science and Technolog.* 88 : 607-617.

Faye B ;(2004).Performances et productivité laitière de la chamelle : les données de la littérature. Lait de chamelle pour l'Afrique. FAO. Rome. P. 7-15.

Faye B ;(2019). La marchandisation du lait de chamelle et la " périurbanisation" de l'élevage camelin : quel modèle de développement. INRA. Bernard Faye CIRAD-ES, UMR SELMET (France).p :3.

Faye B ; et Mulato O.C ;(1991).Facteurs de variation des paramètres protéo-énergétiques, enzymatiques et minérale chez le dromadaire de Djibouti. *Rev. Elev. Md .des pays Trop.* Vol 44 : 325-334.

Ferhat H ; et Laklouka N ; (2015).Contribution à l'alpha amylase levurienne : optimisation des conditions de production .Diplôme de Master. Université EchahidHamma Lakhdar d'el-oud.

Fitrotin U ; Utami T ; Hastuti P ; et Santoso U ; (2015). Antioxidant properties of fermented sesame milk using *Lactobacillus plantarum* Dad 13. *Int. Res. J. Biol. Sci.* 4: 56-61.

Fitzgerald R. J; et Murray B. A; (2006). Bioactive peptides and lactic fermentations. *International Journal of Dairy Technology.* 59(2): 118-125. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2006.00250.x>.

Fleet G. H; (1990). Yeasts in dairy products. *Journal of Applied Bacteriology.* 68(3): 199–211. doi:10.1111/j.1365-2672.1990.tb02566.x.

Fleet G. H; (2007). Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. *Current opinion in biotechnology.* 18(2):170-175.

Fleet G. H; et Mian M. A; (1987). The occurrence and growth of yeasts in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*. 4(2):145-155. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(87\)90021-3](https://doi.org/10.1016/0168-1605(87)90021-3).

Fukuda K; (2013). Camel Milk. Milk and Dairy Products in Human Nutrition, John Wiley et Sons. P: 578-593.

Gaborit P ; Menard A ; et Morgan F ; (2001). Impact of ripening strains on the typical flavour of goat cheeses. *International Dairy Journal*. 11(4-7) :315-325.

Gadaga T. H ; Mutukumira A. N ; et Narvhus J. A ;(2000). Enumeration and identification of yeasts isolated from Zimbabwean traditional fermented milk. *International Dairy Journal*. 10(7): 459-466.

Ghaoues S ; (2011) Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Magister en Sciences Alimentaires, Technologie Alimentaire.

Gizachew A ; Teha J ; et Birhanu T ; (2014). Review on medicinal and nutritional values of camel milk. *Journal Natural Science* 12(12): 35–40.

Glass R.L; Troolin H; et Jenness R; (1967). Comparative biochemical studies of milks .IV .constituent fatty acids of milk fats .*comp biochem physiol*. 22: 415-425.

Gnana .S; et Shereha A.M; (1986). Composition of libyan camel's milk .Aut. *j. DAIRY techno*. 41: 33-35.

González-Pastor J. E; Hobbs E. C; et Losick R; (2003). Cannibalism by sporulating bacteria. *Science*. 301(5632) : 510-513.

Greaume A ;(1975). Le lait cru : ce qu'il doit être, comment l'obtenir. Th. Méd. Vét. Toulouse. n° 102.p : 90.

Guinet R ; et Godon B ; (1994). La panification française. Cachan : Tec et Doc Lavoisier. p : 521.

Guiraud J.P ; (1998). Microbiologie alimentaire Ed. Dunod. p : 320-652.

Guiraud J.P ; et Rosec J.P ; (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. p : 228-235.

Guiraud J.P ; et Galzy.P ;(1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition de l'usine nouvelle. p: 1-239

Gutteridge J. M; Paterson S. K; Segal A. W; et Halliwell B; (1981). Inhibition of lipid peroxidation by the iron-binding protein lactoferrin. *Biochemical Journal*. 199(1): 259-261.

Hamad B ;(2009). Contribution à l'étude de la contamination superficielle bactérienne et fongique des carcasses camelines au niveau de l'abattoir d'El – Oued. Mémoire de Magister en médecine vétérinaire. Université Mentouri de Constantine, Algérie.

Hamidi M ; (2015). Etudes des propriétés fonctionnelles et des aptitudes à la coagulation du lait de dromadaire par la couche de kaolin du gésier des poules. Thèse de Doctorat en sciences agronomiques. Université Mohamed Khider-Biskra, Algérie.

Hansal N ;(2015) Isolement, purification, identification et étude des caractéristiques biotechnologiques de leuconostocmesenteroides isolé à partir du lait cru de chèvre et de chamelle. Mémoire de magister en Microbiologie Fondamentale et Appliqué, Université d'Oran 1.p :154.

Hassan R. A; El Zubeir I. M. E; et Babiker S. A; (2008). Chemical and microbial measurements of fermented camel milk (gariss) from transhumance and Nomadic herds in Sudan. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*2(4) : 800-804.

Hencke S ; (2000). Utilisation alimentaire des levures .Doctoral dissertation. UHP- Université Henri Poincaré.Nancy 1.PP :9-33.

Ider S; Belguesmia Y ; Coucheney F ; Kihal M ; et Drider D ; (2019). Impact of seasonality and environmental conditions on yeast diversity from camel's milk collected in Algeria. *Archives of Microbiology*. 201: 399–407. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01626-y>.

Ider S ; Belguesmia Y ; Cazals G ; Boukherroub R ; Coucheney F ; Kihal M ; et Drider D ; (2020). The antimicrobial peptide oranicin P16 isolated from *Trichosporon asahii* ICVY021, found in camel milk's, inhibits *Kocuria rhizophila*. *Food Bioscience*. 100670.<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100670>.

Izgu F; Altunbay D ; et Derinel Y ; (2004).Immunization of the industrial fermentation starter culture strain of *Saccharomyces cerevisiae* to a contaminating killer toxin-producing *Candida tropicalis*. *Food Microbiology* .21:635-640.

Jacques N ; et Casaregola S ; (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the hemiascomycetous yeasts. *International journal of food microbiology*. 126(3):321-326.

Jakobsen M ; et Narvhus J ; (1996). Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *Int. Dairy J*. 60: 755-768.

Jose-Ph-Pierre G ;(1998).Microbiologie alimentaire.DUNODE.ISPN.Paris. p :136

Juszczyk P ; Wojtatowicz M ; Żarowska B ; Chrzanowska J ; et Malicki A ; (2005). Diversity of physiological and biochemical properties within yeast species occurring in Rokpol cheese. *Polish journal of food and nutrition sciences*.14(3) :257-261. <http://journal.pan.olsztyn.pl/pdf/2>.

Kagembega J.M ;(1984). Contribution à l'étude de la stlubrité des laits caillés et yaourt à Dakar. Th. Pharm.Dakar .n°24.

Kamoun M ;(1995). Le lait de dromadaire : production, aspect qualitatif et aptitude à la transformation. *Option Médit*. 13. 87-96

Kappeler S; (1998). Compositional and structural analysis of camel milk proteins with emphasis on protective proteins. Ph.D. Thesis, Swiss Federal Institute of Technology, ETH, Zurich, Switzerland.

Karam H. Z ; et Karam N. E ; (2006). Bactéries lactiques du lait de chamelle d'Algérie : mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. *Tropicultura*. 24(3): 153-156.

Kenji F; Young W; et George F.W; (2013). Camel milk in: Milk and Dairy Products in Human Nutrition. ISBN 978 -1-118-53422- 9 (epdf). Edited by John Wiley and Sons, Ltd.

Khaskheli M;Arain M.A; Chaudhry S; Soomro; A.H; et Qureshi T.A; (2005). Physicochemical quality of camel milk. *Journal of Agricultural Science* 2, 164–166.

Kherraz Z; et Lorbi S; (2015). Contribution à l'étude de l'influence des paramètres physico-chimiques sur l'activité amylolytiques des levures. Diplôme de Master. Université Echahid Hamma Lakhdar D'el-Oued.

Koelsch G; Tang J; LoyJ. A; Monod M; Jackson K; et Foundling X. L ;(2000). Enzymic characteristics of secreted aspartic proteases of *Candida albicans*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*. v. 1480, n. 1-2, p: 17-131.

Konuspayeva G ; (2007). Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan. Thèse Doctorat en Sciences des Aliments. Université Montpellier II. P : 255.

Konuspayeva G ; Faye B ; et Loiseau G ; (2009). The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 95–101.

Konuspayeva G;Loiseau G; et FayeB; (2004). La plus-value santé du lait de chamelle cru et fermenté : l'expérience du Kazakhstan. Institut de l'élevage. *j Renc. Rech. Ruminants*. 47-50.

Konuspayevag; Faye B; et SerikbaevaA; (2003). Les produits laitiers traditionnel sa base de lait de chamelle en Asie centrale. Lait de chamelle pour l'Afrique. Atelier sur la filière laitière caméline en Afrique Niamey.5-8 novembre. 78.

Korashy H. M; Maayah Z.H; Allah R, el-Kadi A;et Alhaider A.A; (2012). Camel milk triggers apoptotic signaling pathways in human hepatoma HepG2 and breast cancer MCF7 cell lines through transcriptional mechanism. *Journal of Biomedicine and Biotechnologie*. P: 1–9.

Kotb-El-Sayed M.I; Al-Shoeib Z.Y; Abd El-Ghany A.I; et Atef Z.A; (2001). Effects of Camel's Milk as a Vehicle for Insulin on Glycaemic Control and Lipid Profile in Type 1 Diabetics. *American. Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4:179-189.

Kreger-Van RIJ N. J; (1984).The Yeast, a Taxonomic Study, Elsevier Biomedical. Press, Amsterdam.

Kula J ;(2016). Valeurs médicinales du lait de chamelle. *Int J VetSciRes*. 2(1) : 18-25.

Kula J; et Dechasat; (2016). Chemical Composition and Medicinal Values of Camel Milk. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB)* .4(4): 13-25. Online www.arcjournals.org

Kumar D ; Kumar L ; Nagar S ; Raina C ; Parshad R; et Gupta V ; (2012). Screening, isolation and production of lipase/esterase producing *Bacillus sp.* strain DVL2 and its potential evaluation in esterification and resolution reactions. *Scholars Research*. 4 (4): 1763-1770.

Kurtzman C. P; (1984). Synonymy of the yeast genera *Hansenula* and *Pichia* demonstrated through comparisons of deoxyribonucleic acid relatedness. *Antonie van Leeuwenhoek*. 50(3): 209-217. <https://doi.org/10.1007/BF02342132>.

Kurtzman C; Fell J. W; et Boekhout T. (Eds.); (2011). *The yeasts: a taxonomic study*. Elsevier.

Labrani F.Z.K ; (2015). Activité « killer » chez des levures isolées des sols du nord-est algérien : purification, caractérisation et effet sur les souches de levures indésirables. Thèse de doctorat. Université Des Frères Mentouri Constantine. p : 03.

Labrecque M .H ; (2003). Etude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène. Diplôme de Magistère. Université Laval. p : 19-24.

Lachance M. A ; (2007). Status of *Kluyveromyces systematics*. *FEMS yeast research*. 7(5): 642-645. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00197.x>.

Lahelec C ; et Colin P ; (1991). Méthode d'évaluation des différentes microflore à incidence technologique : la flore psychrotrophe .In : techniques d'analyse et contrôle dans les IAA .*Tee. et Doc*. vol.3 .2^{ème} Ed. Lavoisier. Paris.

Laleye L C; Jobe B ;et WasesaAah ; (2008). Comparative study on heat stability and functionality of camel and bovine whey proteins. *Journal Dairy Science*. 91. p : 4527–4534.

Lamarche A ; (2019). Développement d'une méthode de quantification par PCR en temps-réel afin d'étudier la distribution de trois espèces de levures indigènes dans les fromages québécois. Mémoire de maîtrise. Université Laval Canada. p :21.

Lamers D ; van Biezen N ; Martens D ; Peters L ; van de Zilver E ; Jacobs-van Dreumel N ; et Lokman C ; (2016). Selection of oleaginous yeasts for fatty acid production. *BMC biotechnology*. 16 (1): 45. <https://doi.org/10.1186/s12896-016-0276-7>.

Lammi S ; (2011). Recherche de substances à activités antimicrobiennes (antibactériennes et anticandidoses) produites par des souches levuriennes isolées des sols sahariens. Diplôme de Magistère. Université Mentouri de Constantine. pp :24-28.

Lara-Hidalgo C ; Hernández-Sánchez H ; Hernández-Rodríguez C .et Dorantes-Álvarez L ; (2017). Yeasts in fermented foods and their probiotic potential. *Austin Journal of Nutrition and Metabolism*. 4(1):1043-1045.

Larpent J.P ; (1992). *La microbiologie de la fermentation panairre*. Ed. APRIAJCUDIUPA. PP : 65.

- Larpentl .P** ; (1991).Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires (produits laitiers et carnés) Ed. Apria. p :242.
- Leveau I.V ; et BOUIX M** ;(1993). Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intérêt industriel .Ed. Tec et Doc Lavoisier.
- Li Y; Liu T. J ; et He G. Q** ; (2015). Antioxidant activity of peptides from fermented milk with mix culture of lactic acid bacteria and yeast. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 7(6): 422-427.
- Linares C. E. B; Loreto É. S. D; Silveira C. P;Pozzatti P; Scheid L. A; Santurio J. M; et Alves S. H**; (2007). Enzymatic and hemolytic activities of *Candida dubliniensis* strains. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 49(4) : 203-206.<https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000400001>.
- Lindmark-MånssonH ; et Åkesson B** ;(2000). Antioxidative factors in milk. *British journal of Nutrition*. 84 (S1): 103-110.
- Lodder J**; (1971). The yeast, a taxonomic study, 2ème edition. North Holland, Amsterdam, Londres. p: 1385.
- Lojudice F. H; Silva D. P;Zanchin N. I; Oliveira C. C; et Pessoa A**; (2001).Overexpression of glucose-6-phosphate dehydrogenase in genetically modified *Saccharomyces cerevisiae*. In Twenty-Second Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals (pp. 161-169). Humana Press, Totowa, NJ.
- Lore T. A; Mbugua S. K; et WangohJ**;(2005). Enumeration and identification of microflora in suusac, a Kenyan traditional fermented camel milk product. *LWT-Food Science and Technology*. 38(2): 125-130.
- Lourens-Hattingh A ; et Viljoen B. C** ; (2001). Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. *Food Research International*. 34(9): 791-796.
- Lowes K. F; Shearman C. A; Payne J; MacKenzie D; Archer D. B; Merry R. J; et Gasson M. J**; (2000). Prevention of yeast spoilage in feed and food by the yeast mycocin HMK. *Appl. Environ. Microbiol*. 66(3) : 1066-1076.
- Luo G ; Samaranayake L. P ; et Yau J. Y** ; (2001). *Candida* species exhibit differential in vitro hemolytic activities. *Journal of Clinical Microbiology*. 39(8): 2971-2974.
- M. KhaskheliM.A;ArainS; Chaudhry A.H; Soomro; et Qureshi T.A** ;(2005). Physico-Chemical Quality of Camel Milk; *journal of agriculture and social sciences*,.1 ; 164-166.
- Maamra F ; et Maissa N** ;(2018). Caractérisation des enzymes protéolytiques des souches fongiques isolées à partir du sol saharien. Diplôme de Master. Université EchahidHamma Lakhdar -El Oued. p : 9-10.
- MADRP ;(2018). Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
- Magliani W ; Conti S ; Gerloni M ; Bertolotti D ; et Polonelli L** ;(1997). Yeast killer systems. *Clinical microbiology reviews*. 10(3): 369-400.

- Mahboub N ; Telli A ; Siboukeur O ; BoudjenahS ; et Slimani, N ;**(2010). Contribution à l'amélioration de l'aptitude fromagère du lait camelin : étude des conditions de conservation des enzymes gastriques camelines. *Annales des Sciences et Technologie*. 2 (1) ; 71-78.
- Mami A.** (2013) Recherches des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes appliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de Doctorat, Microbiologie Appliqué, p : 203.
- Mansour S; (2009).** Transcriptomic study of the yeast *Yarrowia lipolytica* metabolism in a cheese ecosystem. Thèse de Doctorat. AgroParisTech.pp.12-13.
- MarcellinoN ;Beuvier E ; Grappin R ; Gueguen M ; et Benson D.R ;** (2001).Diversity of *Geotrichum candidum* strains isolated from traditional cheese making fabrications in France. *Applied and Environmental Microbiology*. 6: 4752-4759.
- Masson P.L; et HeremansJ.F;** (1971) Lactoferrin in milk from different species.*Comp. Biochem. Physiol.* 39 :119 – 129.
- Medjour A ;** (2014). Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté à partir de chamelles (*Camelus dromedarius*) conduites selon deux systèmes d'élevage (extensif et semi-intensif) Mémoire de Magister. Université Mohamed khider Biskra. P: 3.
- Mehaia M.A; et Alkanhalm A;** (1992). Taurine and free amino acids in milk camel, goat, cow and man. *Milchwissenschaft*.47 : 351-353.
- Merabti R ;** (2006). Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien .Diplôme de Magistère. Université Mentouri Constantine.
- MeribaiA ;Diafet A ; Bahloul A ; Ouarkoub M ; Naami S ; Bachene, A ; Kahia A ; et Bensoltane A ;** (2016). Laits crus d'espèce cameline (*Camelus dromedarius*) collecté au sud-est algérien: Aptitudes à la coagulation et transformation technologique, effets d'un régime alimentaire riche en plantes hallophytes sur l'évolution des flores lactiques. *Journal of new sciences*. 25(9): 1189-1194.
- Michalcakova S ; Sulo P; et Slavikova E ;** (1993).Killer yeasts of *Kluyveromyces* and *Hansenula* genera with potential application in fermentation and therapy. *Acta Biotechnologica*: 341-50. <https://doi.org/10.1002/abio.370130406>.
- Narvhus J. A; et Gadaga T. H ;** (2003).The role of interaction between yeasts and lactic acid bacteria in African fermented milks: a review. *International journal of foodmicrobiology*. 86(1-2): 51-60.
- Nedjar L ; et Zamouche K ;** (2018).Contribution à l'étude de la microflore levure du lait de chamelle d'Algérie, Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri Constantine. pp :1-33.

- Njage P. M. K ; Dolci S ; Jans C ; Wangoh J ; Lacroix C ; et Meile L ;** (2011). Characterization of yeasts associated with camel milk using phenotypic and molecular identification techniques. *Research Journal of Microbiology*. 6(9): 678.
- Omar A; et HamadA;** (2010). Compositional technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal* .20: 811-821.
- Ouajd S ; et Kamel B ;** (2009). Physiological particularities of dromedary (*Camelus dromedarius*) and experimental implications. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Sciences*. 36(1): 19-29.
- Oufi Z. S; Mohammed A. B; et Abdullah S. K;** (2020). Molecular Identification and Hemolytic Activity of Candida Species Isolated from Urine of Healthy and Diabetic Women in Kurdistan of Iraq. *Science Journal of University of Zakho*. 8(1):1-6. DOI: <https://doi.org/10.25271/sjuoz.2020.8.1.684>.
- OuladBelkhir A ;**(2018). Caractérisation des populations camelines du Sahara septentrional Algérien, Evaluation de la productivité et valorisation des produits. Thèse de doctorat .Université kasdiMerbah, Ouargla. P : 7.10. 62.
- Patel A ;Patel S. J ; Patel N. R ; et Chaudhary G. V ;** (2016). Importance of camel milk-An alternative dairy food. *Journal of Livestock Science*.7: 19-25.
- Phaff H; Miller M.W; et Mrak E.K;** (1968).The life of yeasts. In : Oteng-Gyang K. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. PP : 43.
- Pilet C ; Bordon J. L ; Toma B ; Marchal M ; et Balbastre C ;** (1979).Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne, 2^{ème} Ed. DOIN. Paris.
- Pol D ;** (1996). Travaux pratiques de biologie des levures. Guide de laboratoire ellipses. Édition marketing S.A, Paris, p : 15: 20-38, 42-57.
- Polonelli L; et Conti S;** (2009).Candida albicans Methods and protocols. Chapter 11, Biotyping of Candida albicans and other fungi by yeast killer toxins sensitivity.HumanaPress.499:97-115.
- Polonelli L. U. C. I. A. N. O ; et Morace G. I. U. L. I. A ;** (1986).Reevaluation of the yeast killer phenomenon. *Journal of Clinical Microbiology*.24(5) : 866-869.
- Pommier S ;** (2003). Dynamique de populations microbiennes en culture mixte : étude expérimentale en bioréacteur à membranes et modélisation du phénomène killer chez *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse de doctorat. L'institut national polytechnique de Toulouse.
- Poza M ; De Miguel T ; Sieiro C ; et Villa T. G ;** (2001).Characterization of a broad pH range protease of *Candida caseinolytica*. *Journal of Applied Microbiology*. 91(5): 916-921.
- Prescott D. M;** (1976).Yeast Cells. Academic Press.p:10.

Qian Z.Y; Jollès P; Migliore Samour D; et Fiat A.M; (1995) Isolation and characterization of sheep lactoferrin, an inhibitor of platelet aggregation and comparison with human lactoferrin. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1243 :25-32.

Quitalalwa M; et Kurdilina A.F; (2010). Antigenotoxic and anticytotoxic effect of camel milk in mice treated with cisplatin. *Saudi. Journal of Biological Sciences* 17(2): 159–166.

Radler F; et Schmitt M;(1987). Killer toxins of yeasts: inhibitors of fermentation and their adsorption. *Journal of food protection*. 50(3): 234-238. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-50.3.234>.

Ragavan M. L ; et Das N. I. L. A. N. J. A. N. A ; (2017).Molecular identification of probiotic yeast strains and their characterization. *Asian J Pharm Clin Res*. 10(4) : 339-343.

Rahli F ; (2015). Valorisation du lait de chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement. Thèse de Doctorat en sciences microbiologie appliquée (option contrôle microbiologique et hygiène alimentaire). Université d'Oran -1-, Oran. Algérie.

Rahman N ; Xiaohong C ; Meiqin F ; et Mingsheng D ; (2009).Characterization of the dominant microflora in naturally fermented camel milk shubat. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25(11): 1941-1946. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0092-5>.

Rahu F ;(2015). Valorisation du lait de chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement. Thèse de doctorat. Université D'Oran-1.p : 22-26

Rakan A; Hussein, Hamad, Thekra A; et Jafar, N. B; (2019).Evaluation of haemolytic activity of some candida species. *Plant Archives*. 19(2): 3924-3928.

Ramet J.P; (2001).The technology of making cheese from camel milk (*Camelus dromedarius*). *FAO animal production and health paper*. 113. p :67.

Randrianantoandro M ; (2014). Isolement et identification des levures du fruit du figuier de barbarie " Opuntia Ficus-Indica " de la région de vakinankaratra. Diplôme d'études Approfondies. Université D'Antananarivo Madagascar. p :10.

Regenboog M; van Kuilenburg A. B; Verheij J; Swinkels D. W ; et Hollak C. E; (2016). Hyperferritinemia and iron metabolism in Gaucher disease: Potential pathophysiological implications. *Blood reviews*. 30(6) : 431-437.

Rezki-Bekki M.A ; (2014). Production de métabolites par les levures : caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse de doctorat, Université d'Oran. Algérie.pp : 13-19.

Rima H; Steve L; et Ismail F;(2012). Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. *Frontiers in microbiology*. 3: 421.

Roostita L. B; Fleet G. H; Wendry S. P; Apon Z. M ; et Gemilang L. U; (2011). Determination of yeasts antimicrobial activity in milk and meat products. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 3(6): 442-445.

Roostita L.B; (2004). Potensi dan Prospek Yeast (khamir) Dalam Meningkatkan Diversifikasi Pangan di Indonesia. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Ilmu Pangan. Faculty of Animal Husbandry, University of Padjadjaran, Bandung.

Roostita R; et Fleet G. H; (1996). The occurrence and growth of yeasts in Camembert and blue-veined cheeses. *International journal of food microbiology*. 28(3): 393-404.

Roostita R; et Fleet G. H; (1996). Growth of yeasts in milk and associated changes to milk composition. *International journal of food microbiology*. 31(1-3): 205-219. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)00999-3](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)00999-3).

Samman M. A; Al-Saleh A. A; et Sheth K; (1993). The karyotype of the Arabian camel, (*Camelus dromedarius*). *J. King Saud Univ*. 5: 57-64.

Satir G; et Guzel-Seydim Z.B; (2016). How kefir fermentation can affect product composition? *Small Rumin. Res.* 134:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.10.022>.

Sawaya W. H ; Khalil J.K ; Al-Shalhat A; et Al-Mohammad H ; (1989). Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *J. Food Sci.* 49: 744-747.

Sboui A ; Khorchani T ; Djegham M ; Agrebi A ; Elhatmi H; et Belhadj O ; (2010). Anti-diabetic effect of camel milk in alloxan-induced diabetic dogs: a dose-response experiment. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 94(4): 540-546.

Scannell D. R; Butler G; et Wolfe K. H; (2007). Yeast genome evolution -the origin of the species. *Yeast*. 24(11): 929-942.

Scheda R; et Yarrow D; (1966). The instability of physiological properties used as criteria in the taxonomy of yeast. *Arch Microbiol* 55(3):209-225.

Schmitt M. J; et Reiter J; (2008). Viral induced yeast apoptosis. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 1783(7):1413-1417. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.01.017>.

Schmitt M. J; et Breinig F ; (2002). The viral killer system in yeast: from molecular biology to application. *FEMS microbiology reviews*, 26(3), 257-276. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00614.x>.

Şeker E; (2010). Identification of *Candida* species isolated from bovine mastitic milk and their in vitro hemolytic activity in Western Turkey. *Mycopathologia*. 169(4) : 303-308.

Senoussi C ; (2011). Les protéines sériques du lait camelin collecté dans trois régions du sud algérien : essais de séparation et caractérisation de la fraction protéase peptone. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou., 17-19.

Shabo; et Yagil R ;(2005). Behavioral improvement of autistic children following drinking camel milk. In: Treating Persons with Brain Damage. 4th National Conference. Tel Aviv. p 94.

Shuangquan, Burentergusi; et Miyamoto; (2004).the microflora in traditional fermented camel's milk from Inner Mongolia China.Milchwissenschaft.59 (11):649-652.

Siboukeur A ; (2011). Etude de l'activité antibactérienne des bactériocines (type nisine) produites par *Lactococcus lactis subsp lactis*, isolée à partir du lait camelin. Mémoire de Magister. Université d'Ouargla. Algérie.

Siboukeur A ; et Siboukeur O ; (2012). Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle collecté localement en comparaison avec le lait bovin. *Annals of Science and Technology*. 4(2) : 6-6.

Siboukeur O ; (2008). Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico- chimiques et microbiologiques, aptitude à la coagulation, Thèse de doctorat inédite, Institut national agronomique El – Harrach. Alger

Siboukeur O ; et Mati A ; (2007). Evolution de la flore microbienne d'origine exogène dans le lait de chamelle (*Camelus dromedarius*) lors de sa transformation artisanale en lait fermenté. *In Annales de l'INRAT*. 80: 1.

Sikander Ali; Hameedullah Raf; et Ikram-Al-Haq; (2010). Production of an extracellular lipase from *Candida lipolytica* and Parameter significance analysis by plackett-burman design. *Engineering in Life Sciences*.10: 465–473.

Silar P; et Malagnac F ;(2013). Les champignons redécouverts. Paris : Belin, p : 232.

Starmer W. T ; Ganter P. F ; Aberdeen V ; Lachance M. A ; et Phaff H. J ; (1987). The ecological role of killer yeasts in natural communities of yeasts. *Canadian journal of microbiology*. 33(9): 783-796.

Sudun; Yu Bai ; Shuangquan ; Wulijideligen ; Miyamoto;et Taku; (2010). Isolation and identification of yeasts in chigee, fermented mare's milk, a traditional drink of Inner Mongolia, China. *Milk Science*. 59(3) : 231-236.

Suzzi G ; Romano P ; Ponti I ; et Montuschi C ;(1995).Natural wine yeasts as biocontrol agents. *Journal of Applied Bacteriology*. 78(3): 304-308. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb05030.x>.

Toumi S ; (2018). Isolement et caractérisation des souches levuriennes productrices d'amylase à partir de sol saharien Algérien et cultivée sur un milieu à base de lactosérum. Diplôme de Doctorat. Université djillali liabes de Sidi Bel Abbes.

Turner P.C ; Mclellan A.G ; Bates A.D ; et White M.R.H ; (2000).L'essentiel en biologie moléculaire.Ed.paris. pp : 174.

Urashima T ; Kitaoka M. Asakuma S ; et Messer M ; (2009). Milk oligosaccharides. *Advanced dairy chemistry*, Springer: 295-349.

Vierling E ; (2008) Aliments et boissons : filières et produits. Edition doin CRDP d'Aquitaine. 3ème édition. Paris. P : 277.

Vignola C.I ; (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed : Lavoisier. Paris. P : 600.

Vignola S ; (2018).La levure *Geotrichum candidum*, diversité et applications en fromagerie. Mémoire de maîtrise. Université Laval Canada. p : 3. <http://hdl.handle.net/20.500.11794/28366>.

Viljoen B. C; Lourens-Hattingh A; Ikalafeng B. et Peter G; (2003). Temperature abuse initiating yeast growth in yoghurt. *Food Research International*. 36(2): 193-197.

Walker G. M; Mcleod A. H; et Hodgson V. J; (1995). Interactions between killer yeasts and pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters*. 127(3): 213-222. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1995.tb07476.x>.

Walker G. M; (2009). Yeasts. In Desk encyclopedia of microbiology Academic Press/Elsevier. pp. 1174-1187.

Wangoh J; Farah Z; et Puhaz; (1998) .Composition of milk from 3 camels (*camelus dromedarius*) Breeds in kenya during lactation .*Milchwissenschaft*. 53:136-139.

Wickner R. B; (1986). Double-stranded RNA replication in yeast: the killer system. *Annual review of biochemistry*. 55(1): 373-395.

Wickner R. B; (1996).Double-stranded RNA viruses of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological reviews*. 60(1): 250.

Xianghong W; Zhenming C; Lixi Y; Jing L; Meiju L; et Longfei W; (2007).A marine killer yeast against the pathogenic yeast strain in crab (*Portunustri tuberculatus*) and an optimization of the toxin production. *Microbiological Research* 162:77-85. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.09.002>.

Yagil R ; Saran A ; et Etzion Z ; (1984). Camel milk for drinking only. *Comp. Biochem. Physiol*. 78: 263-266.

Yagil R; (1985). The Desert camel, comparative physiological adaptation. Ed KARGER, 109- 120.

Yagil R; et Etzion Z; (1980).effect of drought condition on the quality of camel milk *.j .dairyRes*. 47: 159-166.

Yam B. Z; Khomeiri M; Mahounak A. S; et Jafari S. M ; (2015). Isolation and identification of yeasts and lactic acid bacteria from local traditional fermented camel milk, Chal. *Journal of Food Processing & Technology*. 6(7):1.

Young T. W; et Yagiu M; (1978). A comparison of the killer character in different yeasts and its classification. *Antonie van Leeuwenhoek*. 44(1): 59-77. <https://doi.org/10.1007/BF00400077>.

Younis G; Awad A; DawodR. E; et Yousef N. E; (2017). Antimicrobial activity of yeasts against some pathogenic bacteria. *Veterinary world*.10(8) : 979.

Annexes

Annexe 01 : Les milieux de cultures.**1. Solution d'eau physiologique**

Composition par liter :

- Chlorure de sodium (NaCl) : 9 g
- peptone : 1 g

pH 7 à 25°C.

Préparation de solution

Ajouter les composants à l'eau distillée (1000ml). Bien mélanger. Puis autoclaver à 120°C pendant 20 minutes et conserver à la température ambiante.

2. Milieu YEPGC Agar

Composition par liter :

- Glucose : 20 g
- Peptone : 20 g
- Extrait de levure : 5 g
- Chloramphénicol : 0,10 g
- Agar : 20 g

pH 5.4±0.2 à 25°C.

Préparation du milieu

Ajouter les composants à l'eau distillée (1000ml). Bien mélanger. Chauffer doucement et porter à ébullition. Puis autoclaver à 120°C pendant 20 minutes et conserver à la température ambiante.

3. Milieu YEPG Agar

Composition par liter :

- Glucose : 20 g
- Peptone : 20 g
- Extrait de levure : 5 g

- Agar : 20 g

pH 5.4 ± 0.2 à 25°C.

Préparation du milieu

Ajouter les composants à l'eau distillée (1000ml). Bien mélanger. Chauffer doucement et porter à ébullition. Puis autoclaver à 120°C pendant 20 minutes et conserver à la température ambiante.

4. Milieu YEPG liquide

Composition par liter :

- Extrait de levure 5 g
- Peptone 20 g
- Glucose 20 g

pH 5.4 ± 0.2 à 25 °C.

Préparation du milieu

Ajouter les composants à l'eau distillée (1000ml). Bien mélanger. Chauffer doucement et porter à ébullition. Puis autoclaver à 120°C pendant 20 minutes et conserver à la température ambiante.

5. Milieu lait écrémé – Agar

Composition par liter :

- Extrait de levure : 10 g
- Peptone : 20 g
- Glucose : 20 g
- Agar : 20g
- Lait écrémé liquide stérile : 10ml

pH 7.2 ± 0.2 à 25°C

Préparation du milieu

Ajouter les composants, sauf lait écrémé à l'eau distillée et porter le volume à 990,0 ml. Bien mélanger. Chauffer doucement et porter à ébullition. Puis autoclaver à 120°C pendant 20

minutes et conserver à la température ambiante. Après ajouter de manière aseptique 10 ml de lait écrémé liquide stérile et mélanger complètement.

6. Milieu Tween 80-agar

Composition par liter:

- Peptone: 10 g
- NaCl: 0,1 g
- CaCl₂, 2H₂O: 20 g
- Agar: 20 g
- Tween 80: 10 ml

pH 7.2 ± 0.2 à 25°C

Préparation du milieu

Ajouter les composants, sauf le tween80, à l'eau distillée et porter le volume à 990,0 ml. Bien mélanger. Chauffer doucement et porter à ébullition. Ajouter 10ml de tween 80. Puis autoclaver pendant 20 min à 121 ° C et conserver à la température ambiante.

7. Milieu Tributyrin Agar

Composition par litre :

- Agar : 15 g
- Tributyrine (tributyrate de glycéryle) : 10 g
- Peptone : 5 g
- Extrait de levure. : 3 g

pH 7.5 ± 0.2 à 25 °C

8. Milieu RAT

Composition par litre :

- Agar : 20,0 g
- Riz blanc : 20,0 g
- Tween 80 :10,0 ml

pH $7,1 \pm 0,2$ à 25 °C

Préparation du milieu

Laisser mijoter 20 g de riz non poli dans 1 litre d'eau pendant 45 min, filtrer et ajouter de l'eau pour ramener le volume à 990,0 ml. Ajouter et dissoudre 20 g d'agar et mélanger Bien. Chauffer doucement et porter à ébullition. Ajouter le 10ml de Tween 80.puis autoclavé pendant 20 min à 121 ° C.

9. Milieu MH-Agar

Composition par liter :

- Peptone : 17,50 g
- Extrait de viande : 2,00 g
- Amidon : 1,50 g
- Agar : 17,00 g

pH 7,3± 0.1à 25°C.

Préparation du milieu

Ajouter les composants à l'eau distillée (1000ml). Bien mélanger. Chauffer doucement et porter à ébullition. Puis autoclaver à 120°C pendant 20 minutes et conserver à la température ambiante.

10.Milieu MH liquide

Composition par liter :

- Peptone : 17,50 g
- Extrait de viande : 2,00 g
- Amidon : 1,50 g

pH 7,3± 0.1à 25°C.

Préparation du milieu

Ajouter les composants à l'eau distillée (1000ml). Bien mélanger. Chauffer doucement et porter à ébullition. Puis autoclaver à 120°C pendant 20 minutes et conserver à la température ambiante

Annexe 02 : Les races camelin.



El-safra

Chaambia Arbia.

Annexe 03 : les matériels utilisés dans l'étude expérimentale.



Agitateur vortex



l'etuve



le compteur des colonies



Chauffe-ballon



Balance analytique



Autoclave

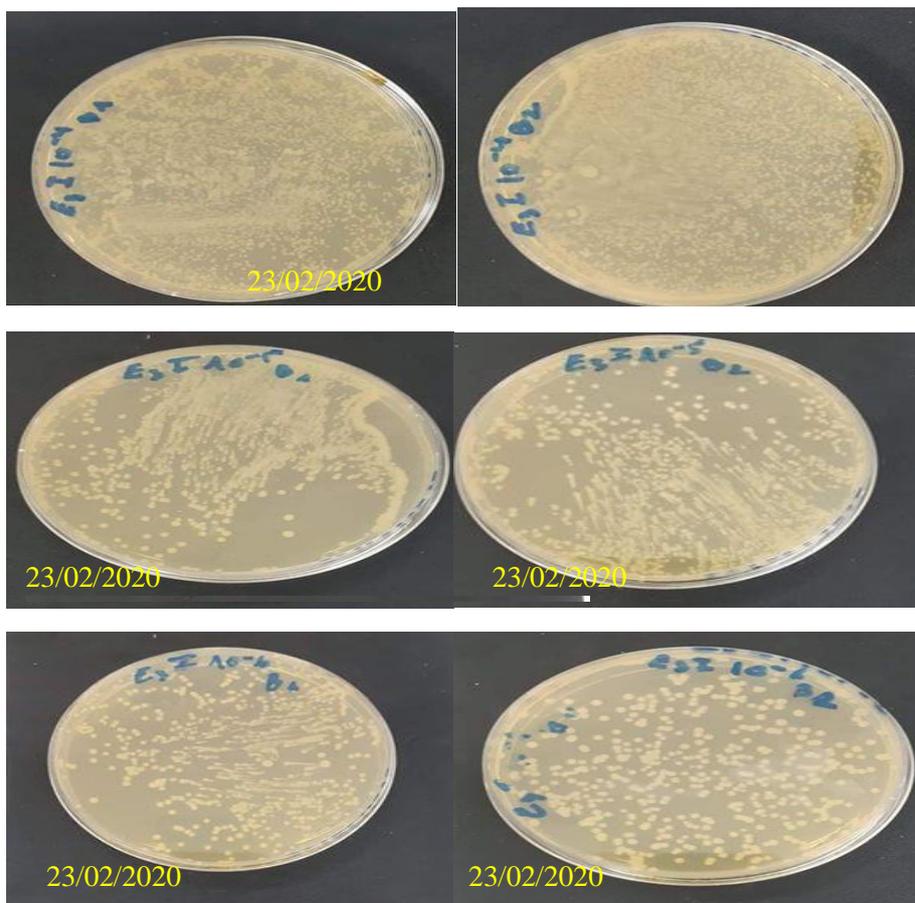
Annexe 04 : la gamme de la dilution décimales (10^{-1} jusqu'à 10^{-7}) pour les deux types du lait de la chamelle (cru et fermenté).



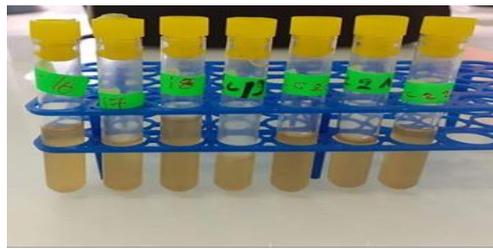
A. Lait cru

B. Lait fermenté

Annexe 05 : les résultats du dénombrement des levures sur le milieu YEPGCA.



Annexe 06 : La pré-culture d'isolat de la levure dans le bouillon YEPG.



Annexe 07 : la conservation d'isolat dans le milieu YEPG solide incliné.



Annexe 08 : logiciel de l'identification API 20C AUX V2.0.

API 20 AUX V2.0																											
Candida kefir 1											TB Id																
T											0,58																
	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	HYPH							
	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-							
API 20 AUX V2.0	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	HYPH	P(taxon / profil)	P(taxo n/ profil)	P(plus typique)	S	taxons	nombre d'incomp atibilités	
profil	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-			1,00E-05				
Candida albicans 1	100	14	99	2	95	94	96	100	0	94	85	99	0	0	100	97	97	4	0	100	2,96E+23	0,0%	5,11E+39	-2,25	-	4	
Candida albicans 2	100	0	100	0	90	1	75	100	0	70	0	100	0	0	90	0	5	0	0	90	4,44E+25	0,0%	3,60E+39	-1,78	-	6	
Candida ciferrii	100	80	80	100	100	70	80	100	100	50	0	100	60	0	95	100	100	0	100	100	2,88E+24	0,0%	7,66E+38	-1,88	-	6	
Candida colliculosa	100	60	100	0	0	0	20	1	0	90	0	0	0	0	0	100	85	0	75	0	1,22E+30	0,0%	2,73E+39	-0,87	-	3	
Candida farmata	100	98	100	60	80	100	90	100	0	100	99	99	98	70	100	100	99	80	95	1	7,43E+24	0,0%	2,12E+39	-1,89	-	3	
Candida glabrata	100	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	94	0	0	9,41E+23	0,0%	7,74E+39	-2,18	-	7	
Candida guilliermondii	100	100	88	90	93	94	99	99	0	97	96	99	99	0	94	100	99	94	95	46	4,70E+24	0,0%	2,78E+39	-1,95	-	1	
Candida humicola	100	82	100	100	100	36	64	100	100	95	100	100	91	100	100	82	99	95	100	100	1,18E+21	0,0%	2,24E+39	-2,66	-	7	
Candida inconspicua	100	77	57	0	0	0	0	0	0	0	0	43	0	0	0	0	0	0	0	3	3,68E+25	0,0%	2,38E+39	-1,76	-	6	
Candida kefir 1	100	69	0	31	91	4	47	10	0	39	0	0	8	99	0	100	1	0	100	89	7,56E+36	99,8%	9,71E+38	0,58	Candida kefir 1	0	
Candida kefir 2	100	86	7	0	7	0	71	100	0	100	86	0	71	84	100	100	93	100	84	40	4,78E+31	0,0%	1,27E+39	-0,48	-	2	
Candida kruzei	100	87	0	0	0	0	0	0	0	0	36	0	0	0	0	0	0	0	95	2,78E+24	0,0%	5,29E+39	-2,06	-	7		
Candida lambica	100	70	0	0	95	0	0	0	0	0	0	90	0	0	0	0	0	0	0	100	6,65E+24	0,0%	5,99E+39	-1,99	-	7	
Candida lipolytica	100	100	0	0	0	0	0	0	28	0	49	0	0	0	0	0	0	0	93	1,00E+26	0,0%	3,41E+39	-1,71	-	6		
Candida lusitanae	100	95	95	1	80	95	40	40	0	99	60	95	80	0	100	99	100	99	0	100	1,18E+22	0,0%	1,08E+39	-2,39	-	5	
Candida magnoliae	100	100	50	0	0	0	33	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	84	0	84	0	1,37E+33	0,0%	2,79E+39	-0,26	-	3
Candida maris	100	66	0	0	66	16	83	100	0	83	0	16	0	0	0	0	0	0	16	1,78E+33	0,0%	1,78E+39	-0,20	-	3		