

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Spécialité/Option : Production et Transformation Laitière
Département : d'Ecologie et Génie de L'environnement

THÈME

Contribution à l'étude quantitative et qualitative de la flore fongique du lait de tank dans la région de Guelma

Présenté par :

BOUDOUR Ala Eddine

BOUHALIT Charaf

GUERZIZ Teyssir Fekhr El Islam

Devant le jury composé de :

Dr. BENRBIHA Romaila (MAA)

Dr. DJAMAA Fatma (MCB)

Dr. KSOURI Samir (MCA)

Président

Examinateur

Encadreur

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Juillet 2021

Remerciements

Nous remercions dieu tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Dr. BENRBIHA Romaila, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury .Veuillez accepter l'expression de notre sincère reconnaissance.

Dr. DJAMAA Fatma, de nous avoir fait l'honneur d'être examinatrice et de participer au jury de ce mémoire. Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudee pour le temps précieux que vous consacrer pour juger ce travail.

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadreur, Dr. KSOURI Samir pour la totale confiance qu'elle nous a accordée, pour sa grande disponibilité, ses précieux conseils ainsi que sa sympathie et sa gentillesse. Nous le remercions pour sa rigueur scientifique et de nous avoir responsabilisées tout au long de notre travail.

On remercie tous nos collègues d'étude particulièrement notre promotion et tous ce qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Enfin, nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel technique des laboratoires.



Dédicace



Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, qui m'ont donné beaucoup de soutien durant mon cursus.

Je dédie aussi ce travail, avec beaucoup de joie et d'estime, à mes chères sœurs.

Et à toute ma famille.

Et pour tous ceux qui m'ont encouragé de près ou de loin.

Et à tous mes amies.

ALA EDDINE



Dédicace



Je remercie tout d'abord, Allah, Le tout puissant et clément de m'avoir inspiré et m'avoir guidé dans le bon chemin. Je vous dois ce que je suis devenue.

Je dédie ce modeste travail aux :

Mes parents qui m'ont mis au monde : Ferhat (paix a son âme) et Halima.

Mes deuxièmes parents qui m'ont élevé : Noureddine et Louisa (Maria).

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien être.

Que dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.

À mes frères : Djalal et Kader que Dieu les gardes à moi.

À mes sœurs : Amal (Saida) et Adala celles qui mettent de la couleur dans ma vie.

À toute ma famille : Bouhalit, Bouzaaroura, Maghmouli et Guettaf.

À mes chers binômes : Ala Eddine et Teysir.

À mes chers amis : Rahim et Rafiq tous ceux qui m'avaient aidé à réaliser ce travail.

À manel qui m'a donné un grand coup de main.

À tous ceux qui sont proches de nos cœurs.

Charaf



Dédicace



Remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir inspiré et m'avoir guidé dans le bon chemin. Je vous dois ce que je suis devenue.

Je dédie ce modeste travail aux :

Ma mère, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices

A mon père, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordé

A mes frères Firas et Atef et à ma très chère petite sœur Line

A tous les membres de ma famille

A tous mes amis surtout Doudou, Faycel, Ramzi, Firdaws et Khawla.

A mes camarades Charaf et Ala, à qui je souhaite une vie plein de joie et de réussite.

A tous mes collègues d'études et tous ceux qui m'aiment ...

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infallible, Merci d'être toujours là pour moi.

Jeysir

المخلص

تم إجراء التحديد النوعي والكمي لفطريات خزانات الحليب في مزارع الأبقار والألبان في مناطق مختلفة من ولاية قالمة في هذا العمل خلال شهري أبريل ومايو 2021. العينات الثلاثين التي تم إجراؤها (20 على مستوى المزرعة و10 من مزارعي الألبان) في ثلاث بيئات متنامية عن طريق الغمر (1 / 0.5g Sabouraud Chloramphénicol، Oxytetracycline، Glucose-Agar Agar وSoya-Trypsic Agar).

سمحت لنا هذه التحليلات الفطرية بتحديد مدى انتشار عينات حليب الخزان المحتوية على الفطريات (56.67%). بالإضافة إلى ذلك، فإن تحديد أنواع الخمائر والقوالب التي نمت على وسط الاستزراع جعل من الممكن حساب تكرار عزل كل نوع من الفطريات.

انتشار واضح *Candida kefyr* في فنتي حليب الخزان الذي تم أخذ عينات منه بتكرار 31.25% أو 32/10 من العزلات. عزلات أخرى لأنواع فطرية متنوعة للغاية أقل تكرارا (*Cryptococcus laurentii* في 15.62% من العزلات أو 32/5، أنواع *Candida famata* و *Scytalidium hyalinum* في 6.25% من العزلات أو 32/2) عزلة منخفضة مثل:

Candida guilliermondii، *Candida zeylanoides*، *Candida sphaerica* و *Candida boidinii*، *Rhodothorula mucilaginosa*، *Trichosporon asahii*، *Trichosporon micoides*، *Geotrichum candidum*، *Geotrichum klebahnii*، *Cryptococcus neoformans*، *glutinis*، *Saccharomyces cerevisia*. في 3.12% من العزلات لكل منها، أي 32/1. بالإضافة إلى ذلك، فإن معظم العزلات الفطرية في هذا العمل محملة بشكل معتدل إلى ثقيل (++) إلى (+++). بناءً على نتائج هذه الدراسة، يمكننا أن نقترح أن اكتشاف الأنواع الفطرية مثل *Cryptococcus neoformans* وما إلى ذلك في خزانات المزارع والحليب الذي يتم تسويقه أمر مثير للقلق، لأن العديد من هذه العوامل المسببة للأمراض خاصة في المواد المناعية. علاوة على ذلك، فإن التأثير الاقتصادي لهذه الأنواع الفطرية مهم للغاية، مما يتطلب زيادة جهود النظافة في الحظائر وصالات الحلب وخاصة في منتجات الألبان.

الكلمات المفتاحية: الحليب - الخزان - الألبان - الفلورا الفطرية - التحليل الفطري - التأثير.

Abstract

The qualitative and quantitative determination of the fungal flora of the milk tanks of dairy cow and dairy farms in different regions of the wilaya of Guelma they carried out in this work during the month of April and May 2021. The 30 samples that they carried out (20 at farm level and 10 from dairy farmers) are planted in three growing environments by inundation (Sabouraud Chloramphenicol 0.5g/l, Oxytetracycline-Glucose-Agar agar and Soya-Trypsic agar). These mycological analyzes allowed us to determine the prevalence of tank milk samples containing fungi (56.67%). In addition, the identification of the species of yeasts and molds, which have grown on the culture media, has made it possible to calculate the frequency of isolation of each fungal species. A clear predominance of *Candida kefyr* in the two categories of tank milk sampled with a frequency of 31.25% or 10/32 of the isolates. Other isolations of very diverse fungal species of less frequent (*Cryptococcus laurentii* in 15.62% of isolates or 5/32, the species *Candida famata* and *Scytalidium hyalinum* in 6.25% of isolates or 2/32) a low isolation such as: *Candida boidinii*, *Candida sphaerica*, *Candida zeylanoides*, *Candida guilliermondii*, *Trichosporon micoides*, *Trichosporon asahii*, *Rhodothorula mucilaginosa*, *Rhodothorula glutinis*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum klebahnii*, *Geotrichum candidum* *Saccharomyces cerevisiae* and *Penicillium* sp. In 3.12% of isolates for each is 1/32. In addition, most of the fungal isolates in this work are moderately to heavily loaded (++ to +++). Based on the results of this study, we can suggest that the detection of fungal species such as *Cryptococcus neoformans* etc. in the tanks of the farms and the milk marketed by the milkmen is alarming, because many of these are pathogenic especially in the immunreceptive subjects and particularly more predisposing. Furthermore, the economic impact of these fungal species is very important, which requires increased hygiene efforts in barns, milking parlors and especially in dairy.

Keywords: Milk - Tank - Dairy - Fungal flora - mycological analysis - Incidence.

Résumé

La détermination qualitative et quantitative de la flore fongique des tanks de lait des fermes des vaches laitières et des laitiers de différentes régions de la wilaya de Guelma a été effectuée dans le présent travail durant le mois d'avril et mai 2021. Les 30 échantillons qui ont été réalisés (20 au niveau des fermes et 10 auprès des laitiers) sont ensemencés dans trois milieux de culture par inondation (Sabouraud Chloramphénicol 0.5g/l, gélose d'Oxytétracycline-Glucose-Agar et la gélose de Soja-Trypsique). Ces analyses mycologiques nous ont permis de déterminer la prévalence des échantillons de lait de tank contenant des champignons (56.67%). De plus, l'identification des espèces de levures et de moisissures qui ayant poussées sur les milieux de cultures, a permis de calculer la fréquence d'isolement de chaque espèce fongique. Une nette prédominance de *Candida kefyr* dans les deux catégories de lait de tank échantillonné avec une fréquence de 31.25% soit 10/32 des isolats. D'autres isollements des espèces fongiques très diversifiés moins fréquents (*Cryptococcus laurentii* dans 15.62% des isolats soit 5/32, l'espèce *Candida famata* et *Scytalidium hyalinum* dans 6.25% des isolats soit 2/32) à faible isolements comme : *Candida boidinii*, *Candida sphaerica*, *Candida zeylanoides*, *Candida guilliermondii*, *Trichosporon micoides*, *Trichosporon asahii*, *Rhodothorula mucilaginosa*, *Rhodothorula glutinis*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum klebahnii*, *Geotrichum candidum* *Saccharomyces cerevisiae* et *Penicillium sp.* dans 3.12% des isolats pour chacune soit 1/32. De plus, la plupart des isolats fongiques du présent travail sont moyennement à fortement chargé (++ à +++). Sur la base des résultats de cette étude, nous pouvons suggérés que la détection des espèces fongiques telles que *Cryptococcus neoformans*, dans les tanks des fermes et le lait commercialisé par les laitiers est alarmante, parce que beaucoup de celles-ci sont pathogènes surtout chez les sujets immunréceptifs et particulièrement plus prédisposant. Par ailleurs, l'incidence économique de ces espèces fongiques est très importante ce qui impose d'augmenter les efforts d'hygiène au niveau des étables, des salles de traite et surtout chez les laitiers.

Mots clés : Lait – Tank – Laitier – Flore fongique – analyse mycologique – Incidence

Sommaire

| | |
|--|-----------|
| Introduction | 1 |
| Matériel et Méthodes | |
| 1. Matériel | 7 |
| 1.1. Échantillonnage | 8 |
| 1.2. Matériel d'échantillonnage et de laboratoire | 8 |
| 2. Méthode | 10 |
| 2.1. Méthode d'échantillonnage de lait | 10 |
| 2.2. Méthode d'analyse de laboratoire | 10 |
| 2.2.1. Analyses mycologiques | 10 |
| 2.2.1.1. Culture | 10 |
| 2.2.1.1.1. Choix de milieux de cultures | 10 |
| 2.2.1.1.2. Ensemencement | 11 |
| 2.2.1.1.3. Incubation | 11 |
| 2.2.1.1.4. Lecture | 11 |
| 2.2.1.1.5. Repiquage | 12 |
| 2.2.1.2. Galerie d'identification des champignons | 12 |
| 2.2.1.2.1. Milieu à base de crème de riz (Rice Cream) | 12 |
| 2.2.1.2.2. Milieu Sabouraud Actidione | 12 |
| 2.2.1.2.3. Milieu à l'Urée Indol | 13 |
| 2.2.1.2.4. Milieux à base de sérum (test de blastése) | 13 |
| 2.2.1.2.5. Galerie Api 20 C AUX | 13 |
| 2.2.1.2.6. Identification des levures | 13 |
| Résultats et Discussion | |
| 1. Résultats globaux | 15 |
| 1.1. Espèces fongiques isolées | 17 |
| 1.2. Charge microbienne | 20 |
| 2. Etude de la qualité de la flore fongique de chaque catégorie de lait de tank | 21 |
| 2.1. Etude de la flore fongique de lait provenant de tanks des fermes | 21 |
| 2.1.1. Prévalence des échantillons de lait provenant de tanks des fermes | 21 |
| 2.1.2. Etude de la Fréquence d'isolement des espèces fongiques des échantillons des fermes | 22 |
| 2.2. Etude de la flore fongique des échantillons réalisés auprès des laitiers | 24 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.1. Prévalence des échantillons de lait provenant de tanks des laitiers | 24 |
| 2.2.2. Etude de la Fréquence d'isolement des espèces fongiques des échantillons réalisés auprès des laitiers | 25 |
| 3. Etude de l'impact sanitaire et économique de la détection des espèces de champignons dans le lait de tank | 26 |
| 3.1. Impact sanitaire | 26 |
| 3.2. Impact économique | 28 |
| Conclusion | 29 |
| Références bibliographiques | 32 |
| Annexes | 38 |

Liste des figures

| Figure N° | Titre | Page |
|----------------------|--|-------------|
| 1 | Démarche d'analyses mycologiques adoptées au laboratoire d'analyse. | 14 |
| 2 | Prévalence (%) des échantillons de lait de tank positifs aux analyses mycologiques. | 16 |
| 3 | Fréquence (%) des espèces fongiques isolées dans les échantillons de lait de tank. | 18 |
| 4 | Prévalence des échantillons positifs de lait de tank des fermes. | 21 |
| 5 | Fréquence (%) des espèces fongiques isolées de lait des fermes. | 23 |
| 6 | Prévalence (%) des échantillons positifs de lait de tank de quelques laitiers de la wilaya de Guelma. | 24 |
| 7 | Fréquence (%) des espèces fongiques dans les échantillons de lait réalisé auprès les laitiers de la wilaya de Guelma. | 25 |

Liste des tableaux

| Tableau N° | Titre | page |
|-----------------------|--|-------------|
| 1 | Matériels d'échantillonnages et de laboratoire. | 9 |
| 2 | Résultats des analyses mycologiques des échantillons de lait de tank. | 15 |
| 3 | Nombre des espèces fongiques détectées dans les échantillons de lait de tank. | 17 |
| 4 | Charge microbienne des espèces fongiques détectées dans les échantillons du lait de tank. | 20 |
| 5 | Nombre des espèces fongiques isolées sur les échantillons de lait des fermes. | 22 |
| 6 | Nombre des espèces fongiques détectées dans les prélèvements de lait effectué auprès les laitiers de la wilaya de Guelma. | 25 |

Liste des abréviations

MG ou **FAT** : matières grasses.

UHT : ultra haute température.

D : la densité.

C : la conductivité électrique.

SNG : solides non gras.

pH : potentiel hydrique.

P : protéine.

E : teneur en eau ajoutée.

T : température.

PC : point de congélation.

S : les sels.

L : lactose.

Sab/Ch : sabauroud cloramphénicol.

OGA : Oxytétracycline-Glucose-Agar.

TSA : Tryptic Soy Agar.

Tours/minute : tours par minute.

Introduction

Les champignons sont des organismes qui peuvent se propager dans de nombreux habitats différents à travers le monde et affecter directement ou indirectement les présences vivantes et non vivantes (Durugboetal., 2013). Ils sont partout en très grand nombre dans le sol et dans l'air, dans les lacs, les rivières et les mers, et à l'intérieur des plantes et des animaux, dans les aliments et les vêtements, et dans le corps humain (Vernon et al., 2020).

Avec les bactéries, les champignons sont responsables de la décomposition de la matière organique et de la libération de carbone, d'oxygène, d'azote et de phosphore dans le sol et l'atmosphère (McGraw-Hill Education, 2001).

Bien que nous considérions souvent les champignons comme des organismes qui causent des maladies et pourrissent les aliments, ils sont d'une importance vitale pour la vie humaine à de nombreux niveaux. Les champignons influent sur le bien-être des populations humaines à grande échelle parce qu'ils font partie du cycle des nutriments dans l'écosystème (Mary et al., 2018).

Selon Tabuc (2017), ils sont des contaminants fréquents de nombreux substrats végétaux et de certains produits d'origine animale. Leur présence peut améliorer les qualités organoleptiques du produit ou, au contraire, l'altérer et conduire à l'accumulation de métabolites secondaires toxiques : les mycotoxines.

Les champignons sont importants pour la vie quotidienne des humains. Ils sont des décomposeurs importants dans la plupart des écosystèmes. Les champignons *mycorhiziens* sont essentiels à la croissance de la plupart des plantes. Ils jouent un rôle dans la nutrition humaine sous forme de champignons, mais aussi comme agents de fermentation dans la production de pain, de fromages et de nombreuses autres préparations alimentaires (Mary et al., 2018).

En tant qu'organismes eucaryotes simples, les champignons sont d'importants organismes modèles de recherche. De nombreux progrès dans la génétique moderne ont été réalisés par l'utilisation d'une des espèces de champignons. Ils sont essentiels à de nombreux procédés domestiques et industriels (Mary et al., 2018).

De nombreux métabolites secondaires des champignons sont d'une grande importance commerciale (Mary et *al.*, 2018). Certains champignons produisent naturellement des antibiotiques pour empêcher les bactéries de se développer à proximité. La Pénicilline antibiotique est produite par le champignon imparfait *Penicillium*. Le *Penicillium* est cultivé commercialement et l'antibiotique est vendu pour aider les humains et d'autres animaux à combattre les infections causées par des bactéries. Le médicament cyclosporine provient d'un champignon. La cyclosporine aide à lutter contre le rejet par l'organisme des organes transplantés (McGraw-Hill Education, 2001).

Le lait est une production agricole universelle, les éleveurs traitent des animaux laitiers dans presque tous les pays du monde, et jusqu'à un milliard de personnes consomment du lait de ferme, et plus de 6 milliards de consommateurs de lait et de produits laitiers dans le monde (Torsten et Joachim, 2010).

C'est un élément vital du système alimentaire mondial et il joue un rôle clé dans la durabilité des zones rurales en particulier. Dans la plupart des pays en développement, le lait est produit dans de très petites structures et il contribue nettement aux moyens de subsistance des ménages, à la sécurité alimentaire et à la nutrition. Le développement laitier est en effet considéré comme générant de nombreux bienfaits pour ses acteurs, tant au niveau des éleveurs que des collecteurs et transformateurs du lait (Udo et *al.*, 2011).

Il est bien connu que l'industrie laitière contribue activement à l'économie de plusieurs collectivités, régions et pays. Une demande croissante à l'échelle mondiale est en train d'émerger, et l'industrie se mondialise, ce qui accroît la portée et l'intensité du commerce laitier mondial (Sraïri et *al.*, 2019).

La production laitière est inextricablement liée à l'environnement. Cette dernière dépend dans une large mesure des activités humaines (Khaniki, 2007).

Quant à la composition, le lait contient presque tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance du jeune mammifère (Mahaut et *al.*, 2000). C'est un aliment complet qui contient des protéines, des glucides, des minéraux ainsi que des vitamines (Cayot et Lorient, 1998). Généralement, le lait est un édifice physico chimique d'une grande complexité et comprend plus de 50 constituants (Simantov, 1989).

Par ailleurs, le lait constitue un écosystème favorable pour le développement des microorganismes. Certains d'entre eux sont utiles, d'autres sont pathogènes pour l'animal et

l'homme et d'autres sont responsables d'altération de la qualité sensorielle, organoleptique et nutritionnelle du lait (Guiraud, 1998), en provoquant des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et libération en leur sein de composés indésirables. Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisent par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture (Guiraud, 2003).

D'après M'larab (2014), le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 103 germes/ml), il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores. En général, le lait cru est protégé des bactéries par des substances inhibitrices appelées « lacténines », mais leur action est de très courte durée (environ une heure). Mais d'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade : ils sont généralement pathogènes et dangereux (Cohick, 1988). Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infection de pis ; comme il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait (Guiraud, 2003).

Donc, il est très rare d'obtenir un lait stérile. Il y a presque toujours dans la mamelle des germes banaux qui contaminent le lait au moment de sa récolte (Guiraud, 1998). Cette population originaire de la mamelle saine est, en général peu nombreuse, elle dépasse rarement 1000 germes par ml. Elle peut n'être composée que de quelques dizaines de germes (Anne, 1991).

Les laits présentent une diversité de composition microbienne notamment dans la proportion entre les flores d'intérêt technologique et les flores d'altération (Michel et al., 2001), On peut distinguer les bactéries lactiques qui constituent l'un des groupes de microorganismes le plus largement utilisé dans la production de divers types d'aliments fermentés (Amandine, 2017). L'équilibre entre flores dites d'intérêt technologique et celles dites d'altération peut être très différent d'une production laitière à l'autre. De plus, une faible charge microbienne dans le lait ne garantit pas sa qualité sanitaire (Michel, 2004).

De plus, on trouve assez fréquemment dans le lait cru, des cellules volumineuses rondes ou ovales, non bourgeonnantes, appartenant au genre *Candida*. On les appelle usuellement *Torulacremoris* et *Torulalactosa* (Langeron et Vanbreseughem, 1952).

Selon Startford (2006) on trouve également des levures dans des produits alimentaires, les moisissures n'ont pratiquement pas d'importance dans le lait liquide, mais peuvent cependant

altérer certains produits laitiers. Selon Claude (1976) la présence de moisissures est cependant nécessaire à de nombreux fromages.

Beaucoup d'espèces différentes de moisissures peuvent se trouver dans le lait. Leur présence dans le lait est probablement une suite de contamination, due aux conditions dans lesquelles les vaches sont logées, nourries et traitées, et au nettoyage incomplet des ustensiles de laiterie. Des moisissures sont souvent présentes dans les produits alimentaires employés et les spores sont éparpillées dans l'air et ainsi dans le lait ; d'autres sont apportées par la poussière adhérent à l'animal, ou peuvent avoir leur origine dans le fumier. Les principales moisissures trouvées dans le lait par ordre de fréquence sont ; *Penicillium*, *Oospora* (*Oidium*) *lactis*, *Phoma*, des espèces d'*Aspergillus* ; des espèces de *Oladosporium* (*Hormodendrum*) sont plus rarement trouvées ; d'autres espèces sont rarement trouvées, et quand on les trouve, il y en a généralement moins de 20 cm³(Grimes et *al.*, 1933). Sans nier le risque encouru en relation avec les mycotoxines dans les produits laitiers, il ne faut pas en exagérer le danger (Claude, 1976).

Certes, les moisissures et les levures sont reconnues comme une cause importante de détérioration de divers produits laitiers (Filtenborg et *al.*, 1996). La contamination des produits laitiers par différents types de champignons, en particulier des espèces d'*Aspergillus*, de *Fusarium* et de *Penicillium*, constitue un danger pour la santé publique, car ces champignons sont connus pour produire des mycotoxines qui sont nocives pour l'homme (Pal, 2002).

Les effets de ces substances biologiquement actives peuvent être très différents, certains seront immunosuppresseurs (Herter et *al.*, 2014). D'autres cancérogènes, mutagènes, tératogènes ainsi que toxiques pour certains organes par exemple pour le foie, les reins et le système nerveux. Mêmes certaines mycotoxines exercent des effets plutôt hormonaux (Bennett et Klich, 2003).

Donc il paraît que le contrôle de la détérioration fongique est une préoccupation majeure pour les industriels et les scientifiques qui cherchent des solutions efficaces pour prévenir et/ou limiter la détérioration fongique des produits laitiers. Plusieurs méthodes traditionnelles, aussi appelées technologies traditionnelles des obstacles, sont mises en œuvre et combinées pour prévenir et contrôler ces contaminations. Les méthodes de prévention comprennent les bonnes pratiques de fabrication et d'hygiène, la filtration de l'air et les systèmes de décontamination, tandis que les méthodes de contrôle comprennent les

traitements d'inactivation, le contrôle de la température et l'atmosphère modifiée (Garnier et *al.*, 2017).

En effet, dans la présente enquête, nous sommes intéressés à l'étude de la flore fongique dans quelques échantillons du lait destiné à la consommation humaine direct et/ou à la transformation. Les objectifs qui ont été tracé pour cette étude sont comme suit :

- Détermination de la prévalence les échantillons de lait qui sont positifs aux analyses mycologiques.
- Répertoire les différentes espèces des champignons qui sont détectées dans les échantillons de lait, en estimant leur charge parasitaire et enfin, nous étudions par ailleurs, leur impact sur la santé publique et la chaîne industrielle de transformation de lait.

Etude pratique

I. Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Échantillonnage

Les échantillons du lait cru de tank réalisés dans le présent travail ont été effectués dans différentes communes et localités de la wilaya de Guelma : Guelma (chef-lieu), Boumahra Ahmed, Belkheir, Bouaati Mahmoud, Benjerah, Maouna, Bouchegouf, DjbalaKhmissi, Béni Mezline, Salah Soufi, Mechtat Oum Lehnach, Ain Larbi et Oued Zenati.

Au total, 30 prélèvements du lait de tank ont été réalisés dont 20 échantillons ont été effectués dans des exploitations de bovins laitiers (ferme pilote Mekhancha Nafaa, ferme privé de Gherib Amar, la ferme de Ajroud Chaouki, les autres sont des élevages prives traditionnelles de type extensif) et 10 prélèvements ont été réalisés au niveau de différentes points de vente des laitiers de la wilaya de Guelma (Rue d'Anona, Benjerah, Boumahra Ahmed, Bouchegouf et Oued Zenati).

Il faut noter aussi, que le lait échantillonné dans la présente étude est prélevé de plusieurs races de bovins laitiers (vaches laitières et allaitantes) qui sont : la race Prime Holstein, la race Montbéliarde et la race locale « la Guelmoise » (Brune d'Atlas).

1.2. Matériel d'échantillonnage et de laboratoire

Dans le tableau 1, nous avons collectés tous le matériel nécessaire pour la réalisation de cette étude.

Tableau1 : Matériels d'échantillonnages et de laboratoire.

| Matériel multi usage | Matériel à usage unique | Colorants | Milieux de culture | |
|--|---|---|---|--|
| | | | Liquides | Solides |
| <ul style="list-style-type: none"> • Réfrigérateur • Étuve (27C°37C°) – incubateur • Autoclave • Four • Centrifugeuse • Microscope • Bec benzène • Portoirs • Agitateur magnétique • Anse de platine • Poire • Balance professionnelle • Micropipettes • Bains marie • Distillateur • Spatule • Vortex • Lactoscane • pH mètre • Pince • Flacon 180 ml • Flacon 250 ml • Becher | <ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée • Eau physiologique • Lames et lamelles • Pipettes pasteur • Tubes à essais stériles • API C médium 7ml • Boîtes à pétrie stérilisées • Seringue | <ul style="list-style-type: none"> • Bleu lactophénol • Bleu de méthylène • Encre de chine | <ul style="list-style-type: none"> • Sérum (bovin) • Milieu Urée Indol | <ul style="list-style-type: none"> • Sabouraud chloramphénicol • RiceCream • Sabouraudactidione 0,5g/l • Api 20C AUX |

2. Méthode

2.1. Méthode d'échantillonnage de lait

Après homogénéisation du lait de tank, nous avons remplis des récipients en verres stériles de 250 ml du lait cru. Puis les échantillons de lait ont été identifiés et numérotés (le nom, le prénom et lieu de provenance). Par la suite, les prélèvements de laits sont placés dans une glacière isotherme munie d'accumulateur de glace puis acheminés vers le laboratoire d'analyse. Dans cette étude, tous les prélèvements du lait a été traité avant l'écoulement de 24h de leur réalisation.

2.2. Méthode d'analyse de laboratoire

2.2.1. Analyses mycologiques

Dans notre étude, nous avons opté deux étapes pour isoler et identifier les champignons du lait de tank : la mise en culture et la galerie d'identification (Figure 1).

2.2.1.1. Culture

2.2.1.1.1. Choix de milieux de cultures

- **Sabouraud/chloramphénicol (0.5g/l)**

La gélose Sabouraud est un milieu de mycologie générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et de moisissures. L'addition de chloramphénicol à pour but d'inhibe la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif (Sabouraud, 1910).

- **OGA**

La gélose Glucosée à l'Extrait de Levure et à l'Oxytétracycline (Oxytétracycline-Glucose-Agar) est recommandée pour le dénombrement des levures et moisissures dans le lait et les produits laitiers et les aliments (Mossel, 1970). C'est un milieu très utilisé dans la microbiologie alimentaire.

- **TSA**

Tryptic Soy Agar (gélose de Soja-Trypsique), est un milieu polyvalent, car il favorise la croissance de microorganismes non exigeants et modérément exigeants. Il n'est pas utilisé pour l'isolement de pathogènes à partir d'échantillons cliniques mais peut servir à cultiver des

souches bactériennes. Ce milieu additionné de sang, il peut servir de milieu d'isolement primaire en microbiologie Clinique (Murray et *al.*, 2003)

2.2.1.1.2. Ensemencement

Après homogénéisation de 250 ml de lait échantillonné, on prend uniquement 14 ml dans des tubes coniques stériles. Ces derniers ont été centrifugés ensuite à 5000 tours/minute pendant 5 minutes. Dans la zone stérile du bec benzène, à l'aide de pipette pasteur, nous avons transféré deux gouttes de culot puis les déposés sur une boîte de Pétri contenant les milieux : la gélose de Sabouraud/chloramphénicol 0.5g/l, le milieu OGA et le milieu TSA. Les deux gouttes de culots sontensemencées par inondation.

2.2.1.1.3. Incubation

Toutes les boîtesensemencées sont ensuite incubées dans une étuve à 27°C pendant cinq jours (Chabasse et *al.*, 1999).

2.2.1.1.4. Lecture

❖ **Macroscopique** : Par simple observation de l'aspect macroscopique des colonies au recto et au verso. Au cours de l'examen macroscopique des colonies, nous notons les points suivants :

- Colonies crémeuses, lisses ou rugueuses, de couleur blanche, beige ou rouge (champignons lévuriformes).
- Colonies duveteuses, cotonneuses ou poudreuses (champignons filamenteux).

Il est important surtout pour les levures, de quantifier le nombre de colonies ayant poussées par l'utilisation du symbole + entre un à quatre + comme suit :

+ : <10 colonies.

++ : 10 à 50 colonies.

+++ : >50 colonies, bien isolées.

++++ : >50 colonies en nappe.

- ❖ **Microscopique** : à l'aide d'une anse de platine, on récupère une partie d'une colonie, puis étalé sur une lame additionnée de bleu de méthylène ou bleu lactophénol, ensuite une lamelle est déposée sur la préparation. La lecture au microscope au grossissement 40X.

2.2.1.1.5. Repiquage

Les colonies ainsi formées ont été repiquées sur gélose de Sabouraud/chloramphénicol et ensuite incubée à 27°C pendant cinq jours. Le but de cette étape consiste à isoler les colonies afin de pouvoir étudier leurs aspects macroscopiques et mettre en évidence les infestations mixtes.

2.2.1.2. Galerie d'identification des champignons

2.2.1.2.1. Milieu à base de crème de riz (Rice Cream)

Le milieu est coulé en boîtes de pétri, l'épaisseur du milieu doit être d'environ 5 mm. Après l'ensemencement d'un fragment de colonie, on la recouvre d'une lamelle stérilisée à la flamme (elle assure la stérilité et l'anaérobiose). Incubation est assurée à 27°C dans l'étuve. La lecture sera faite à 24h, 48h et 72h plus tard. La boîte est déposée sans le couvercle sur le chariot de microscope. Observation au grossissement x40, on va rechercher les éléments fongiques suivants :

-Chlamydozoïdes et *pseudofilaments* (*Candida albicans*).

-*Pseudofilaments* (genre *Candida*).

-Filament avec athrospores (genre *Trichosporon*).

-Absence de filaments.

2.2.1.2.2. Milieu Sabouraud Actidione

Chaque colonie a été réensemencée sur gélose Sabouraud contenant des antibiotiques antifongiques : l'Actidione ou la cycloheximide. Puis, incubation de la culture à 27°C pendant 48 à 72 heures. Dans la lecture des résultats, on lit R ou S comme suit :

R : pour les colonies résistantes à l'actidione.

S : pour les colonies sensibles à l'actidione

2.2.1.2.3. Milieu à l'Urée Indol

Ce test permet de confirmer le diagnostic de *Cryptococcus* sur milieu urée indole. Ces levures produisent une enzyme (uréase) qui peut réduire l'urée. Cette réaction fait passer la couleur de l'urée-indole de jaune orangé au rose violet lorsque la colonie sécrète une uréase. L'espèce *Cryptococcus neoformans* a retourné le milieu en moins de 4 heures. D'autres espèces de *Cryptocoques* et *Rhodotorula* nécessitent un temps d'incubation moyen de 24 heures.

Dans un tube stérile, on prend stérilement une colonie de levure ayant poussé puis on laensemencé dans 0,5 ml du milieu urée indol. Une homogénéisation de la préparation à l'aide d'un vortex puis une incubation à 37°C. Si ce test est positif à 4 h, une coloration à l'encre de Chine dilué 1/5^{ème} est nécessaire.

2.2.1.2.4. Milieux à base de sérum (test de blastése)

Recueillir du sang bovin lors de la saignée des bovins, au niveau de l'abattoir, est conditionnés dans des bouteilles en verre stériles puis transportés au laboratoire dans une glacière afin d'extraire le sérum du sang. Dans ce test, le sérum de bovin est choisi comme milieu de culture pour favoriser la production des filaments germinatifs des *Candida albicans* (test de filamentation).

0.5 à 1 ml de sérum dans un tube stérile, puis à l'aide d'une anse de platine, gratté une colonie bien séparée et la décharger dans 0,5 ml de sérum. Le tout est bien homogénéisé pour obtenir une solution de levure (utilisez le vortex). Incuber ensuite à l'étuve à 37°C pendant 3 heures. En observant sous un grossissement x40, la présence d'un tube germinatif est spécifique de *Candida albicans*.

2.2.1.2.5. Galerie Api 20 C AUX

C'est un système permettant d'identifier avec précision les levures les plus courantes. La galerie API 20 C AUX est composé de 20 cupules contenant des substrats déshydratés et peut effectuer 19 tests d'assimilation. Les puits sontensemencés avec un milieu minimum semi-agar, et la levure ne peut pousser que si le substrat correspondant peut être utilisé.

2.2.1.2.6. Identification des levures

Nous avons identifiés tous les champignons détectés au cours de cette étude, sur la base d'un logiciel Api Web et d'après la clé d'identification décrite par Kurtzman et Fell (1999).

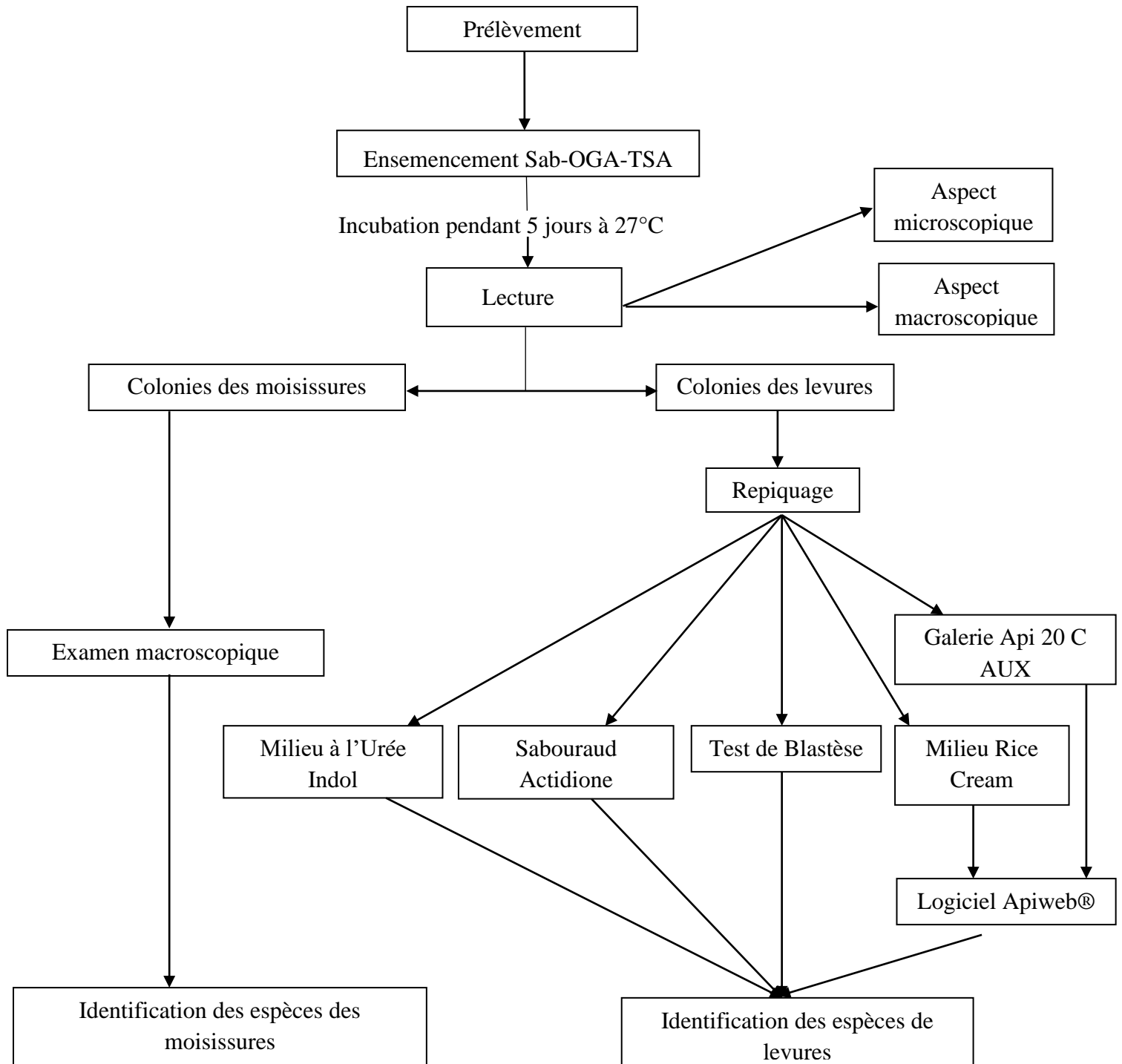


Figure 1 : Démarche d'analyses mycologiques adoptées au laboratoire d'analyse

II. Résultats et Discussion

1. Résultats globaux

Dans cette étude nous considérant un échantillon de lait positif, si un des trois milieux de culture est positif après incubation pendant 5 jours. Les résultats des analyses mycologiques des échantillons de lait sur les trois milieux de cultures qui ont été choisis pour le présent travail sont résumés dans le tableau 1. La figure 2 représente la prévalence (%) des échantillons de lait de tank positifs aux analyses mycologiques.

Tableau 2 : Résultats des analyses mycologique des échantillons de lait de tank.

| Positivité | Nombre des échantillons du lait de tank | | | |
|--------------|---|-----|-----|-------|
| | Sabouraud Chloramphénicol | OGA | TSA | Total |
| + | 14 | 9 | 0 | 17 |
| - | 16 | 21 | 30 | 13 |
| Total | | | | 30 |

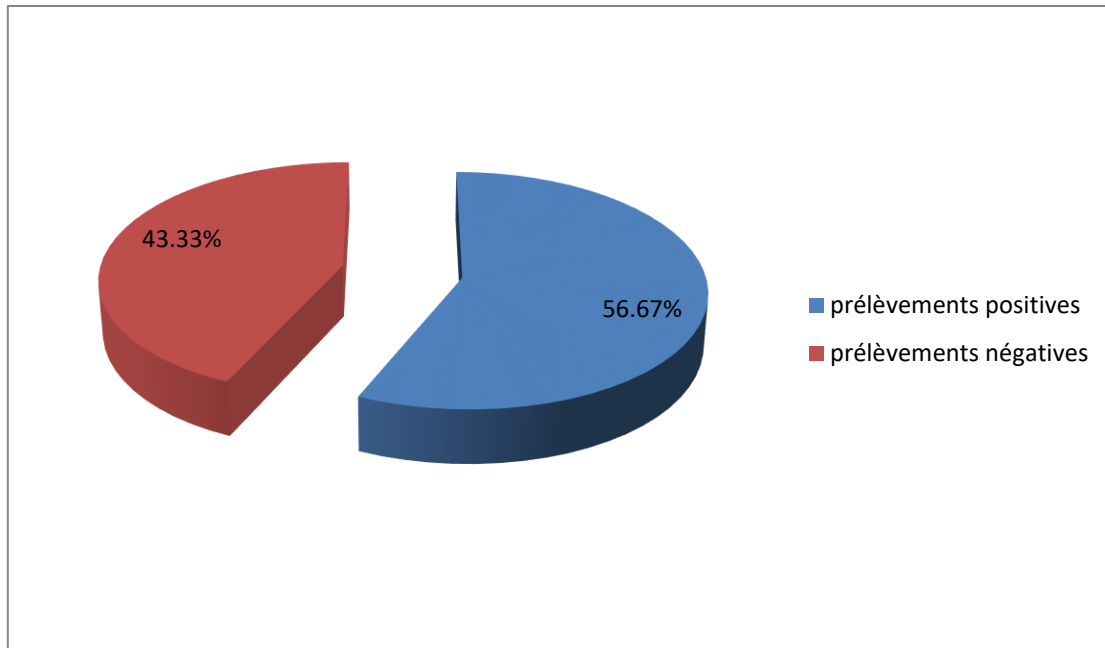


Figure 2 : Prévalence (%) des échantillons de lait de tank positifs aux analyses mycologiques

Les analyses mycologiques des 30 échantillons de lait de tank prélevés sur des différentes exploitations étatique et privées dans des différentes régions de la wilaya de Guelma, nous ont permis de constater les points suivants :

- La positivité sur les trois milieux de culture est variable.
- la positivité est observée uniquement sur le milieu de Sabouraud Chloramphénicol et le milieu OGA.
- la totalité les échantillonsensemencés sur le milieu de culture TSA ont été négatifs.
- Nous tenons compte à la lumière de ces résultats, une prédominance des échantillons de lait de tank analysés au laboratoire de 56.67%, donc presque la moitié des échantillons de lait de tank contenant des champignons.
- Une bonne partie des échantillonsensemencés sur les trois milieux de culture sont négatifs (43.33%).
- dans la présente étude un prélèvement de lait de tank négatif aux analyses de laboratoire ne signifie pas que le lait est sain, car nous avons trouvé au cours des analyses mycologiques beaucoup des échantillons ne contenant aucun champignon mais ils renferment des colonies des bactéries. En effet, la croissance des bactéries est très rapide par rapport aux champignons ce qui va inhiber la croissance mycosique dans une boîte. Bouchara et *al.*, (2010) ont arrivés aux même observations.

1.1. Espèces fongiques isolées

Les analyses de laboratoire de tous les échantillons de lait de tank, nous ont permis de détecter beaucoup de champignon. Le tableau 2 récapitule le nombre de tous les espèces fongiques qui ont été enregistrés dans la présente étude. La fréquence d'isolement des espèces de champignon dans le lait de tank est consignée dans la figure 3.

Tableau 3 : Nombre des espèces fongiques détectées dans les échantillons de lait de tank.

| Genre | Espèces | Nombre |
|----------------------|------------------------|--------|
| <i>Candida</i> | <i>kefyr</i> | 10 |
| | <i>famata</i> | 2 |
| | <i>Boidinii</i> | 1 |
| | <i>sphaerica</i> | 1 |
| | <i>zeylanoides</i> | 1 |
| | <i>guilliermondii</i> | 1 |
| <i>Trichosporon</i> | <i>micoides</i> | 1 |
| | <i>Asahii</i> | 1 |
| <i>Rhodothorula</i> | <i>Mucilaginoso</i> | 1 |
| | <i>Glutinis</i> | 1 |
| <i>Cryptococcus</i> | <i>neoformans</i> | 1 |
| | <i>laurentii</i> | 5 |
| <i>Geotrichum</i> | <i>klebahnii</i> | 1 |
| | <i>candidum</i> | 1 |
| <i>Saccharomyces</i> | <i>cerevisiae</i> | 1 |
| <i>Scytalidium</i> | <i>hyalinum</i> | 2 |
| <i>Penicillium</i> | <i>Penicillium sp.</i> | 1 |
| Total | | 32 |

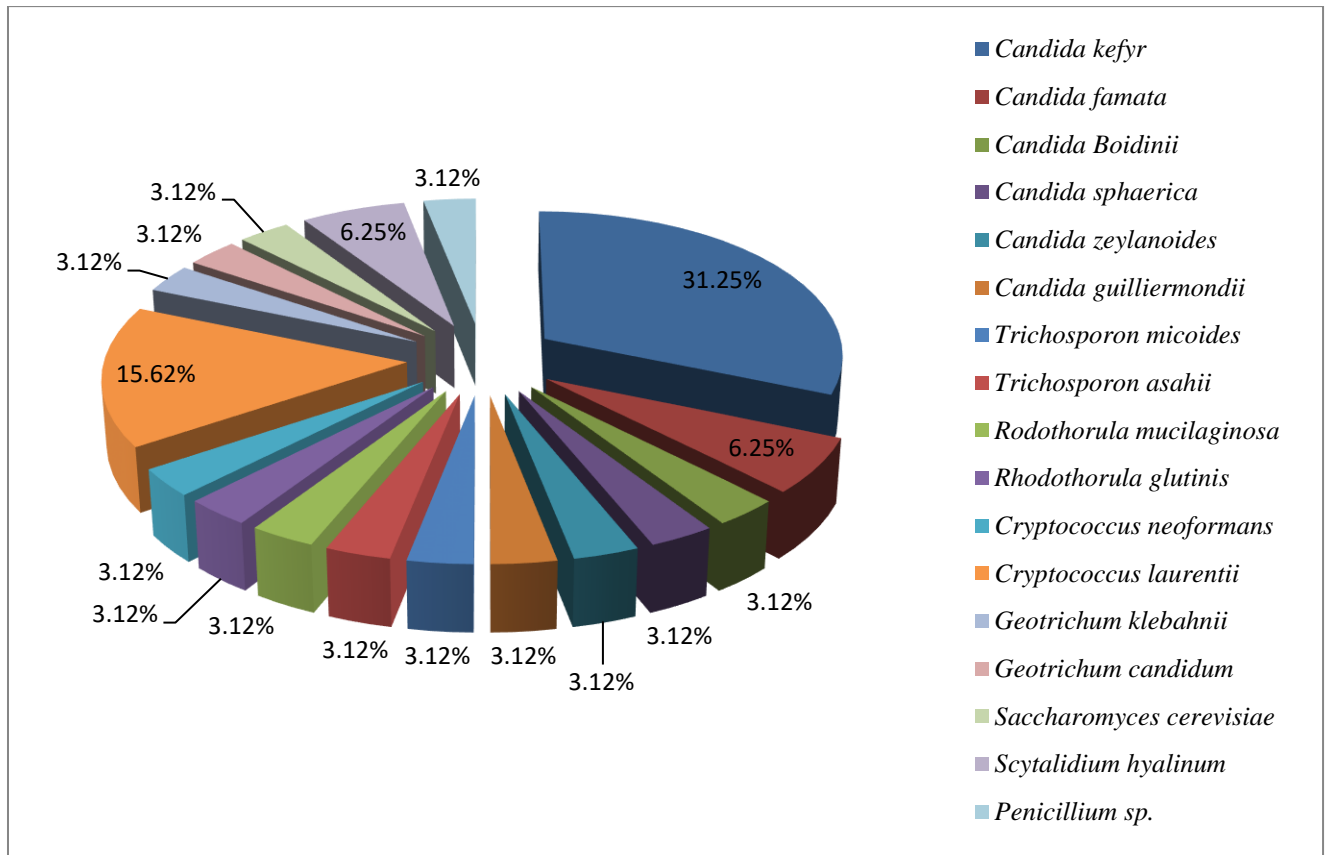


Figure 3 : Fréquence (%) des espèces fongiques isolées dans les échantillons de lait de tank

A la lumière des résultats des répartitions des espèces fongiques dans tous les échantillons de lait de tank, nous notons ce qui suit :

- Sur 30 échantillons du lait de tank effectué au cours de cette étude analysés au laboratoire de microbiologie, 17 espèces fongiques réparties sur 8 genres dans 32 isolations ont été identifiées. Sachant que sur les 17 échantillons de lait de tank qui ont été révélés positifs, nous avons détecté plusieurs associations des champignons sur la même boîte.
- 27/32 des isolats des espèces fongiques détectées sont des champignons levuriformes ou levures contre un nombre d'isolement des espèces de moisissure faible 5/32.
- nous notons également une diversité des espèces de levure, avec une prédominance de genre *Candida* avec 16/32 des isolats suivi par le genre *Cryptococcus* avec 6/32 des isolats.

- Les genres *Trichosporon*, *Rhodothorula* et *Geotrichum* ont été faiblement détectés dans les échantillons de lait de tank dans 2/32 des isolats pour chacune.
- Le genre *Saccharomyces* est rarement détecté avec un seul isolement.
- Quant aux répartitions des espèces fongiques, *Candida kefyr* est apparait l'espèce de levure la plus fréquemment isolée dans le lait de tank avec 10/32 des isolats soit une fréquence de 31.25%, suivi par l'espèce *Cryptococcus laurentii* dans 5/32 des isolats soit 15.62%, puis l'espèce *Candida famata* qui a été détecté dans 2/32 des isolats soit 6.25%.
- des isolements très faibles ont été enregistrés pour *Candida boidinii*, *Candida sphaerica*, *Candida zeylanoides*, *Candida guilliermondii*, *Trichosporon micoides*, *Trichosporon sahaii*, *Rhodothorula mucilaginosa*, *Rhodothorula aglutinis*, *Cryptococcus neoformans*, et *Saccharomyces cerevisiae* dans 1/32 des isolats pour chacune.
- pour les moisissures, quatre espèces ont été détectées dont la plus fréquemment isolée *Scytalidium hyalinum* avec 2/32 des isolats soit 6.25% puis *Penicillium sp.*, *Geotrichum klebahnii* et *Geotrichum candidum* avec 1/32 des isolats pour chacune.

Au regard de ces résultats, il est évident que l'environnement des étables des vaches laitières et les salles de traite sont d'importantes sources de champignons dans le lait. De plus, une importante source de levure a été décrite par Vacheyrou et *al.* (2011) est la surface du trayon. Une étude récente de Quintana et *al.* (2020) montre que la qualité environnementale des fermes joue un rôle important dans la salubrité alimentaire de l'industrie laitière, car elle peut influencer sur les communautés microbiennes du lait. Une autre source probable de ces champignons est liée à une pathologie qui connaît une constante recrudescence, représenté par les mammites mycosiques. En effet, dans une enquête de la situation épidémiologique des mammites mycosiques dans la région de Guelma et Souk Ahras réalisé par Ksouri et *al.* (2014) sur trois catégories de lait sain, subclinique et clinique, où ils ont trouvés une prévalence de la présence des champignons dans ces trois catégories de laits de 12.50%, 5.88% et 15.57% respectivement.

1.2. Charge microbienne

L'étude de la charge microbienne de chaque espèce fongique détectée au laboratoire est assurée par l'appréciation du nombre de colonie afin d'estimer sa charge. Le tableau 3 résume toutes les données de la charge microbienne de chaque espèce fongique isolée.

Tableau 4 : Charge microbienne des espèces fongiques détectées dans les échantillons du lait de tank.

| Genre | Espèce | Charge |
|----------------------|------------------------|----------|
| <i>Candida</i> | <i>kefyr</i> | ++ à +++ |
| | <i>famata</i> | + |
| | <i>boidinii</i> | ++ |
| | <i>sphaerica</i> | + |
| | <i>zeylanoides</i> | ++ |
| | <i>guilliermondii</i> | ++ |
| <i>Trichosporon</i> | <i>micoides</i> | ++ |
| | <i>asahii</i> | + |
| <i>Rhodothorula</i> | <i>mucilaginosa</i> | +++ |
| | <i>glutinis</i> | + |
| <i>Cryptococcus</i> | <i>neoformans</i> | + |
| | <i>laurentii</i> | ++ |
| <i>Geotrichum</i> | <i>klebahnii</i> | +++ |
| | <i>candidum</i> | +++ |
| <i>Saccharomyces</i> | <i>cerevisiae</i> | + |
| <i>Scytalidium</i> | <i>hyalinum</i> | + |
| <i>Penicillium</i> | <i>Penicillium sp.</i> | + |

A la lumière de ces résultats de la charge microbienne des espèces de champignons détectées dans cette étude de la flore de lait de tank, il est évident que la plus part des isolats fongiques sont moyennement a fortement chargé. Cette observation nous amène à penser que quelques champignons probablement provenant de la vache elle-même loin des autres sources de l'environnement immédiat des tanks de lait.

2. Etude de la qualité de la flore fongique de chaque catégorie de lait de tank

2.1. Etude de la flore fongique de lait provenant de tanks des fermes

2.1.1. Prévalence des échantillons de lait provenant de tanks des fermes

Les analyses mycologiques de 20 échantillons de lait de tank, nous ont permis de déterminer la prévalence des échantillons contenant des levures. La figure 4 illustre bien cette prévalence.

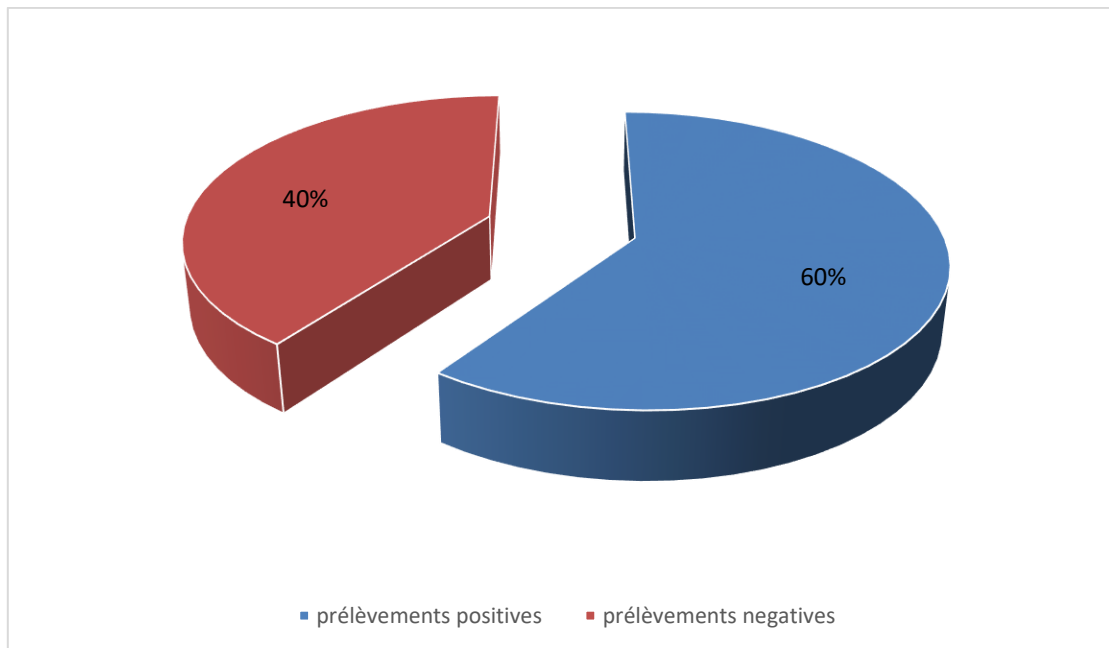


Figure 4 : Prévalence (%) des échantillons positifs de lait de tank des fermes

Ces résultats montrent que plus de la moitié des échantillons de lait réalisés dans les fermes est positif (60%). Cette observation prouve que le niveau de la qualité hygiénique du lait est très bas. Cette richesse en flore fongique est probablement liée aux vaches elles-mêmes ou à l'environnement des salles de traite.

2.1.2. Etude de la Fréquence d'isolement des espèces fongiques des échantillons des fermes

Le nombre et la fréquence de chaque espèce de champignon qui ont été enregistrés dans les échantillons de lait réalisés dans les fermes sont résumés dans le tableau 5 et la figure 5.

Tableau 5 : Nombre des espèces fongiques isolées sur les échantillons de lait des fermes.

| Genre | Espèces | Nombre |
|----------------------|------------------------|--------|
| <i>Candida</i> | <i>kefyr</i> | 5 |
| | <i>famata</i> | 2 |
| | <i>boidinii</i> | 1 |
| | <i>sphaerica</i> | 1 |
| | <i>zeylanoides</i> | 1 |
| | <i>guilliermondii</i> | 1 |
| <i>Trichosporon</i> | <i>micoides</i> | 1 |
| | <i>asahii</i> | 1 |
| <i>Rhodothorula</i> | <i>mucilaginosa</i> | 1 |
| | <i>glutinis</i> | 1 |
| <i>Cryptococcus</i> | <i>neoformans</i> | 1 |
| | <i>laurentii</i> | 3 |
| <i>Geotrichum</i> | <i>klebahnii</i> | 1 |
| | <i>candidum</i> | 1 |
| <i>Saccharomyces</i> | <i>cerevisiae</i> | 1 |
| <i>Scytalidium</i> | <i>hyalinum</i> | 2 |
| <i>Penicillium</i> | <i>Penicillium sp.</i> | 1 |
| Totale | | 25 |

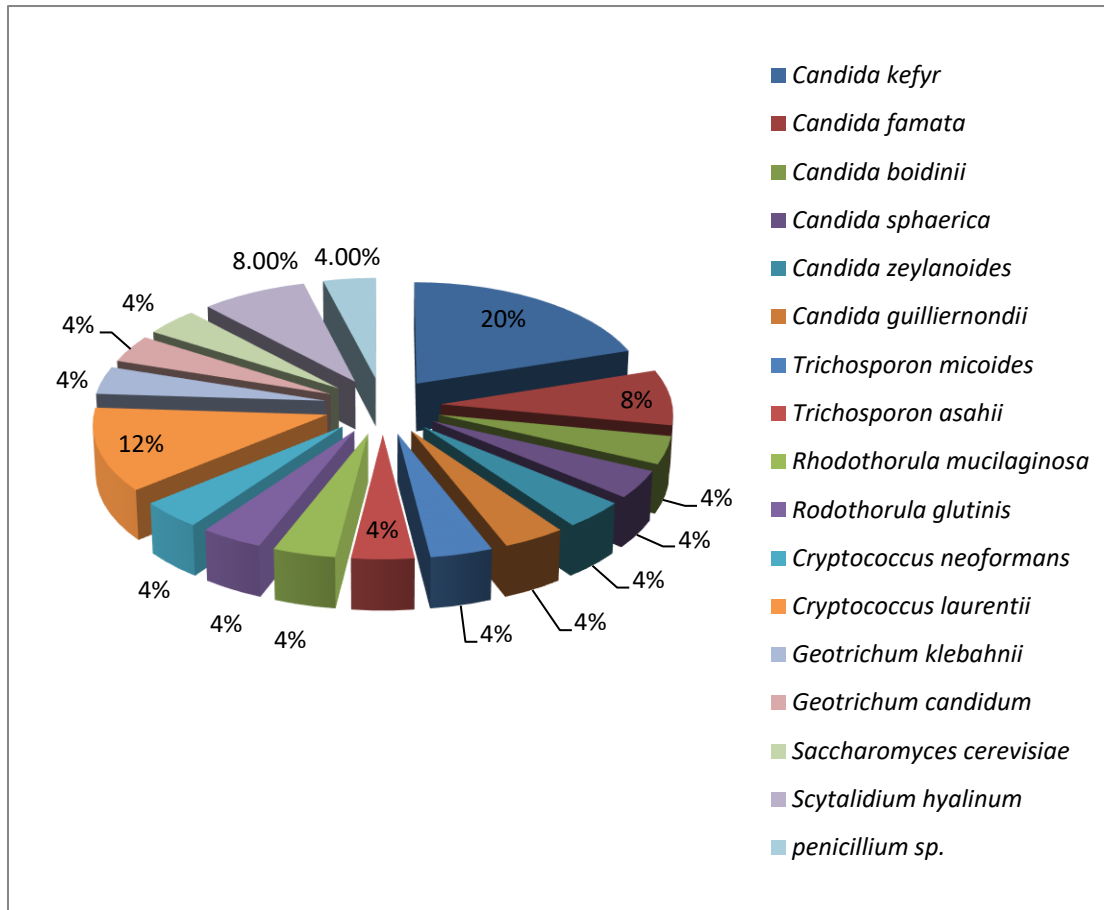


Figure 5 : Fréquence (%) des espèces fongiques isolées de lait des fermes

Les résultats de la répartition des espèces de champignon isolés des échantillons de lait de tank des fermes montrent ce qui suit :

- Toujours le genre *Candida* est prédominant dans cette catégorie de lait de tank avec 11/25 des isolats suivi par le genre *Cryptococcus* mais avec un nombre d'isolement faible de 4/25 des isolats.
- Des isolements très faibles à rare ont été enregistré avec les genres *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Geotrichum* (2/25 des isolats pour chacune) et *Saccharomyces* (1/25 des isolats).
- concernant les espèces des champignons qui ont trouvées dans cette catégorie d'échantillonnage, il est très clair que l'espèce la plus prédominante est *Candidakefyr* avec un taux d'isolement de 20% soit 5/25 des isolats.
- *Cryptococcus laurentii* est en deuxième position avec un taux moins important de 12% soit 3/25 des isolats.

- *Candida famata* et *Scytalidium hyalinum* sont en troisième avec un pourcentage de 8% soit 2/25 des isolats pour chacune.
- Le reste des espèces de levure qui ont été isolées sont faiblement détectées avec une fréquence d'isolement de 4% soit 1/25 des isolats pour chacune des espèces : *Candida boidinii*, *Candida sphaerica*, *Candida zeylanoides*, *Candida guilliermondii*, *Trichosporon micoides*, *Trichosporon asahii*, *Rhodothorula mucilaginosa*, *Rhodothorul aglutinis*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum klebahnii*, *Geotrichum candidum*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Penicillium sp.*

2.2. Etude de la flore fongique des échantillons réalisés auprès des laitiers

L'étude de la flore fongique existant dans le lait de vache qui a été vendu par les laitiers de la wilaya de Guelma est primordiale pour la santé des consommateurs. Pour cette raison nous essayerons dans cette partie d'analyser quelques échantillons de lait venant de quelques laitiers de la wilaya de Guelma.

2.2.1. Prévalence des échantillons de lait provenant de tanks des laitiers

Les analyses mycologiques des échantillons de lait effectués auprès les laitiers de notre wilaya, nous ont fournis les résultats de la prévalence des champignons dans le lait destinés à la consommation humaine (figure 6).

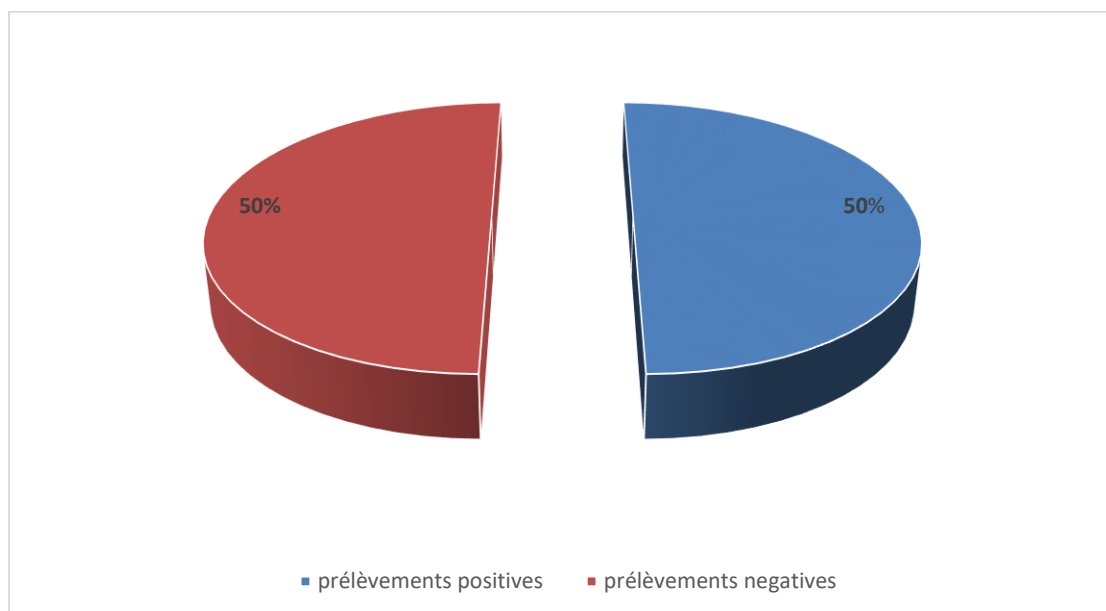


Figure 6 : Prévalence (%) des échantillons positifs de lait de tank de quelques laitiers de la wilaya de Guelma

Cette figure montre qu'il y a une prévalence des échantillons positifs et négatifs équiprobable de 50% pour chacune. Ce résultat prouve que la moitié des échantillons destinés

à la commercialisation est positive aux analyses mycologiques. Vu le nombre non représentatif des laitiers qui ont servis pour cette étude, cette observation n'est pas tranchante, mais nous sommes non surprenant de trouver l'inverse sur une taille d'échantillonnage important des laitiers qui commercialisent directement le lait aux consommateurs.

2.2.2. Etude de la Fréquence d'isolement des espèces fongiques des échantillons réalisés auprès des laitiers

La répartition des espèces fongiques qui ont été trouvés dans les échantillons de lait commercialisé dans la wilaya de Guelma est récapitulée dans le tableau 6 et la figure 7.

Tableau 6 : Nombre des espèces fongiques détectées dans les prélèvements de lait effectué auprès les laitiers de la wilaya de Guelma.

| Genre | Espèces | Nombre |
|---------------------|------------------|--------|
| <i>Candida</i> | <i>kefyr</i> | 5 |
| <i>Cryptococcus</i> | <i>laurentii</i> | 2 |
| Total | | 7 |

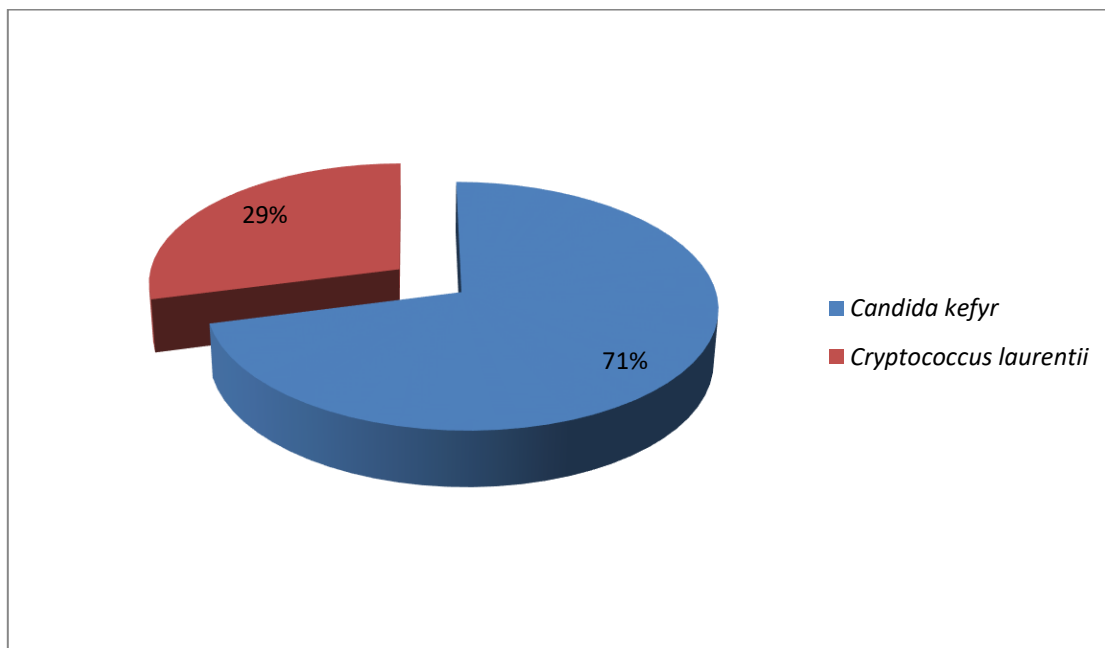


Figure 7 : Fréquence (%) des espèces fongiques dans les échantillons de lait réalisé auprès les laitiers de la wilaya de Guelma

Nous avons enregistré dans cette catégorie du lait venons de laitiers la présence de deux uniques espèces de levure, avec une prévalence de *Candida kefyr* dans 71% des isolats (5/7) puis dans 29% des espèces, *Cryptococcus laurentii* soit 2/7 des isolats.

3. Etude de l'impact sanitaire et économique de la détection des espèces de champignons dans le lait de tank

3.1. Impact sanitaire

A propos de l'importance des espèces de levures isolées dans le présent travail de point de vue médicale, on ne peut pas marginaliser l'importance de ces espèces fongiques dans l'apparition et la synthèse épidémiologique de quelques affections qu'ils peuvent causer surtout chez les personnes dont leur system immunitaire est affaibli.

Concernant le genre *Candida*, qui a été enregistré comme les champignons les plus fréquemment isolés des deux catégories de lait de tank dans cette étude. Ce genre de levure est très répandu dans le monde. Ce sont des commensaux parfaitement toléré par l'organisme sain (immunocompétent) qui peuvent se trouver sur la peau (à l'exception de *Candida albicans*) et dans le tube digestif. Il devient pathogène et provoque parfois des mycoses chez les humains et les animaux quand l'organisme est affaibli (Euzéby, 1994).

Dans plusieurs investigations qui ont été réalisées à travers le monde sur les mammites mycosique, le genre *Candida* est parmi les espèce fongiques les plus isolées chez le bovin laitier (Bidau et al., 2007 ; Krukowski et al., 2001 ; Lagneau et al., 1996).

En effet, dans la présente étude *Candida kefyr* est l'espèce la plus fréquemment isolées dans les tous les échantillons de lait de tank car presque un tiers des espèces fongiques qui ont été trouvées sont représentées par celle-ci. Parallèlement, Ksouri et al. (2014) ont isolés dans la même région une prédominance similaire de cette espèce fongique dans 1121 échantillons de laits individuels. Le pouvoir pathogène de cette levure est bien connu et démontré expérimentalement par Aalbaek et al. (1994). Elle peut croître à des températures avoisinant les 42 °C (Lagneau et al., 1996). On peut ajouter aussi que *Candida kefyr* est parmi les espèces du genre *Candida* qui assimilent le lactose (Garcia-Garibay et Gomez-Ruiz, 1996), ce qui est un caractère intéressant pour leur développement en milieu lacté. Donc, à la lumière de nos résultats, il paraît qu'il y a un problème hygiénique dans nos élevages de bovins laitiers, car d'après Guilhon et al. (1961), la source de *Candida kefyr* est représentée par les matières fécales des bovins, perpétuellement présentes sur les glandes mammaires.

De plus, parmi les espèces de genre *Candida* qui constituent un danger vis-à-vis la santé publique, *Candida famata* et *Candida guilliermondii*. En générale le biotope naturel de la plus

part des espèces de genre *Candida* est représenté par le milieu extérieur ainsi ce sont des commensaux de la peau, le tube digestif et même respiratoire des humains.

En outre, la détection de *Cryptococcus neoformans* dans le lait de tank est terriblement enregistrée dans la présente étude. Car c'est parmi les espèces fongiques strictement pathogènes chez l'être humain (Chabasse et al., 1999 ; Koenig, 1995). Généralement, cette espèce de levure redoutable est liée généralement à la présence des pigeons dans les élevages de bovins laitiers ou à proximité des laitiers (Bouchara et al., 2010). Cette espèce de levure est répandue dans la nature, retrouvée dans les déjections des pigeons et d'autres oiseaux ainsi que dans le bois et certains aliments (lait). La prolifération du champignon dans le milieu extérieur est favorisée par un sol enrichi en matières organiques, et surtout en azote fourni par les fientes d'oiseaux et de chauves-souris. La levure pourrait survivre deux ans dans cet environnement, en particulier dans une atmosphère confinée à forte hygrométrie. Les lieux riches en excréments d'oiseaux (surtout de pigeons) sont donc des lieux privilégiés de contamination. Cette levure a été isolée du lait bovin par Bada et al., 1992.

On peut rajouter *Trichosporon* parmi les espèces qui représente un danger chez les consommateurs du lait. Les levures du genre *Trichosporon* sont des saprophytes du sol, de l'eau, des fruits, des matières fécales et font partie de la flore commensale de l'homme, présente au niveau de la peau, des muqueuses et des ongles. Elles sont responsables de mammites et peuvent se trouver ainsi dans le lait (Costa, 1992).

Le genre *Rhodotorula* qui a été faiblement isolé de nos échantillons de lait de tank est considéré comme moins pathogène (Koenig, 1995). Cette levure très répandue dans la nature, retrouvée au niveau du sol, dans l'air, l'eau, les aliments et produits laitiers (Boubezari, 2005).

Les *Geotrichum* aussi sont des moisissures rarement isolées dans notre étude. Ce genre de champignon cosmopolite, très répandue dans la nature, saprophyte des plantes, des laitages et retrouvée dans le sol et en abondance dans les eaux usées, même dans les aliments. Elle est rarement impliquée en pathologie, mais fréquemment isolée de spécimen humains et des bovins laitiers (Leeuwenhoek, 1998).

Quant au *Saccharomyces* très rarement isolée dans la présente étude qui ne représente aucun danger pour les humains à l'exception des sujets immunoréceptifs (Moulinier, 2003).

Cette levure de genre *saccharomyces* prend une place parmi les *Asceomycetes* *Hemiascomycetes*. Elles sont largement répandue dans l'alimentation (pain, vin, bière, fruit,

légumes...) et utilise dans les traitements de diarrhée. Ces levures sont isolées à l'état commensal à partir des prélèvements digestifs (Bouchara, 2010).

3.2. Impact économique

Dans cette étude le genre *Candida* est le plus abondamment détecté dans les échantillons de lait de tank, donc il est important d'étudier l'impact économique de telle détection sur la chaîne de transformation de produits laitiers. En effet, les espèces de *Candida* sont impliquées dans la détérioration des fromages, du yaourt et d'autres produits laitiers et sont résistantes au traitement thermique (Awasti et Anand, 2020). Plus de 60 espèces ont été liées à la détérioration du lait et des produits laitiers, parmi divers genres d'espèces de levure, *Candida* est l'une des espèces les plus fréquemment signalées, environ 24 espèces différentes de *Candida* sont liées à la détérioration des produits laitiers tels que les fromages à pâte dure ou mi-dure et les produits laitiers non affinés (Awasti et Anand, 2020).

Malgré le taux faible qui a été enregistré pour le genre *Rhodotorula*, ces espèces sont liées à la détérioration du yaourt, du fromage à pâte persillée, du fromage frais non affiné, du beurre et de la margarine, du lait cru et d'autres produits laitiers (Fadda et al., 2004; Fleet 1990; Minervini et al., 2001; Pitt et Hocking 2009; Suriyarachchi et Fleet 1981; Von Neubeck et al., 2015).

Le genre *Saccharomyces* aussi rarement isolée, mais ces espèces sont impliquées dans la détérioration du fromage, du yaourt et d'autres produits laitiers et sont résistantes au traitement thermique (Awasti et Anand, 2020).

De plus, les espèces de *Cryptococcus* qui sont enregistrées dans la présente étude, sont aussi associées à la nourriture et à la détérioration des aliments, avec des isollements provenant de sources telles que la laitue (Magnuson et al., 1990), le labaneh, qui est un fromage au yaourt (Ghadeer et al., 1997), le lait cru (Cocolin et al., 2002) et aliments congelés (Sugita et al., 2000).

Enfin, les espèces de *Trichosporon* qui ont été isolées sont aussi parmi la flore fongique qui perturbe la transformation laitière, par exemple en cas de croissance excessive, cette levure présente un danger microbiologique et affecte la qualité du fromage (Geronikou et al., 2020), en produisant une odeur rance (Büchl et Seiler, 2011) et provoquant la détérioration du fromage (Garnier et al., 2017).

Conclusion

La présente étude c'est une caractérisation quantitative et qualitative de la flore fongique de lait des tanks (des fermes et des laitiers).

Sur la base des résultats obtenus aux analyses mycologiques des échantillons de lait de tank, une prévalence de 56.67% a été enregistrée pour les échantillons positifs à l'examen de laboratoire.

De plus, ces analyses mycologiques fait apparaitre 32 isolements de levures et de moisissures sur tous les échantillons réalisés. Dans les deux catégories de lait de tank, nous remarquons qu'il y a une prédominance de levures par rapport les moisissures (29 vs 3). De plus, nous avons enregistré aussi une prédominance de genre *Candida* sur le lait de tank des fermes ainsi des laitiers.

Quant à la composition de la flore fongique du lait de tank des deux catégories des échantillons (fermes et laitiers), une nette prédominance de *Candida kefyr* a été notée avec une fréquence de 31,25% soit 10/32 des isolats, suivi par l'espèce *Cryptococcus laurentii* dans 15,62% des isolats soit 5/32, puis l'espèce *Candida famta* et *Scytilidium hyalinum* qui sont détectées dans 6,25% des isolats soit 2/32 chacune.

Nous notons également pour d'autres isolement faible comme : *Candida boidinii*, *Candida sphaerica*, *Candida zeylanoides*, *Candida guilliermondii*, *Trichosporon micoides*, *Trichosporo nasahii*, *Rhodothorula mucilaginosa*, *Rhodothorula glutinis*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Penicillium sp.* dans 3,12% des isolats soit 1/32 pour chacune.

Concernant les moisissures, quatre espèces ont été détectées seulement dont la plus fréquemment isolée *Scytilidium hyalinum* avec 6.25% soit 2/32 des isolats. Des isolement faible ont été enregistré pour *Penicillium sp.*, *Geotrichum klebahnii* et *Geotrichum candidum* avec 3.12% soit 1/32 pour chacune.

En général, la charge microbienne qui a été enregistrée sur toutes les espèces fongiques se varie entre + et +++. Il est important de signaler que la charge la plus fréquente qui a été enregistré est de ++ (moyennement chargé) à +++ (fortement chargé).

Nos résultats, nous amènent à conclure aussi que le niveau d'hygiène au niveau des étables et des laitiers reste très bas et nécessite une intervention rapide pour palier de ce problème.

La détection de quelques espèces redoutables et à pronostic sombre, nous a obligé d'étudier l'impact de la présence de ces champignons sur la santé publique ainsi sur la chaîne de transformation laitière. Pour cela, nous recommandons à la fin de cette étude de ne pas marginaliser ce problème de contamination de lait par des champignons.

En effet, la plus part de nos espèces fongiques qui ont été détectées dans tous les échantillons de lait de tank, constituent un véritable danger, car le lait est destiné à la consommation humaine directe via les différents points de vente dans la wilaya de Guelma.

Nous suggérons à la lumière de nos résultats que la qualité de lait de tank a probablement une répercussion sur la chaîne industrielle de transformation de produits laitiers.

*Références
bibliographiques*

1. **Adrien B, Bouchara JP, Pihet M, De Gentil L, Cimon B, Chabasse D (2010)**. Bioforma cahier de formation biologie médicale N 44 les levures et levuroses, laboratoire de parasitologie et mycologie de CHU d'Angers serin 391 155 744 Paris.
2. **Amandine Fessard (2017)**. Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante. Sciences agricoles. Université de la Réunion. Français. ffNNT : 2017LARE0033ff. fftel-01974108f.
3. **Anne P (1991)**. Étude bactériologique en vue de fixation du prix du lait de brebis dans le bassin de Roquefort. Thèse de doc vet. Eco vetalfort, Paris.
4. **Awasti N, Anand S (2020)**. The Role of Yeast and Molds in Dairy Industry: An Update. In: **Minj J, Sudhakaran VA, Kumari A. (eds)**. Dairy Processing: Advanced Research to Applications. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2608-4_12. ISBN 978-981-15-2607-7.
5. **Bada R, Higgins R, Cecyre A (1992)**. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from bovine milk. *Can Vet J*. 33(8) : 553.
6. **Bennett J, Wet Klich M (2003)**. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (3), 497–516. doi:10.1128/cmr.16.3.497-516.
7. **Bidau O, Houffschmitt P, Viguerie Y**. Etiologie des mammites bovines en France entre 2005 et 2007. Services techniques Intervet.
8. **Büchl NR, Seiler H (2011)**. YEASTS AND MOLDS: Yeasts in Milk and Dairy Products. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 744–753. doi:10.1016/b978-0-12-374407-4.00498-2.
9. **Boubezari M (2010)**. Contribution à l'étude des caractéristiques physicochimiques et mycologiques du lait chez quelques races bovines, ovines et caprines dans quelques élevages de la région de Jijel. Pour l'obtention du diplôme de Magister en médecine vétérinaire. Université de Mentouri Constantine.
10. **Bouchara JP, Pihet M, de Gentile L, Cimon B, Chabasse D (2010)**. Les levures et levuroses. *Cahier De Formation Biologie Médicale*. Bioforma ; N° 44, Juin : 1-200.
11. **Cayot P, Lorient D (1998)**. Structures et Techno fonctions des Protéines du Lait. Arilait. Recherche, Edt Tec et Doc Lavoisier, Paris.
12. **Chabasse D, Guiguen CL, Contet-Audonneau N (1999)**. Mycologie médicale. Edition Masson, Paris : p 50-54, 153.
13. **Chabasse D, Guiguen CL, Contet-Audonneau N (1999)**. Mycologie Médicale. Masson, Paris : 1-78.
14. **Claude Moreau (1976)**. Les mycotoxines dans les produits laitiers. *Le Lait*, INRA Editions, 56.

15. **Cocolin L, Aggio D, Manzano M, Cantoni C, Comi G (2002)**. An application of PCR-DGGE analysis to profile the yeast populations in raw milk. *Int. Dairy J.* 12, 407–411.
16. **Cohick WS (1988)**. Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. *J DairySci.* 81(6):1769-77. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75746-7. PMID: 9684183.
17. **Costa EO, Gandra RC, Pires MF, Coutinho SD, Castilha W, Teixeira CM (1993)**. Survey of bovine mycotic mastitis in dairy herds in the State of São Paulo, Brazil. *Mycopathologia* 124: 13-17.
18. **Downes FP, Ito K (ed.) (2001)**. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
19. **Durugbo E.U, Kajero A, Omoregie I, Oyejide N (2013)**. A survey of outdoor and indoor airborne fungal spora in the Redemption City, Ogun State, south-western Nigeria. *Aerobiologia* 29, 201–216.
20. **Eaton AD, Clesceri LS, Greenberg AE (ed.) (1995)**. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
21. **Euzeby J (1994)**. Mycologie Médicale Comparée, Les Mycoses Des Animaux Et Leurs Relations Avec Les Mycoses De L’homme. Edition Vigot Frères, Tome 2: 4-463.
22. **Fadda ME, Mossa V, Pisano MB, Deplano M, Cosentino S (2004)**. Occurrence and characterization of yeasts isolated from artisanal Fiore Sardo cheese. *Int J Food Microbiol* 95(1):51–59.
23. **Filtenborg O, Frisvad J, Cet Thrane U (1996)**. Moulds in food spoilage. *International Journal of Food Microbiology* 2:1-5.
24. **Fleet GH (1990)**. Yeasts in dairy products. *J ApplBacteriol.* 68(3):199-211. doi: 10.1111/j.1365-2672.1990.tb02566.x. PMID: 2187843.
25. **Garnier L, Valence Fet Mounier J (2017)**. Diversity and Control of Spoilage Fungi in Dairy Products: An Update. *Microorganisms*, 5(3), 42. doi:10.3390/microorganisms5030042
26. **Garnier L, Valence F, Pawtowski A, Auhustsinava-Galerie L, Frotté N, Baroncelli R, Mounier J (2017)**. Diversity of spoilage fungi associated with various French dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10>
27. **Geronikou A, Srimahaeak T, Rantsiou K, Triantafillidis G, Larsen N, Jespersen L (2020)**. Occurrence of Yeasts in White-Brined Cheeses: Methodologies for Identification, Spoilage Potential and Good Manufacturing Practices. *Front. Microbiol.* 11:582778. doi: 10.3389/fmicb.2020.582778
28. **Gh. R. Jahed Khaniki (2007)**. Chemical Contaminants in Milk and Public Health Concerns: A Review. *International Journal of Dairy Science*, 2: 104-115.

29. **Ghadeer F, Mihyar MI, Yamani I, Al-Sa'ed AK (1997)**. Resistance of yeast flora of labeneh to potassium sorbate and sodium benzoate. *J. DairySci.* 80, 2304–2309.
30. **Grimes M, Cummins H, Knennelly V (1933)**. ÉTUDE DES CHAMPIGNONS TROUVÉS DANS LE LAIT LA CRÈME ET LE BEURRE (Fin).. *Le Lait*, INRA Editions, 13 (123), pp.291-306. hal-00895097.
31. **Guiraud JP (1998)**. *Microbiologie Alimentaire*. Edition : Dunod. Paris. 652p. ISBN 2100036661, 9782100036660.
32. **Guiraud JP (2003)**. *Microbiologie Alimentaire*. Edition : Dunod. Paris. 651p. ISBN 2100072595, 9782100072590.
33. **Herter I, Geginat G, Hof HetKupfahl C (2014)**. Modulation of innate and antigen-specific immune functions directed against *Listeria monocytogenes* by fungal toxins in vitro. *MycotoxinResearch*, 30(2), 79–87. doi:10.1007/s12550-014-0191-5.
34. **Koenig H (1995)**. *Guide de mycologie médicale*. Editions Ellipses. 288 pages. ISBN-10: 2729845127.
35. **Krukowski H, Tietze M, Majewski T, Rózański P (2001)**. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. *Mycopathologia*; 150(1):5-7.
36. **Kurtzman Cletus P, Fell Jack (1999)**. *The yeasts, a Taxonomic study*. Glsevier science B.V. Fourthedition.
37. **Lagneau PE, Lebtahi K, Swinne D (1996)**. Isolation of Yeasts From Bovine Milk In Belgium. *Mycopathologia.*;135: 99-102.
38. **Langeron M, Vanbreuseghem R (1952)**. *Précis de mycologie*. Masson et Cie edit. Paris.
39. **MacFaddin JF (1985)**. *Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medicalbacteria*, vol. 1, Williams & Wilkins, Baltimore.
40. **Magnuson JA, King AD Jr, Török T (1990)**. Microflora of partially processed lettuce. *Applied and environmental microbiology*, 56(12), 3851–3854.
<https://doi.org/10.1128/aem.56.12.3851-3854.1990>
41. **Mahaut M, Jeantet K, Brute G, Schuck P (2000)**. *Les produits industriels laitiers*. Edition: Tech et Doc –Lavoisier. Paris. 178p.
42. **Mary Ann Clark, Jung Choi, Matthew Douglas (2018)**. *Biology 2e*. OpenStax College, Rice University. Houston, Texas. p1812. 3980 pages.
43. **Mary Ann Clark, Jung Choi, Matthew Douglas (2018)**. *Biology 2e*. OpenStax College, Rice University. Houston, Texas. p1814. 3980 pages.
44. **Mary Ann Clark, Jung Choi, Matthew Douglas (2018)**. *Biology 2e*. OpenStax College, Rice University. Houston, Texas. p1815. 3980 pages.

45. **McGraw-Hill Education (2001)**. Glencoe Life iScience, Student Edition LIFE SCIENCE. Illustrated. New York. McGraw-Hill Education. 952 pages. ISBN 0078236940, 9780078236945.
46. **Michel A (2004)**. Composition et valeur nutritive du lait. Université de Wisconsin à Madison. 70 pages.
47. **Michel Valerie, Hauwuyagnes, Chambajean-Francois (2001)**. La flore microbienne de laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. *Le Lait*, INRA Editions, 81 (5), pp.575-592. [ff10.1051/lait:2001151](https://doi.org/10.1051/lait:2001151)ff. [ffhal-00895346f](https://doi.org/10.1051/lait:2001151).
48. **M'larab Larbi (2014)**. Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait cru réceptionné à la laiterie DANONE Djurdjura Algérie. Université Abderrahmane MIRA de BEJAIA, 69 pages (15).
49. **Mossel D.A.A, Kleynen-Semmeling A.M.C, Vincentie H.M (1970)**. Oxytetracycline-Glucose-Yeast Extract Agar for selective enumeration of moulds and yeasts in foods and clinical materials. *J. App. Bact.* 33:454-457.
50. **Moulinier C (2003)**. Parasitologie et mycologie médicales ; Eléments de morphologie et de biologie. E M INTER – Editions médicales internationales. 685-796.
51. **Munro S, Pelham HR (1984)**. Use of peptide tagging to detect proteins expressed from cloned genes. *EMBO J.* 20;3(13):3087-93
52. **Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (ed.) (2003)**. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
53. **Sraïri Mohamed Taher, Chatellier Vincent, Corniaux Christian, Faye Bernard, Aubron Claire, Hostiou Nathalie, AlejandraSafa, Bouhallab Saïd, Lortal Sylvie (2019)**. Réflexions sur le développement du secteur laitier et sa durabilité dans différentes parties du monde. *INRAE Productions Animales*, 32(3), 339–358. <https://doi.org/10.20870/productionsanimales.2019.32.3.2561>.
54. **Sugita T, Takashima M, Ikeda R, Nakase T, Shinoda T (2000)**. Phylogenetic and taxonomic heterogeneity of *Cryptococcus humicolus* by analysis of the sequences of the internal transcribed spacer regions and 18S rDNA, and the phylogenetic relationships of *C. humicolus*, *C. curvatus*, and the genus *Trichosporon*. *Microbiol. Immunol.* 44, 455–461.
55. **Pal M (2002)**. Mycotoxicoses: A global health problem. *Beverage and FoodWorld* 29:34-38.
56. **Pitt John I, Hocking Ailsa D (2009)**. Fungi and food spoilage. Springer, New York. 520 pages. ISBN : 978-0-387-92206-5.
57. **Quintana R, Sequeña S, Garzón A, Arias R (2020)** Factors Affecting Levels of Airborne Bacteria in Dairy Farms: A Review. *Animals*, 10(3), 526.
58. **Sabouraud, R (1910)**. Les Teignes. Masson ed. Paris. France.

59. **Simantov A (1989)**. Lait et produits laitiers. Edition: Tech et Doc- Lavoisier. 236 pages.
60. **Stradford M (2006)**. Food and beverage spoilage yeasts. In: Querol A, Fleet GH Eds, Yeasts in Food and Beverage. Springer, Berlin, p: 335–379.
61. **Suriyarachchi VR, Fleet GH (1981)**. Occurrence and growth of yeasts in yogurts. Applied and environmental microbiology, 42(4), 574–579.
<https://doi.org/10.1128/aem.42.4.574-579.1981>.
62. **Tabuc Cristina (2007)**. FLORE FONGIQUE DE DIFFERENTS SUBSTRATS ET CONDITIONS OPTIMALES DE PRODUCTION DES MYCOTOXINES. Thèse de doctorat. UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotest. Soutenue le 6 décembre 2007.
63. **Torsten Hemme, Joachim Otte (2010)**. Status and prospects for smallholder milk production. A global perspective. FAO, Report. 186 p. ISBN 978-92-5-106545-7.
64. **Udo H. M. J, Aklilu H. A, Phong L. T, Bosma R. H, Budisatria I. G. S, Patil B. R, Samdup T, Bebe O (2011)**. Impact of intensification of different types of livestock production in smallholder crop-livestock systems. Livestock Science, 139(1-2), 22–29. doi:10.1016/j.livsci.2011.03.020.
65. **US Pharmacopeia Convention, Inc (1994)**. The U.S. Pharmacopeia 24/The national formulary 19-1999. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
66. **Vacheyrou M, Normand A, Guyot P, Cassagne C, Piarroux R et Bouton Y (2011)**. Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. International Journal of Food Microbiology, 146(3), 253–262. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.033
67. **Van Leeuwenhoek A (1998)**. *Dipodascus Capitatus*, *Dipodascus Spicifer* and *Geotrichum Clavatum*: Genomic characterization. Academic Publishers. Netherlands. 74: 229–235.
68. **Vernon Ahmadjian, Davide Moore, Constantine John Alexopoulos (2020)**. Fungus. Encyclopedia Britannica, Disponible sur :
<https://www.britannica.com/science/fungus>.
69. **Von Neubeck M, Baur C, Krewinkel M, Stoeckel M, Kranz B, Stressler T, Fischer L, Hinrichs J, Scherer S, Wenning M (2015)**. Biodiversity of refrigerated raw milk microbiota and their enzymatic spoilage potential. Int J Food Microbiol 211:57–65.

Annexe

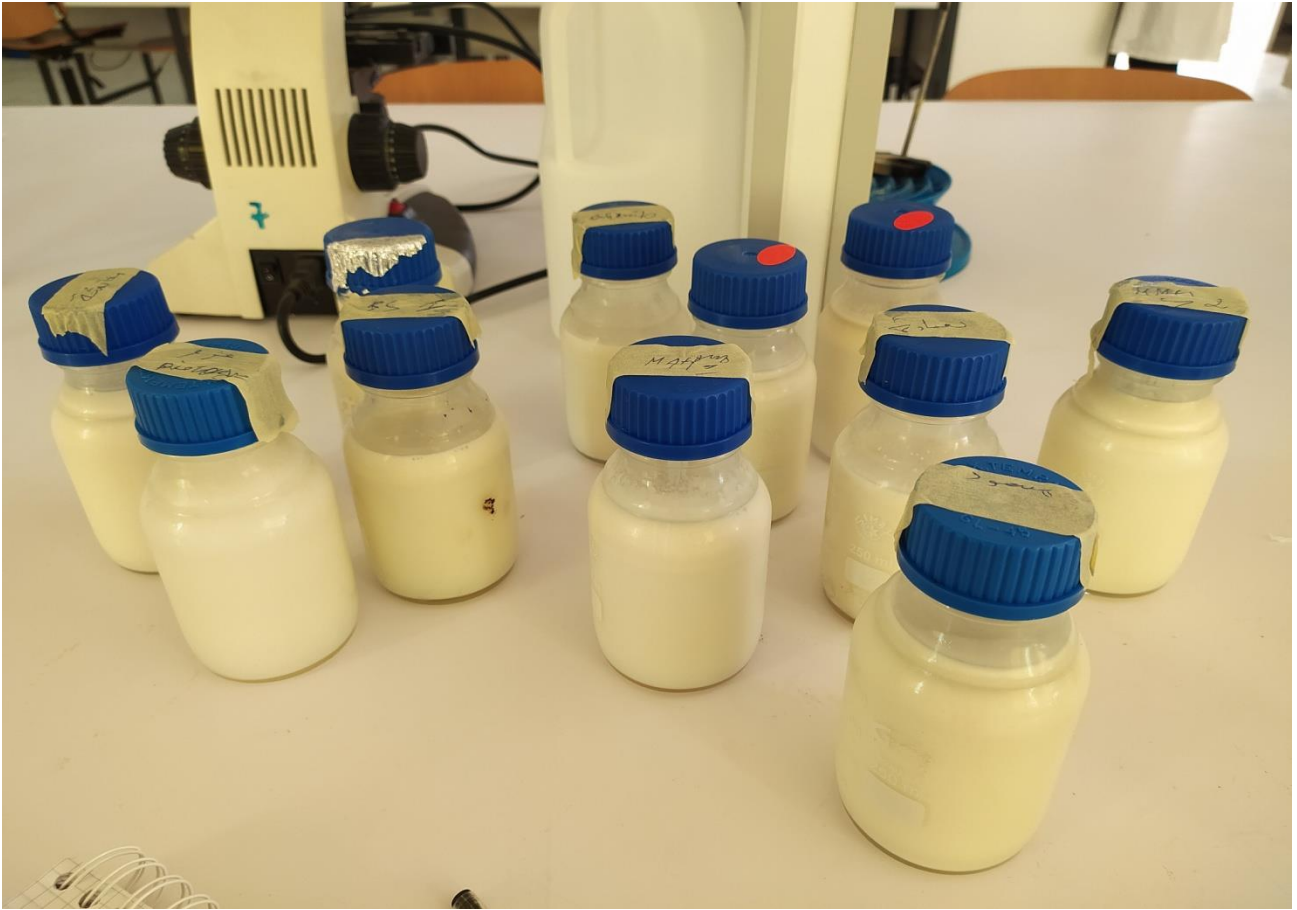


Figure 1 : Prélèvement du lait



Figure 2 : L'aspect macroscopique

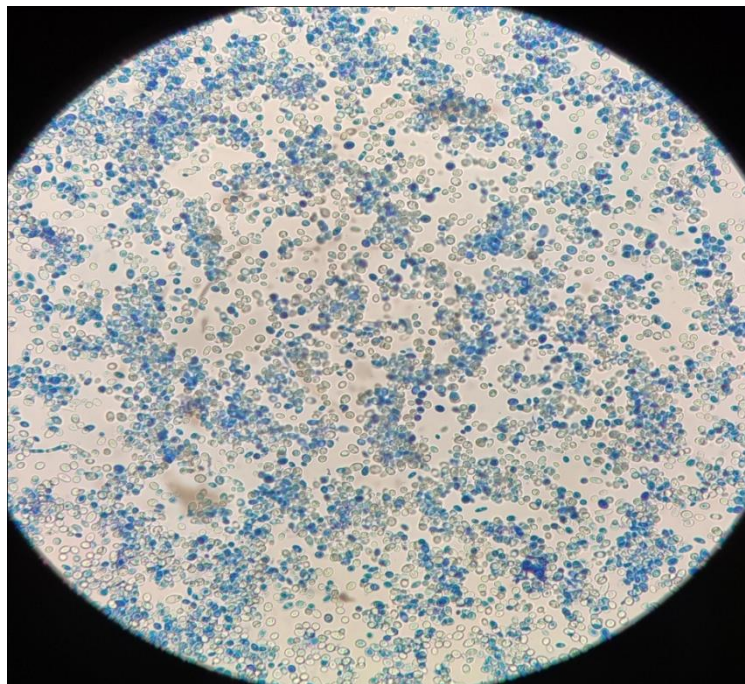


Figure 3 : L'aspect microscopique

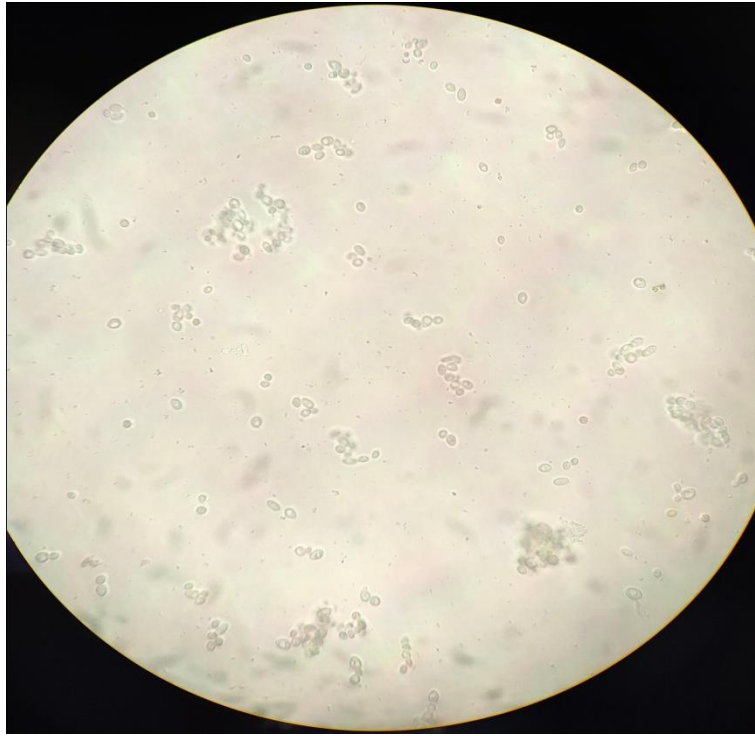


Figure 4 : Résultat de test de blastèse

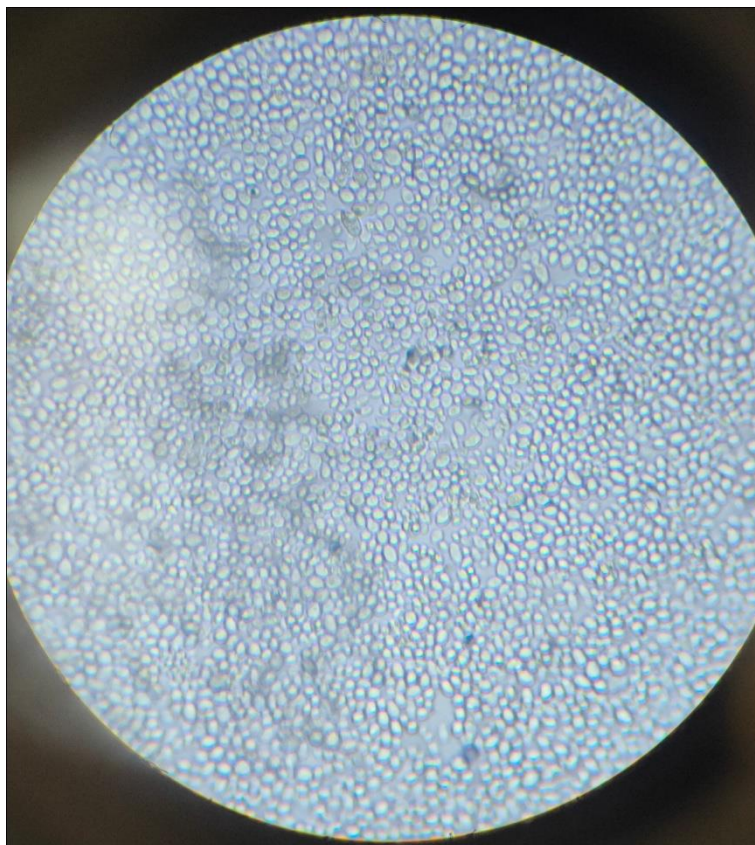


Figure 5 : Observation des blastopores sur milieu Rice Cream

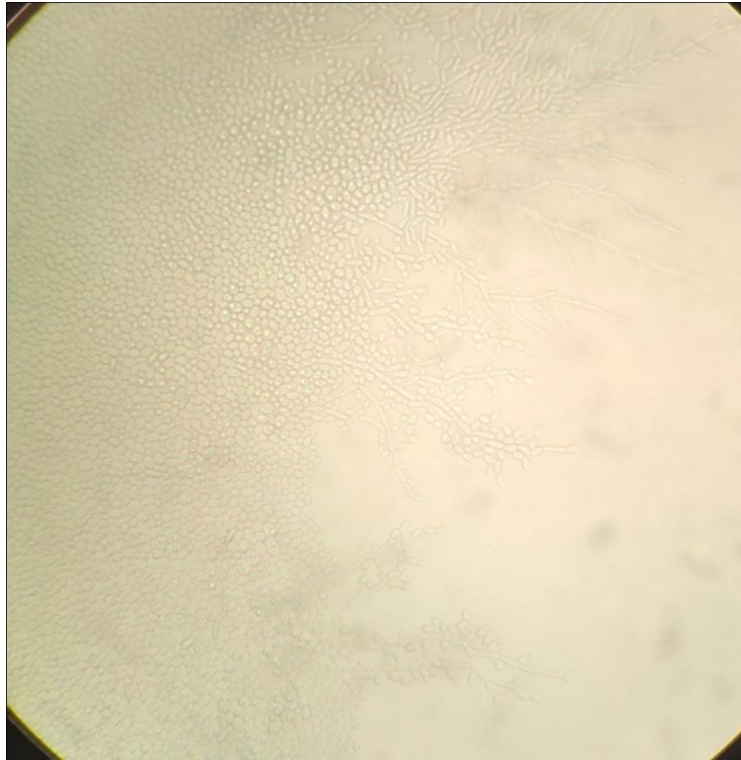


Figure 6 : Observation de Pseudofilament sur milieu Rice Cream



Figure 7 : Observation filament sur milieu Rice Cream



Figure 8 : Résultat de Sabouraud Actidione



Positive



négatif

Figure 9 : Résultat de l'Urée Indol

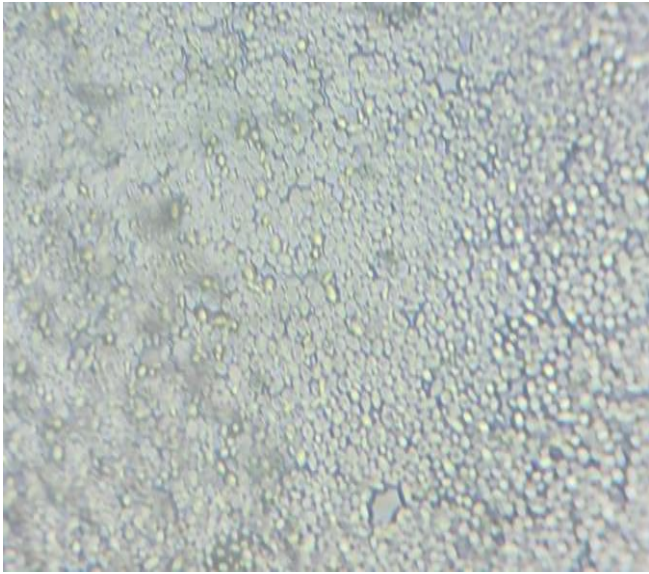


Figure 10 : *Saccharomyces cerevisiae* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

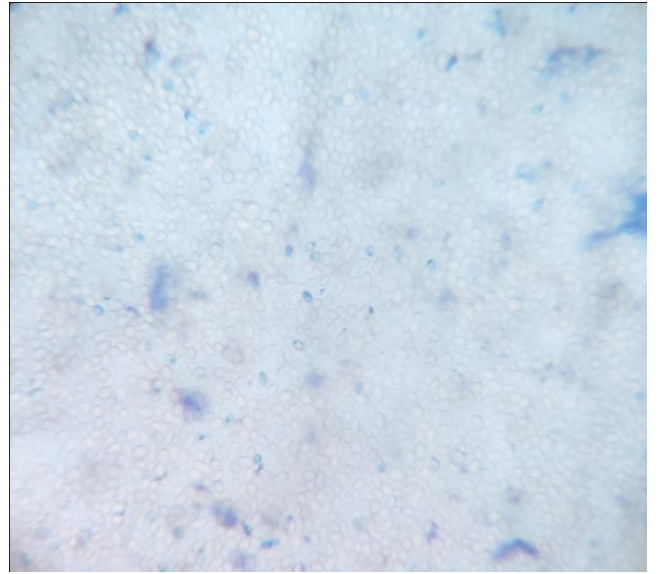


Figure 11 : *Saccharomyces cerevisiae* à l'aspect microscopique

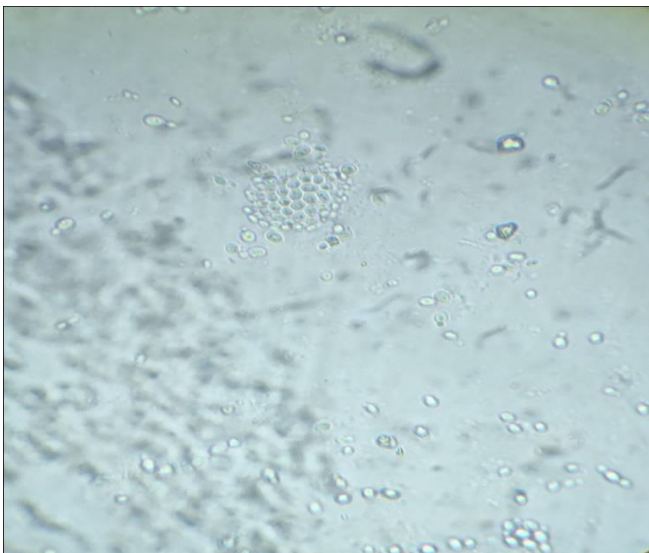


Figure 12 : *Rhodothorula glutinis* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

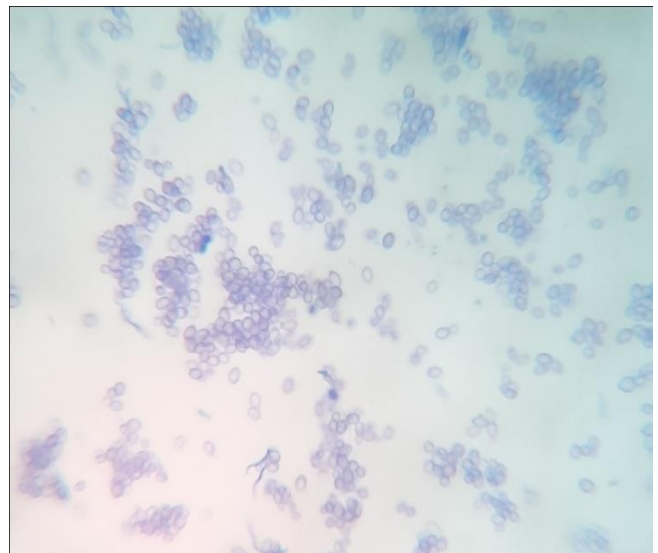


Figure 13 : *Rhodothorula glutinis* à l'aspect microscopique

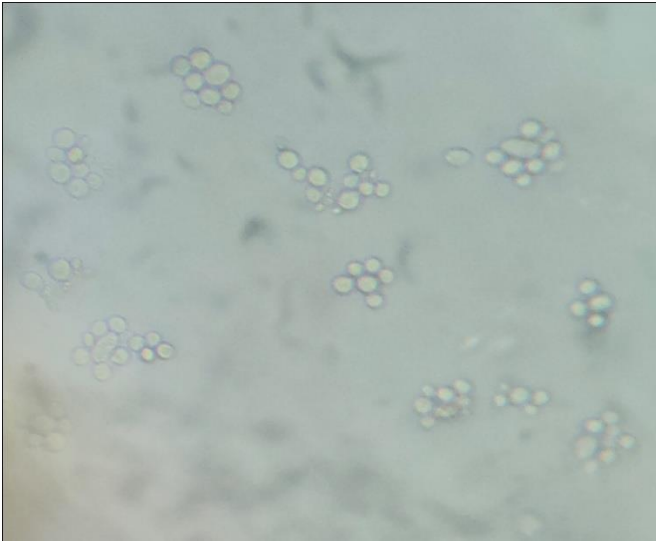


Figure 14 : *Cryptococcus neoformans* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

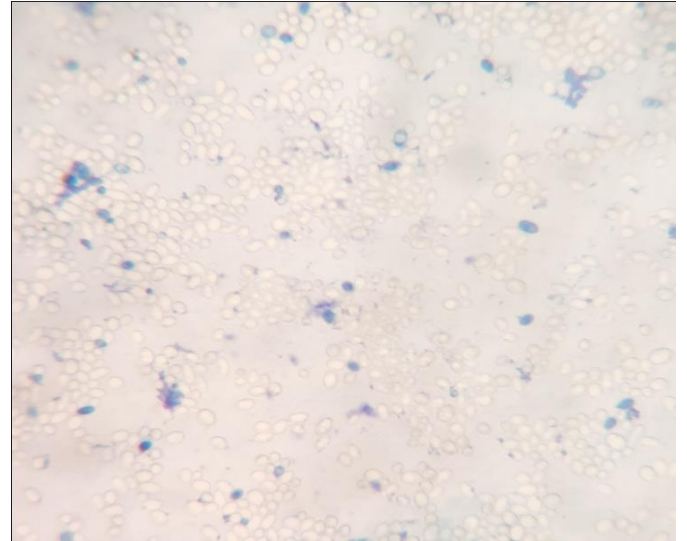


Figure 15 : *Cryptococcus neoformans* à l'aspect microscopique

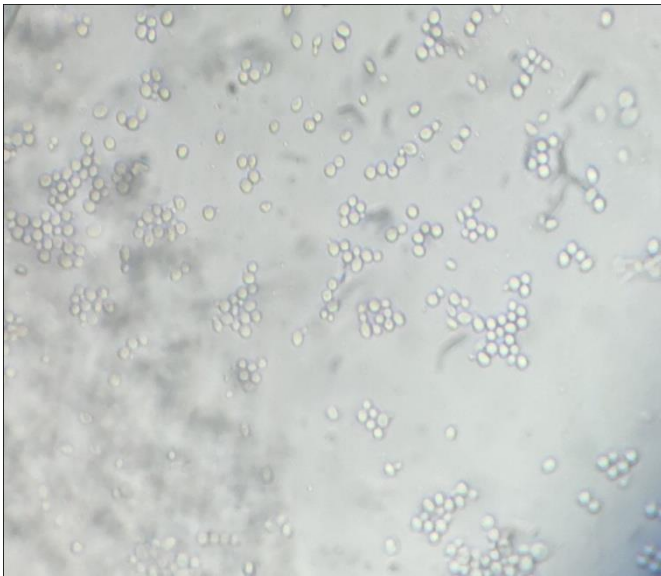


Figure 16 : *Cryptococcus laurentii* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

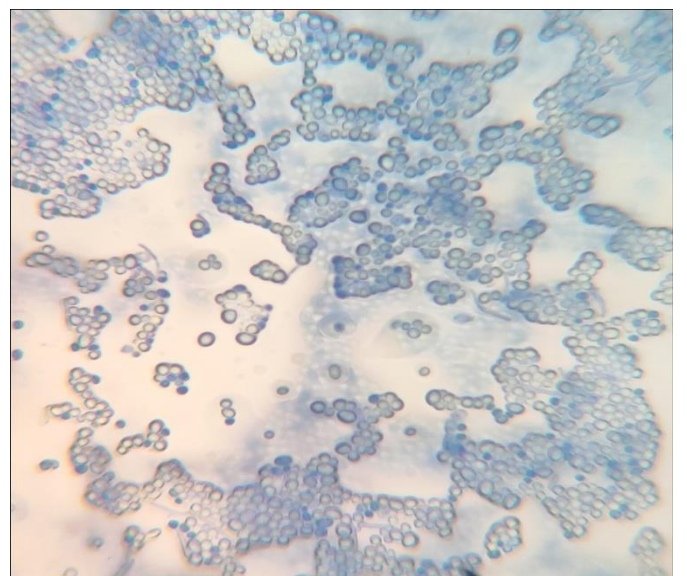


Figure 17 : *Cryptococcus laurentii* à l'aspect microscopique



Figure 18 : *Candida boidinii* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40



Figure 19 : *Candida boidinii* à l'aspect microscopique

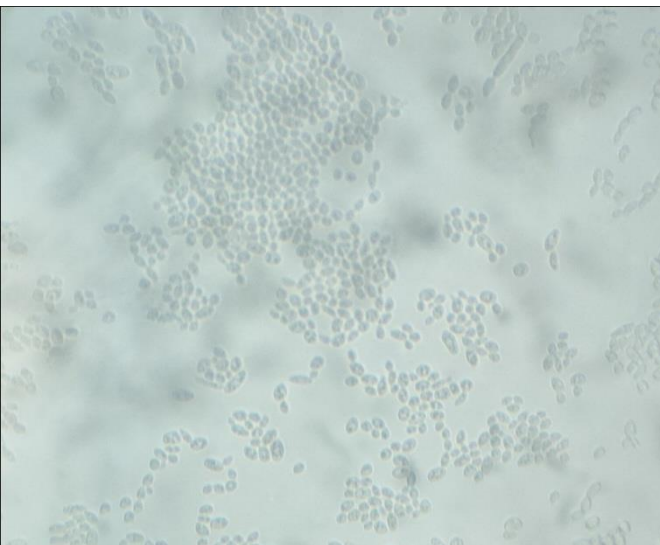


Figure 20 : *Candida sphaerica* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

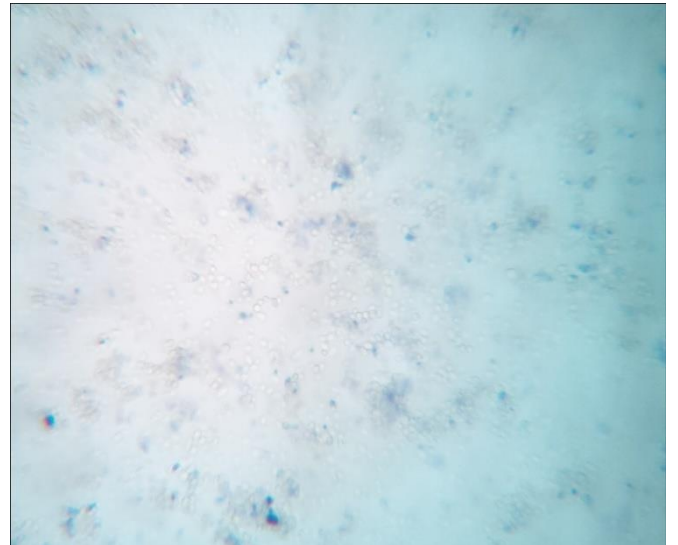


Figure 21 : *Candida sphaerica* à l'aspect microscopique

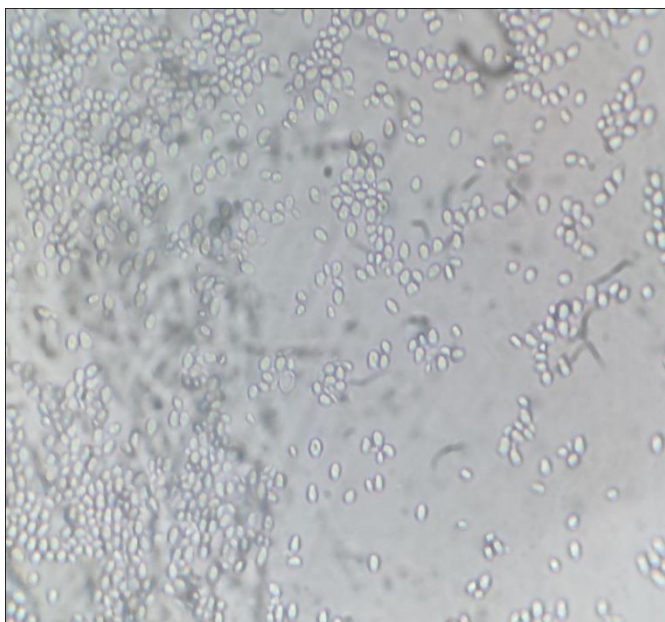


Figure 22 : *Candida zeylanoides* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

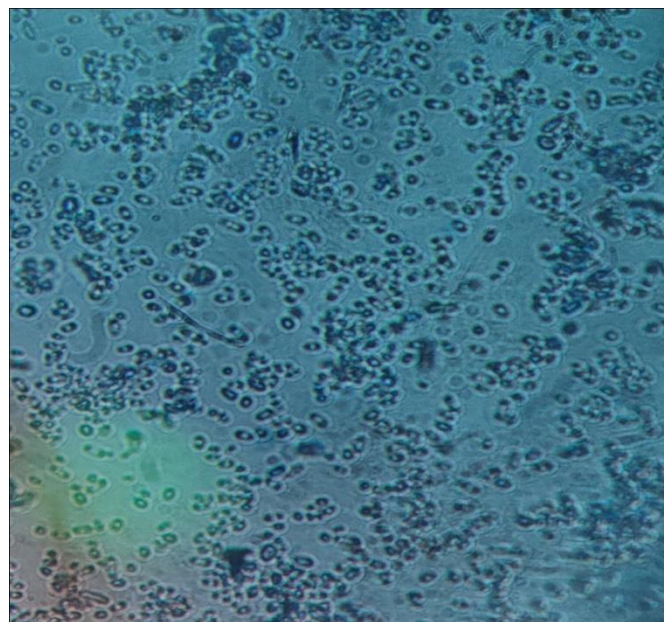


Figure 23 : *Candida zeylanoides* à l'aspect microscopique

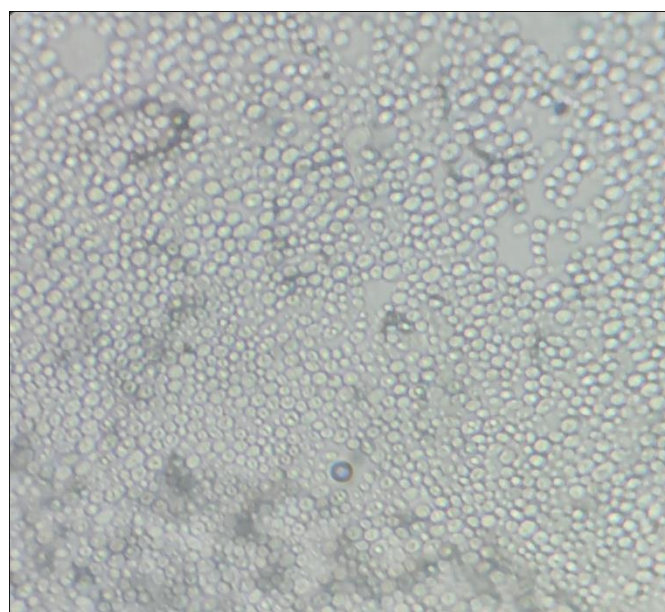


Figure 24 : *Candida guilliermondii* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

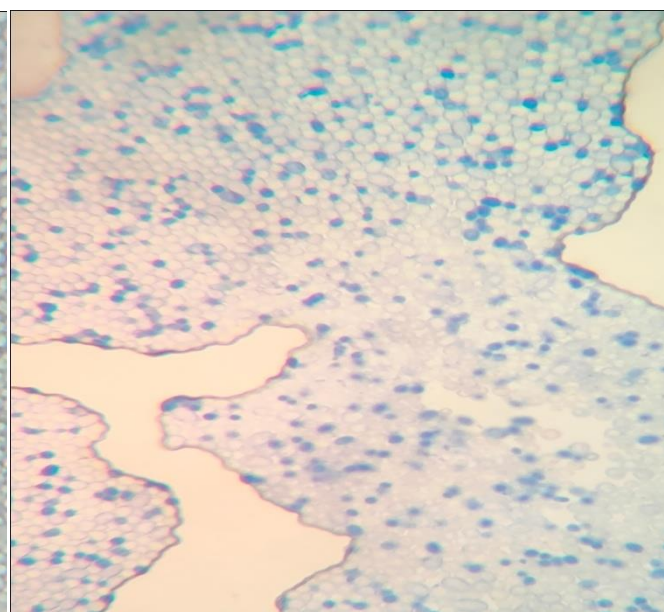


Figure 25 : *Candida guilliermondii* à l'aspect microscopique

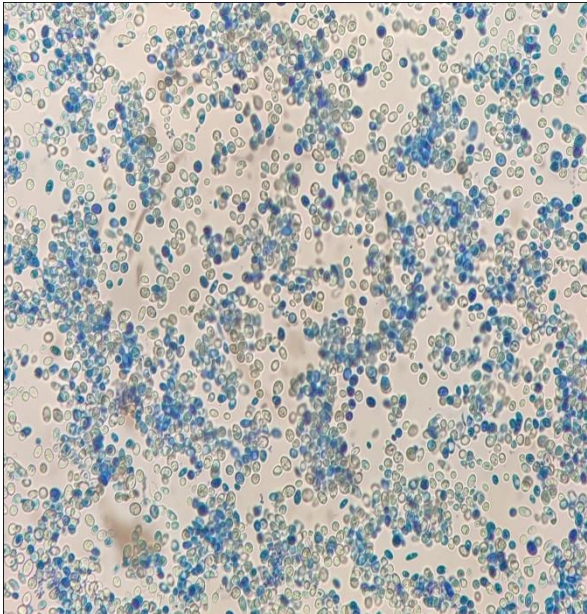


Figure 26 : *Candida kefyr* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

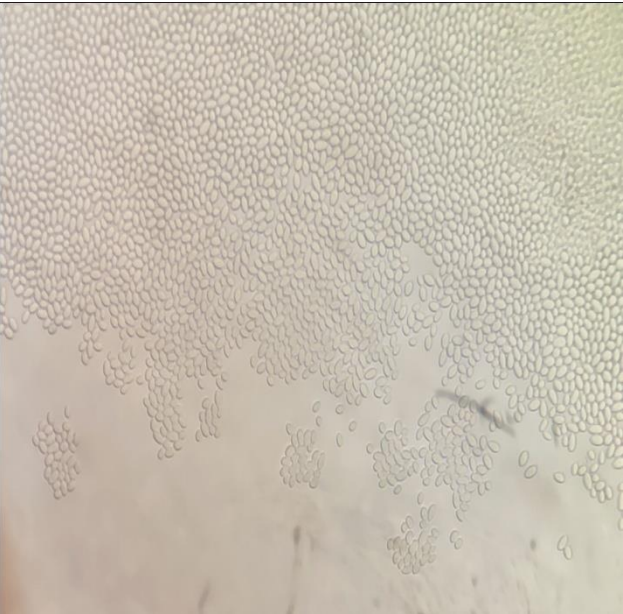


Figure 27 : *Candida kefyr* à l'aspect microscopique

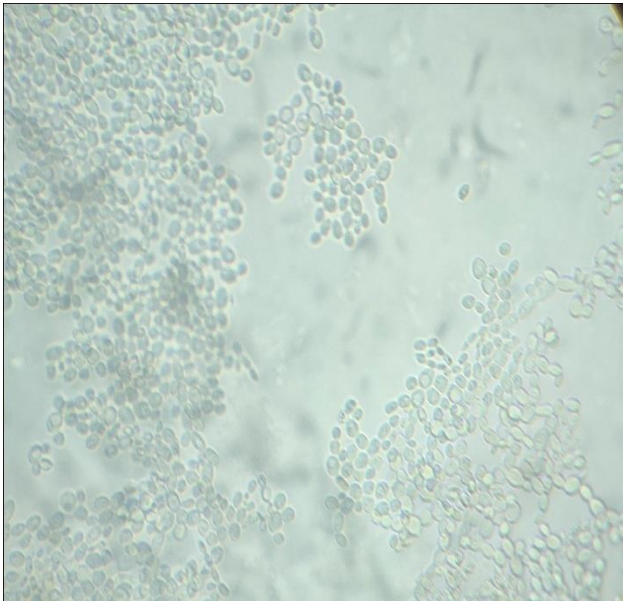


Figure 28 : *Candida famata* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

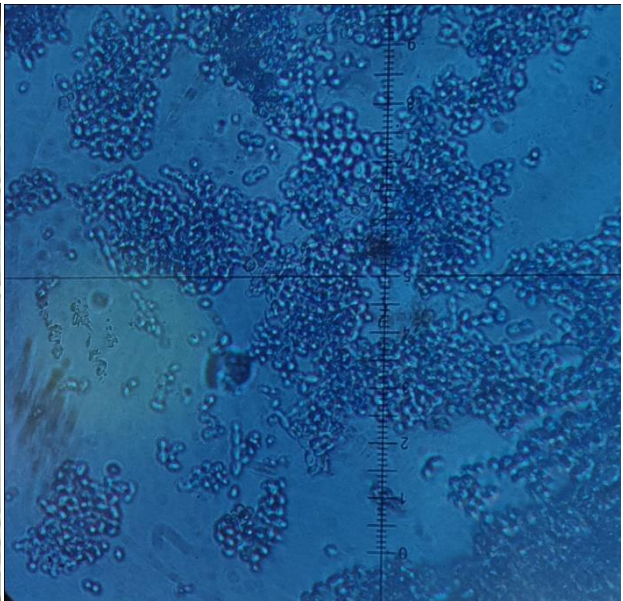


Figure 29 : *Candida famata* à l'aspect microscopique



Figure 30 : *Trichosporon asahii* sur milieu Rice Cream à l'objectif 40

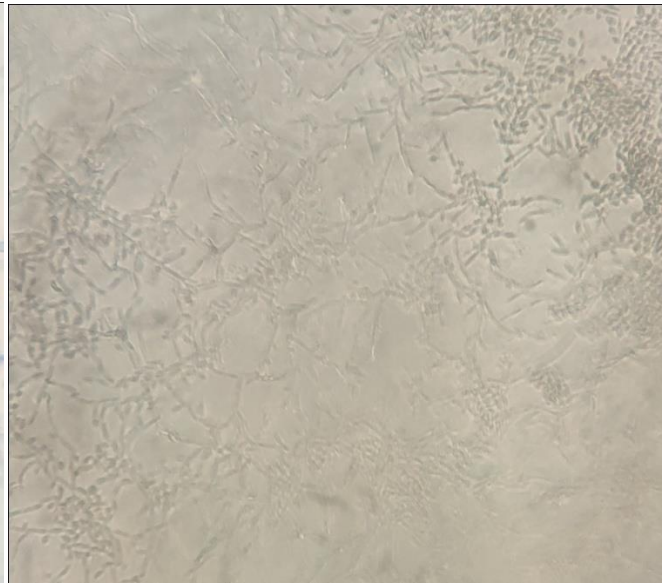


Figure 31 : *Trichosporon asahii* à l'aspect microscopique

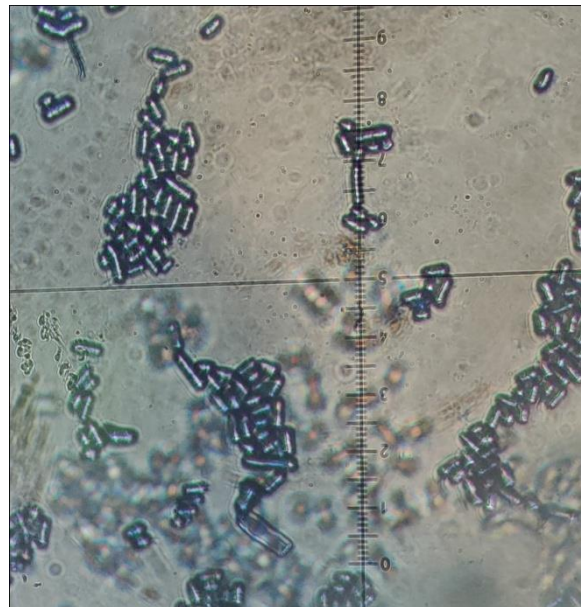


Figure 32 : *Geotrichum candidum* à l'aspect microscopique

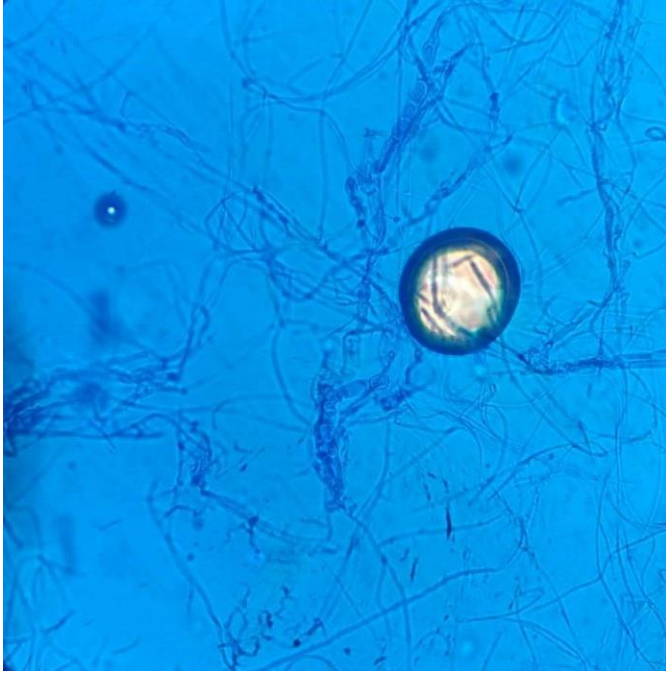


Figure 33 : *Scytalidium* à l'aspect microscopique

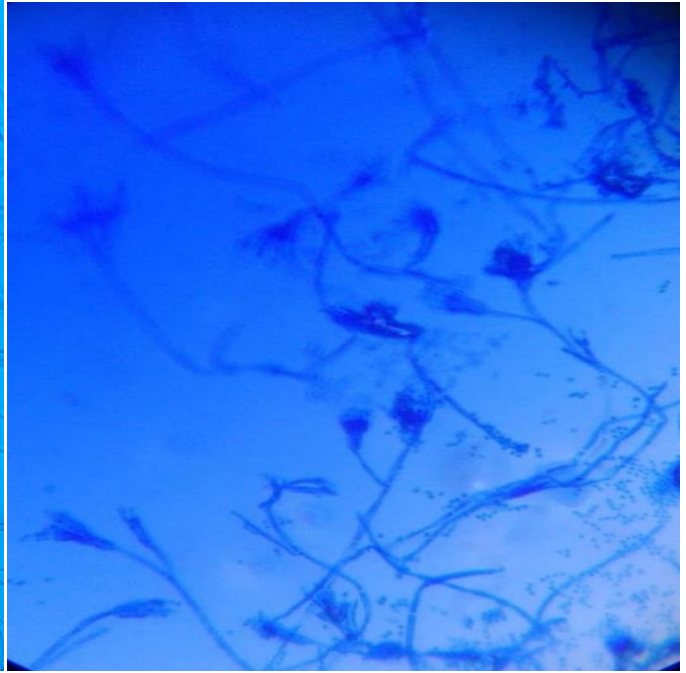


Figure 34 : *Penicillium* à l'aspect microscopique