

CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES BACTERIES LACTIQUES ISOLEES A PARTIR DE LAIT CRU DE CHEVRE DE DEUX POPULATIONS CAPRINES LOCALES "ARABIA ET KABYLE".

Reçu le 23/04/2003 – Accepté le 30/03/2005

Résumé

La distribution qualitative des bactéries lactiques est étudiée dans le lait cru de chèvre de deux populations caprines algériennes (Kabyle et Arabia). Cette distribution semble montrer que le genre *Lactobacillus* est nettement prédominant dans la population Kabyle (61.48 %); suivi de, *Lactococcus* (22.9%), *Streptococcus* (8.88%), *Leuconostoc* (5.92%) et de loin de *Pediococcus* (0.74 %), alors que les deux genres *Leuconostoc* et *Lactococcus* sont représentés de façon presque similaire dans la population Arabia (32.64 % et 31.02 % respectivement), ainsi que *Lactobacillus* (15.27 %), *Streptococcus* (14.82 %) et *Pediococcus* avec une faible représentation (6.25 %). L'identification des 240 isolats selon les critères morphologiques, physiologiques et biochimiques a permis de les rattacher aux 28 espèces présumées dont les plus dominantes sont : *Lactobacillus helveticus* (29 isolats), *Streptococcus thermophilus* (23 isolats), *Lactobacillus brevis* (20 isolats), *Lactobacillus caséi* subsp *caséi* (20 isolats), *Lactobacillus plantarum* (16 isolats), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (14 isolats) et *Pediococcus acidilactici* (12 isolats).

Mots clés : bactéries lactiques – lait cru – chèvre- caractérisation phénotypique.

Abstract

The qualitative distribution of lactic acid bacteria was studied in raw goat's milk of two Algeria's breeds (Kabyle and Arabia). This distribution showed that genus *Lactobacillus* is definitely predominate in Kabyle breed (61.48 %); follow-up, by *Lactococcus* (22.9%), *Streptococcus* (8.88%), *Leuconostoc* (5.92%) and by far, the genus *Pediococcus* (0.74 %), while the *Leuconostoc* and *Lactococcus* are similarly represented in Arabia (32.64 % and 31.02 % respectively), follow-up by *Lactobacillus* (15.27 %), *Streptococcus* (14.82 %) and *Pediococcus* with a faible representation (6.25 %). The identification of 240 isolates among morphological, physiological and biochemical criteria have been reattached them with 28 species with the most dominant are *Lactobacillus helveticus* (29 isolates), *Streptococcus thermophilus* (23 isolates), *Lactobacillus brevis* (20 isolates), *Lactobacillus caséi* subsp *caséi* (20 isolates), *Lactobacillus plantarum* (16 isolates), *Lactococcus lactis* subsp *lactis* (14 isolates) and *Pediococcus acidilactici* (12 isolates).

Key words: Lactic acid bacteria - raw milk – goat - phenotypical characterization.

A. BADIS¹
LAOUABDIA-SELLAMI N⁴
D. GUETARNI²
M. KIHAL³
R. OUZROUT⁴

¹Laboratoire de biochimie microbienne. Département de Chimie Industrielle. Faculté des Sciences de l'ingénieur. Université de Blida. Algérie.

²Faculté des sciences AgroVétérinaire et Biologique. Université de Blida. Algérie.

³Laboratoire de Microbiologie Appliquée. Département de Biologie. Faculté de Sciences. Université Es-senia. Oran. Algérie.

⁴Centre Universitaire d'El Tarf. Algérie

ملخص

لقد تمت دراسة التوزيع الكيفي لبكتيريا الحليب في الحليب الطازج لسلاطين من الماعز المحلي "قبائلية و عربية". بينت هذه الدراسة سيادة الجنس *Lactobacillus* عند السلالة القبايلية بـ (61.48 %) متنوعا بكل من: *Lactococcus* (22.9 %), *Streptococcus* (8.88 %), *Leuconostoc* (5.92 %) و بنسبة أبعد الجنس *Pediococcus* أما في السلالة "عربية" فيتوزع كل من *Leuconostoc* و *Lactococcus* بشكل متساوي تقريبا (32.64 % و 31.02 % على التوالي) متنوعين بكل من *Lactobacillus* (15.27 %) و *Streptococcus* (14.88 %) و بنسبة أضعف الجنس *Pediococcus* (6.25 %). سمح تحديد 240 معزولة تبعا للخصائص المورفولوجية، الفيزيولوجية و البيوكيميائية إلى 28 نوع نذكر السائدة منها كما يلي: *Streptococcus thermophilus* (23 معزولة)، *Lactobacillus helveticus* (29 معزولة)، *Lactobacillus caséi* subsp *caséi* (20 معزولة)، *Lactobacillus plantarum* (16 معزولة) و *Pediococcus acidilactici* (12 معزولة).

الكلمات المفتاحية: تصنيف- بيوتكنولوجي- بكتيريا الحليب- حليب الماعز.

Les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres. Non pathogènes, ces bactéries à coloration de gram positive (Gram⁺) ont un métabolisme anaérobie facultatif et ne produisent pas de catalase. Les bactéries colonisent des milieux naturels variés tel que la surface des végétaux et les muqueuses des mammifères (intestin, bouches, vagin et surface de la peau). Leur utilisation est apparue, depuis des millénaires, dans la fabrication des aliments comme les fromages, les charcuteries, les boissons fermentées, le pain au levain, les sauces, les saumures, les légumes fermentés, les ensilages etc.

Elles permettent, de part leur métabolisme, d'augmenter la durée de conservation d'origine des denrées et leur confèrent une saveur et une texture différente. L'isolement des bactéries lactiques à partir de lait de chèvre correspond à un sujet intéressant car peu d'informations sont disponibles dans la littérature sur les microorganismes, ayant une importance technologique, isolées à partir de laits de chèvre et brebis.

En Algérie, l'élevage caprin vient en seconde position (14%) après les ovins (26%) [1]. Il se trouve concentré essentiellement dans les zones de montagnes, des hauts plateaux et des régions arides.

Il est caractérisé par son adaptation aux conditions climatiques du pays et contribue à la formation du revenu et à la couverture de besoins en lait et viande d'une large couche de la population dans la plupart des zones difficiles (montagnes, hauts plateaux et régions arides). Au cours de la dernière décennie, la production laitière annuelle est d'environ 1 milliard de litres dont 13% de lait de chèvre [2]. La transformation du lait de chèvre en Raïb, Lben et Jben (fromage traditionnel), le plus souvent de qualité sensorielle variée, se fait par fermentation spontanée.

L'industrie laitière a pris un essor considérable par la sélection des souches de bactéries lactiques [3]. Cette sélection est basée sur la capacité de production d'acide lactique, de composés aromatiques, de bactériocines, de production de CO₂, de résistance aux phages et de pouvoir autolytique [4-7]. Les caractères technologiques recherchés sont souvent codés par des plasmides entraînant donc une instabilité de ces caractères [8].

Face à l'industrie laitière nationale florissante et dans la perspective de la production de levains lactiques locaux, de bactériocines potentiellement intéressantes mais aussi au manque des informations scientifiques et techniques sur le lait de chèvre produit par les populations caprines présentes en Algérie ; nous avons entrepris un travail portant sur la détermination et la distribution des bactéries lactiques de lait cru de chèvre de deux populations principales algériennes (Kabyle et Arabia).

MATERIEL ET METHODES

Site d'étude et échantillonnage

Les prélèvements de lait provenaient de chèvres de la population Arabia de Djelfa et de la population Kabyle de Tizi Ouzou (grande Kabylie).

Les 19 échantillons de lait ont été prélevés sur 2 variétés de chèvres distribués comme suit :

- Dix (10) prélèvements à partir de dix (10) chèvres de la même variété Kabyle.
- Neuf (09) prélèvements à partir de neuf (09) chèvres de la même variété Arabia.

Après lavage à l'eau savonneuse, rinçage à l'eau javellisée puis séché avec une lingette stérile du pis (sans trayons) de la chèvre, le lait a été recueilli dans des flacons stériles (100 ml / flacon) dès les premiers jets puis échantillonné durant la même période pour cause de disponibilité fourragère durant deux ans en mois de Mars (2001 pour la variété Kabyle et 2002 pour la variété Arabia).

2. Obtention des isolats

L'isolement sélectif des bactéries lactiques par culture sur plusieurs milieux a été réalisé selon les méthodes décrites par la Fédération Internationale du Lait [9]. Après dilution des échantillons dans une solution de Ringer au 1/4 stérile, nous avons procédé à l'isolement des différents microorganismes mentionnés au Tableau 1. Les analyses microbiologiques sont faites directement à partir des

prélèvements ou après enrichissement par incubation à 30°C et à 45°C, jusqu'à coagulation

3. Conservation des isolats

La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu solide incliné. Après croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les 4 semaines. La conservation à long terme des isolats purifiés est réalisée dans un milieu contenant 70% de lait écrémé (enrichi par 0.05 % d'extrait de levure et 0.05 % de glucose) et 30% de glycérol et stockés à une température de -20 °C [14, 15].

Tableau 1 : Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques.

Microorganismes	Milieux d'isolement	T°C	Durée (h)	Incubation
Streptocoques lactiques	M17 [10]	42-48	72	Aérobiose
Lactocoques	Elliker [11]	30	72	Aérobiose
Leuconostocs	Hypersaccharose [12]	25	72-144	Aérobiose
Pediocoques	M17	30	72	Aérobiose
Lactobacilles mésophiles	MRS [13]	30	24-36	Anaérobiose
Lactobacilles thermophiles	MRS	45	24-36	Anaérobiose

T °C: température optimale de croissance

4. Détermination des isolats

L'identification des isolats de bactéries lactiques au stade genre a été réalisée en deux étapes. La première consiste à tester tous les isolats par la coloration de Gram, la production de catalase et la formation de spores. La deuxième est basée sur l'étude morphologique (macroscopique et microscopique) et le type de fermentation. Les isolats représentatifs de la flore dominante, ont été identifiés au stade espèce sur la base des critères d'identification rapportés par plusieurs auteurs comme suit :

- Pour les genres *Lactobacillus* [16-21].
- Pour les *Streptococcus* et *Lactococcus* [22, 14]. Pour les *Leuconostoc* et *Pediococcus* [23-25].

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

Le test de Sherman et la thermorésistance à 60.5°C pendant 30 min [14].

- La croissance, sur milieu M17 et MRS, a été suivie pour les températures de 5°C et 10°C après incubation de 5-7 jours et 37°C, 40°C et 45°C après incubation de 24 à 48 heures. En fonction des températures, les isolats des genres ont été testés comme suit : *Leuconostoc* à 5°C, *Streptococcus* et *Lactococcus* à 10°C, *Leuconostoc* à 37°C, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Lactococcus* à 40°C, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Leuconostoc* à 45°C.

- La production de l'arginine dihydrolase (ADH) sur le milieu M16 BPC de Thomas [26] et l'hydrolyse de l'esculine selon la méthode de Millière *et al.* [27].
- La fermentation des carbohydrates en galeries classiques de tubes sur milieu liquide MRS et M17 contenant le pourpre de bromocrésol (0.04 g/l) comme indicateur de pH et additionné avec 1% de carbohydrate. Les carbohydrates testés sont : lactose, glucose, saccharose, galactose, sorbitol, mannose, mélézitose, raffinose, arabinose, xylose, mélibiose, fructose et cellobiose.
- L'habilité à croître sur milieu M17 et MRS en présence de NaCl à différentes concentrations et à différentes valeurs de pH a été observé pendant 2 à 3 jours d'incubation. Les isolats des genres ont été testés comme suit : *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Lactobacillus* à 2% et 4% de NaCl et pH 4.5 et 6.5, *Leuconostoc* à 3% et 6.5% de NaCl et pH 4.5, 4.8 et 6.5 et *Pediococcus* à 2%, 3%, 4% et 6.5% de NaCl et pH 4.2, 4.8, 7.0 et 8.0.
- Seuls les isolats des genres *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* ont été testés pour la production d'acétoïne en milieu lait écrémé selon la technique décrite par Schmitt *et al.* [28].
- La production de dextrane à partir de saccharose sur milieu solide MSE de Mayeux *et al.* [12]. a été appliqué pour les isolats de *Leuconostoc* uniquement et l'utilisation du citrate sur milieu Kempler et Mc Kay [29]. pour les isolats des *Streptococcus* et *Lactococcus*.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Choix des isolats

A partir des 19 échantillons de lait, nous avons obtenu 919 isolats (48 à 49 isolats par échantillon de lait) à partir desquels 567 isolats ont été retenus, tous à Gram positif, catalase négative et asporulants. Parmi les 567 isolats restants, seuls 240 isolats représentatifs de la flore dominante ont été identifiés de manière complète par les méthodes phénotypiques.

2. Identification des isolats

Les 567 isolats ont été rattachés à 5 groupes et distribués par ordre de dominance comme suit : lactocoques (165 isolats, 29.1%), leuconostocs (149 isolats, 26.28%), lactobacilles (149 isolats, 26.28%), streptocoques (76 isolats, 13.4%) et pediocoques (28 isolats, 4.9%) et rapportés dans le tableau 2 Les résultats d'identification des 240 isolats au stade espèce sont représentés dans le tableau 3. La répartition des 28 espèces présumées identifiées est présentée en fonction du genre.

2.1. Espèces de *Lactococcus*

Au total, 49 isolats ont été identifiés au *Lactococcus*. Par rapport au test de l'ADH et à la production d'acétoïne, ils ont été subdivisés en espèces et sous-espèces :

1- ADH⁺ et acétoïne⁺ : 10 isolats de *Lc. lactis* subsp. *lactis*. biovar *diacetylactis* (toutes les isolats ont produit l'acétoïne, ont possédé l'arginine dihydrolase et ont hydrolysé l'esculine).

2- ADH⁺ et acétoïne⁻ : 14 isolats de *Lc. lactis* subsp. *lactis* (croissance positive à 4% NaCl) et 4 isolats de *Lc. lactis* subsp. *hordnae* (pas de croissance à 4% de NaCl).

3- ADH⁻ et acétoïne⁺ : 4 isolats de *Lc. lactis* subsp. *cremoris* (utilisant très peu de carbohydrates), 13 isolats de *Lc. plantarum*, 2 isolats de *Lc. garviae* et 2 isolats de *Lc. raffinolactis* (ces trois espèces diffèrent seulement par la fermentation de mélézitose et de sorbitol).

L'espèce *Lc. lactis* subsp. *lactis* avec le biovar. *diacetylactis* caractérisée dans nos isolats est largement utilisée dans les produits laitiers avec les autres espèces *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis* subsp. *hordnae*, *Lc. plantarum*, *Lc. raffinolactis*, *Lc. garviae* comme rapporté par Garvie [30]. Il est important de signaler les 4 isolats de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, obtenus dans notre cas, décrites aussi au Maroc et à l'est de l'Europe [31] car ces souches deviennent rare dans les pays industrialisés.

Tableau 2 : Caractères morphologiques et physiologiques des genres présumés des bactéries lactiques isolées. T°C : Température optimale d'isolement. ^a Nombre des isolats. ^b Arginine+.

Macro morphologie	Micro morphologie	Type de Fermentation	T°C	Groupes (nombre d'isolats) ^a
Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Cocci, diplocoques et en chaînette	Homo fermentaire	42-48	Streptocoques (76)
Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Cocci, diplocoques et en chaînette	Homo fermentaire	30	Lactocoques (165)
Colonies transparentes très petites, rondes	Cocci, ovales, en chaînette	Hétéro fermentaire	30	Leuconostocs (149)
Colonies lisses arrondies, grisâtres ou blanchâtres	Cocci en tétrades	Homo fermentaire	30	Pediocoques (28)
Petites colonies blanches à centre marron et bombées	Bâtonnets longs enroulés ou filamenteux, isolés ou en chaînettes	Homo fermentaire	45	Lactobacilles (88)
Petites colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Petits bâtonnets en chaînettes	Homo fermentaire + hétéro fermentaire	30	Lactobacilles ^b (61)

Espèces présumées	A D H	E S C	A C T	C T R	D X T	5 °C	10 °C	37 °C	40 °C	45 °C	G A Z	pH 4.2	pH 4.5	pH 4.8	pH 6.5	pH 7	pH 8	R E S	2 %	3 %	4 %	6.5 %
<i>Lbacillus. helveticus</i> (45) ^a	-	-								+	-		+		-			+	-		-	
: <i>Lb. plantarum</i> (30)	-	+								-	-		+		+			-	+		+	
<i>Lb. brevis</i> (25)	+	v								-	+		+		+			-	+		-	
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i> (24)	-	+								v	-		+		+			-	+		+	
<i>Lb. bulgaricus</i> (26)	-	-								+	-		+		+			-	-		-	
<i>Lb. rhamnosus</i> (20)	-	+								+	-		+		+			-	+		+	
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>alactosus</i> (14)	-	+								-	-		+		+			+	-		-	
<i>Lb. lactis</i> (13)	v	+								+	-		+		+			-	+		-	
<i>Lb. acidophilus</i> (01)	-	+								+	-		+		+			-	+		-	
<i>Lb. animalis</i> (01)	+	±								+	-		+		+			+	+		-	
<i>Lb. amylophilus</i> (01)	-	-								-	-		±		+			-	±		+	
<i>Streptococcus thermophilus</i> (46)	-	-		-			-		+	+	-		-		+			+	V		-	-
<i>Lc. diacetylactis</i> (18)	+	+	+	+			+		+	-	-		-		+			v	+		+	-
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> (25)	+	+	-	-			+		+	-	-		-		+			v	+		+	-
<i>Lc. plantarum</i> (22)	-	+	+	-			+		v	-	-		+		+			-	+		+	-
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>hordnae</i> (11)	+	+	-	±			+		-	-	-		-		+			-	+		-	-
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> (10)	-	v	+	-			+		-	-	-		-		+			-	+		-	-
<i>Lc. garviae</i> (02)	+	+	+	-			+		+	-	-		+		-			-	+		+	-
<i>Lc. raffinolactis</i> (02)	v	+	+	v			+		-	-	-		-		-			-	+		-	-
<i>Leuconostoc lactis</i> (11)	-	-	-	-			+		-	+			-		+			+		+		-
<i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> (04)	-	±	-		+	-		+		+	+				-	+		-		±		-
<i>Ln. amelibiosum</i> (07)	-	-	+		+	-		+		-	+				+	+		-		+		-
<i>W. paramesenteroides</i> (10)	-	±	+		-	+		±		-	+				±	+		-		±		±
<i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> (07)	-	-	+		-	+		-		-	+				-	+		-		-		-
<i>Ln. Pseudomesenteroides</i> (02)	-	±	+		-	+		+		+	+				+	-		-		+		-
<i>Pediococcus damnosus</i> (06)	-	-	v						-	-	-	+	-				-	-			-	-
<i>P. acidilactici</i> (12)	+	+	+						+	+	-	v	+			+	v	+			+	v
<i>P. parvulus</i> (03)	+	-	-						-	-		+	+			+	-	-			+	+

Tableau 3 : Critères biochimiques et physiologiques des espèces présumées des bactéries lactiques isolées de lait cru de chèvre.

^a Nombre d'isolats réellement testés. + : plus de 90 % de réactions positives. - : moins de 10% de réactions positives .V : plus de 10% et moins de 90% de réactions positives. ADH : production de l'arginine dihydrolase. ESC : hydrolyse de l'esculine. ACT : production d'acétoïne. CTR : dégradation de citrate. DXT : production de dextrane. RES : thermorésistance à 63,5 °C pendant 30 min. GAZ : production de gaz à partir du glucose. % : concentration de NaCl.

2.2. Espèces de *Streptococcus*

Sur les 76 isolats, identifiés au genre *Streptococcus*, 23 ont été rattachés au *Streptococcus thermophilus*. Ces 23 isolats de *St. thermophilus*, capables de croître à pH 6.5 rapidement et lentement à pH 4.5 et 4.8, thermorésistants, ne produisant pas d'acétoïne et n'hydrolysant pas l'esculine, fermentent différemment certains sucres (43% ont fermenté le lactose et galactose, 20.6% ont fermenté le mélibiose, 18% ont fermenté le raffinose et 14% ont fermenté le mélézitose).

2.3. Espèces de *Leuconostoc*

Les 29 isolats de *Leuconostoc* se répartissent en 6 espèces : 7 de *Ln. lactis*, 5 de *Weissella paramesenteroïdes* (ancien *Ln. paramesenteroïdes*), 7 souches de *Ln. amylibiosum*, 7 de *Ln. mesenteroïdes* subsp. *cremoris*, 4 de *Ln. mesenteroïdes* subsp. *dextranicum*, et 2 de *Ln. pseudomesenteroïdes*. Une hétérogénéité dans la fermentation des sucres a été remarquée pour les isolats de trois espèces de *Leuconostoc* :

- à un degré très élevé pour *Ln. mesenteroïdes* subsp. *dextranicum* (galactose=32%, mannose=50%, raffinose=56%, xylose=75%, mélibiose=45% et cellobiose=55%),
- suivi de *W. paramesenteroïdes* (galactose=50%, glucose=50%, raffinose=66%, arabinose=58% et xylose=76%),
- à un degré moindre pour *Ln. lactis* (mannose=72%, raffinose=38% et mélibiose=66%).

2. 4. Espèces de *Pediococcus*

Trois espèces de *Pediococcus* ont été isolées. Elles forment des colonies lisses, arrondies, grisâtres ou blanchâtres sur milieu M17. L'observation microscopique à l'état frais entre lame et lamelle révèle une forme caractéristique de cocci en tétrade. Parmi les 19 souches identifiées, 12 appartiennent à l'espèce *P. acidilactici*, 4 à l'espèce *P. damnosus* et 3 à l'espèce *P. parvulus*.

2. 5. Espèces de *Lactobacillus*

120 isolats de lactobacilles ont été classés dans 11 espèces. Normalement, ils sont différenciés par leur type de fermentation des carbohydrates mais le profil de la fermentation de ces isolats a été comparé avec celles de souches de référence dans la clé d'identification de Bergey [17] et des différences considérables ont été notées. A titre d'exemple : Un (01) isolat, identifié comme *Lb. animalis* diffère de la souche de référence par la fermentation de cellobiose, du fructose et du galactose considérée typique de la souche de référence. Les isolats de *Lactobacillus* ont été sub-divisés en trois groupes :

1. Groupe des lactobacilles thermophiles et homofermentaires strictes :

Les isolats de ce groupe fermentent les hexoses en produisant exclusivement du lactate, mais ne fermentent pas les pentoses. Les espèces associées sont :

- 01 isolat de *Lb. acidophilus* qui possède une fermentation typique comme pour la souche de référence.

- 12 isolats de *Lb. delbrueckii* dont 7 de *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (fermentation typique) et 5 de *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* qui fermentent quatre carbohydrates d'une façon différente (50% des isolats ont fermenté le galactose et cellobiose, 44.4% ont fermenté le melibiose et 22.2% ont fermenté le sorbitol).

- 29 isolats de *Lb. helveticus* qui fermentent différemment trois carbohydrates (42.9% le saccharose, 42.8% le sorbitol et 42.9% le fructose). Alors que le reste des carbohydrates ont été fermentés soit par 100% des isolats ou par 0% des isolats.

- 01 isolat de *Lb. animalis* qui ne fermente pas le cellobiose, le fructose et le galactose, fermentation considérée typique pour la souche témoin.

2. Groupe des lactobacilles mésophiles et homofermentaires facultatifs :

Les isolats de ce groupe fermentent les hexoses en produisant exclusivement du lactate et ne produisent pas du gaz à partir du glucose. Ils peuvent fermenter les pentoses.

Trois espèces appartenant à ce groupe ont été isolées :

- 58 isolats de *Lb. casei* dont 20 isolats de *Lb. casei* subsp. *casei* (fermentation typique), 10 de *Lb. casei* subsp. *rhamnosus* (fermentation typique) et 10 de *Lb. casei* subsp. *alactosus* (fermentation typique),
- 30 isolats de *Lb. plantarum* (53.9% ont fermenté le saccharose, 53% raffinose et cellobiose et 46.6 ont fermenté le xylose) 01 isolat de *Lb. amylophilus* (fermentation typique).

3. Groupe de lactobacilles mésophiles ou thermophiles et hétérofermentaires stricts :

Les isolats de ce groupe fermentent les hexoses en lactate, en acétate et/ou en éthanol et CO₂. Une seule espèce, isolée a été rattaché au *Lb. brevis* (20 isolats avec 40% ont fermenté l'arabinose). Cette espèce ainsi que *Lb. buchneri*, *Lb. fermentum* et *Lb. parabuchneri* ont été isolé dans le lait et produits laitiers, comme rapporté par Dellaglio *et al.* [33]. Les espèces de lactobacilles hétérofermentaires, isolées dans les viandes et incapables de croître sur milieu acétate, ont été introduites dans le genre *Carnobacterium* [34].

La recherche de production de gaz à partir de gluconate, non réalisée, en plus du test de production de gaz à partir du glucose, nous aurait sans doute permis de classer plus facilement les lactobacilles isolés selon leur type de fermentation (lactobacilles homofermentaires, lactobacilles hétérofermentaires facultatifs et lactobacilles hétérofermentaires obligatoires) comme décrit par Demarigny *et al.* [35].

D'une manière générale, les analyses morphologiques, physiologiques et biochimiques ont montré une diversité de genres et d'espèces isolées à partir de lait cru de deux populations caprines locales (Kabyle et Arabia). Cette composition de bactéries lactiques est relative et dépend des différents critères utilisés dans chaque étude comme rapportée par Fitzsimmons *et al.* [36] et Bissonnette *et al.* [25].

L'identification des isolats obtenus par les méthodes classiques présente beaucoup de difficultés car des différences significatives dans les profils de fermentation des sucres ont été observées. Par conséquent, l'identification génotypique est indispensable pour confirmer la classification phénotypique.

2. Distribution des bactéries lactiques

2.1. Distribution des genres

La répartition des genres dans les deux populations caprines semble montrer que le genre *Lactobacillus* est nettement prédominant dans la population Kabyle (61.48 %); suivi de, *Lactococcus* (22.9%), *Streptococcus* (8.88%), *Leuconostoc* (5.92%) et de loin de *Pediococcus* (0.74 %), alors que les deux genres *Leuconostoc* et *Lactococcus* sont représentés de façon presque similaire dans la population Arabia (32.64 % et 31.02 % respectivement), ainsi que *Lactobacillus* (15.27 %), *Streptococcus* (14.82 %) et *Pediococcus* avec une faible représentation (6.25 %).

Le faible taux des lactobacilles dans la population Arabia, par rapport à la population Kabyle, semble être dû à la compétitivité « Lactobacilles / Streptocoques » dans la fermentation du lait qui est en faveur des streptocoques. Cette hypothèse a déjà été avancée par Harrati [37] qui avait noté leur absence totale dans le Lben algérien. En revanche, la prédominance des lactobacilles enregistrée dans la population Kabyle incombe à l'enrichissement par incubation à 30°C et à 45°C jusqu'à coagulation des échantillons de lait. Les mêmes remarques ont été signalées par Tantaoui-Elaraki *et al.* [38] et Tzanetakis et Litopaulou-Tzanetaki [39] où la prédominance des lactobacilles est expliquée par leur croissance favorable à pH faible.

Le taux élevé des leuconostocs dans la population Arabia mais faible dans la population Kabyle n'est pas facile à expliquer. Toutefois, pour Sawaya, *et al.* [40], une relation existe entre la composition en bactéries lactiques, la composition du lait et l'alimentation.

Les pedicoques n'ont pas été mis en évidence dans la plupart des échantillons du lait et le nombre d'isolats a toujours été faible, même dans les échantillons de la population Arabia.

De proches résultats ont été rapportés par Saidi *et al.* [41] dans la caractérisation de 206 isolats de BL à partir de lait cru de la population caprine des régions arides, où ils ont montré une nette dominance des lactocoques (76.16%), Streptocoques (14.78%), leuconostocs (8.6%) et de l'espèce *Lc. lactis* subsp. *lactis*. Ainsi, Bekhouche *et al.* [42] dans l'isolement de BL à partir de lait de vache dans l'est algérien où ils ont montré une distribution hétérogène avec une grande fréquence de *Leuconostoc*, suivi de *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Streptococcus*.

2.2. Distribution des espèces

Les résultats de la distribution des bactéries lactiques en fonction de l'espèce sont rapportés dans le tableau 4. Le nombre d'espèces montre une faible variabilité, de l'ordre de 19 et 22 chez Arabia et Kabyle respectivement. Les espèces, *Pc. acidilactici* (12 isolats), *Ln. amylibiosum* (7 isolats), *Ln. mesenteroides* subsp. *dextranicum* (4 isolats),

Pc. parvulus (3 isolats), *Ln. pseudomesenteroides* (2 isolats), *Lb. acidophilus* (01 isolats), *Lb. amylophilus* (01 isolats) et *Lb. animalis* (01 isolats) ne sont retrouvées que dans la population Arabia. Les espèces *Lc. garviae* (2 isolats), *Lc. raffinolactis* (2 isolats) ne sont retrouvées que dans la population Kabyle. Cette distribution diffère d'une population à l'autre comme suit :

- 1) Dans la population Arabia, la distribution des autres espèces se distingue par la dominance des espèces *Lc. plantarum* (10 isolats), *Pc. acidilactici* (12 isolats), *St. thermophilus*. (11 isolats) et *Lb. plantarum* (10 isolats).
- 2) Dans la population Kabyle, les espèces *Lb. helveticus* (21 isolats), *Lb. casei* subsp. *casei* (15 isolats) et *Lb. brevis* (14 isolats), retrouvées dans les autres populations sont dominantes.

Tableau 4 : Répartition des espèces de BL isolées de lait cru de chèvre de deux populations caprines. A : la population Arabia. K : la population Kabyle. % : pourcentage de chaque espèce. n : total des isolats dans l'espèce. ^a Pourcentage des isolats dans chaque population.

Espèces	%	n	A	K
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	2.92	7	0	7
<i>Lb. helveticus</i>	12.03	29	8	21
<i>Lb. plantarum</i>	6.67	16	9	7
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>rhammosus</i>	4.17	10	1	9
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	2.08	5	5	0
<i>Lb. brevis</i>	8.33	20	6	14
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>alactosus</i>	4.17	10	0	10
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i>	8.33	20	5	15
<i>Lb. acidophilus</i>	0.42	1	1	0
<i>Lb. animalis</i>	0.42	1	1	0
<i>Lb. amylophilus</i>	0.42	1	1	0
<i>Streptococcus thermophilus</i> .	9.58	23	11	12
<i>Lc. lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	4.17	10	1	9
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	5.83	14	6	8
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>hordniae</i>	1.67	4	0	4
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	1.67	4	1	3
<i>Lc. plantarum</i>	5.42	13	10	3
<i>Lc. garviae</i>	0.83	2	0	2
<i>Lc. raffinolactis</i>	0.83	2	0	2
<i>Leuconostoc lactis</i>	2.92	7	5	2
<i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	1.67	4	0	4
<i>Weissella paramesenteroides</i>	2.08	5	3	2
<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	0.83	2	2	0
<i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	1.67	4	4	0
<i>Ln. amylibiosum</i>	2.92	7	7	0
<i>Pediococcus damnosus</i>	1.67	4	3	1
<i>P. acidilactici</i>	5.0	12	12	0
<i>P. parvulus</i>	1.25	3	3	0
Total	99.97	240	105	135
		(100) ^a	(43.75)	(56.25)

Les espèces de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lb. plantarum*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. brevis* et *Lc. lactis*.subsp *lactis*, sont les espèces dominantes les plus fréquemment signalées dans les produits laitiers. Par contre, les espèces de

Leuconostoc et de *Pediococcus* sont rarement retrouvés dominantes dans la flore lactique comme rapporté par Hitchener *et al* [43].

Cette diversité, en relation avec la composition du lait cru de chaque variété de chèvre, peut être due à l'aridité de l'environnement où vivent ces animaux comme signalé par Jenness [44](1982), Rameuf *et al.* [45] ; Picque *et al.* [46] et Gomez et Malcata [47]. Cependant, les BL sont exigeantes au plan nutritionnel [48].

CONCLUSION

Les résultats obtenus lors de cette étude montre que la majorité des espèces de bactéries lactiques sont présentes dans le lait cru de chèvre des deux principales populations locales. Des différences au niveau quantitatif et qualitatif, très probablement en relation avec la différence de la composition physico-chimiques de ces laits, ont été remarquées. Des espèces tel que *Lactococcus lactis* subsp *cremoris*, devenues rares dans les pays industrialisés et même certaines espèces de *Leuconostoc*, sont fréquentes dans certains laits, ce qui contribue à l'enrichissent des connaissances sur leur écologie.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]- Anonyme. "Statistiques Agricoles, 1990-1999". Série B, superficies et production. ONS (Office National des Statistiques), Alger. Algérie. 2000a.
- [2]- Anonyme. "Note de conjoncture sur les performances zootechniques des élevages bovins laitiers en Algérie 1999-2000". Institut Technique des élevages (ITELV), Alger. Algérie. 2000b.
- [3]- Ross R. P., Morgan S et Hill D., "Preservation and fermentation : past, present and future", *Int. J. Food. Microbiol.*, **79**(2002), pp. 3-16.
- [4]- Gibbs P. A., "Novel uses for lactic fermentation in food preservation", *J. Appl. Bacteriol.*, **5**(1987), pp. 51- 58.
- [5]- Frey L., "Les bactériocines des bactéries lactiques", *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, **4**(1993), pp. 245-251.
- [6]- Albenzino M., Corbo M. R., Rehman S. U., Fox P. F., De Angelis M., Corsetti A., Sevi A. et Gobetti M., "Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey", *Int. J. Food. Microbiol.*, **67**(2001), pp. 35-48.
- [7]- Beresford T. P., Fitzsimmons, N. A., Brennan, N. L et Cogan T. M., "Recent advances in cheese microbiology", *Int. Dairy. J.*, **11**(2001), pp. 259-274.
- [8]- Huang D.Q., Prévost H., Kihal M et Diviès C., "Instability of plasmid encoding for β . Galactosidase in *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides*", *J. Basic. Microbiol.*, **34**(1994), pp. 23-30.
- [9]- Fédération Internationale du Lait., "Lait et produit laitiers, Préparation des échantillons et des dilutions en vue de l'examen microbiologique", Document 122C.
- [10]- Terzaghi, B.E. et Sandine, W.E., "Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages", *Appl. Environ. Microbiol.*, **29**(1975), pp. 807-813.
- [11]- Elliker P.R., Anderson A.W. et Hannesson G., "An agar culture medium for lactic streptococci and lactobacilli". *J. Dairy. Sci.*, **39**(1956), pp. 1611-1612.
- [12]- Mayeux, J.V., Sandine, W.W.E. et Elliker P.R., "A selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed strain starter cultures", *J. Dairy. Sci.*, **45**(1962), pp. 655-656.
- [13]- De Man, J., Rogosa, M. et Sharpe, M.E., "A medium for the cultivation of Lactobacilli", *J. Appl. Bacteriol.*, **23**(1960), pp. 130-135.
- [14]- Samelis, J., Maurogenakis, F. et Metaxopoulos, J., "Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami", *Inter. J. Food. Microbiol.*, **23**(1994), pp. 179-196.
- [15]- Herrero M., Mayo B., Gonzalez B et Suarez J. E., "Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation", *J. Appl. Bacteriol.*, **81**(1996), pp. 565-570.
- [16]- Johnson J. L., Phelps C. F., Cummins C. S., London J et Gasser F., "Taxonomy of *Lactobacillus acidophilus* group", *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **30**(1980), pp. 53-68.
- [17]- Kandler O et Weiss N., "Regular, non-sporforming Gram-positive rods", In: Sneath, P.H.A., Mair N., Sharpe M.E et Holt J.G. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore. 1986. p.1208-1234.
- [18]- Bottazzi V., "An introduction to red shaped lactic acid bacteria", *Biochimie.*, **70**(1988), pp. 303-315.
- [19]- Falsen E., Pascual C et Sjoden B., "Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human source: description of *Lactobacillus iners* sp.nov", *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **49**(1999), pp. 217-221.
- [20]- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L. and Collins, J.K., "Quality control *Lactobacillus* strains for use with the API 50CH and API ZYM systems at 37°C", *J. Basic. Microbiol.* **41**(2001), pp. 241-251.
- [21]- Klein G., "International committee of Systematic Bacteriology. Subcommittee on the taxonomy of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and related organisms. Minutes of the meeting", *Int. J. Syst. Microbiol.*, **51**(2001), pp. 259-261.
- [22]- Schleifer K. H., Kraus J., Dvorak C., Killper-Bälz R., Collins M. D et Fisher W., "Transfer of *Streptococcus lactis* and related Streptococci to the genus *Lactococcus* gen, Nov", *System. Appl. Microbiol.*, **6**(1985), pp. 183-195.
- [23]- Devoyod, J. J. et Poullain, F., "Les leuconostocs Propriétés : Leur rôle en technologie laitière", *Lait.*, **68**(1988), pp. 249-280.
- [24]- Lopez, S et Mayo, B., "Identification and characterization of homofermentative mesophilic *Lactobacillus* strains isolated from artisan starter-free cheeses". *Lett. Appl. Microbiol.*, Vol. 25.n°4 (1997), pp. 233-238.
- [25]- Bissonnette, F., Labrie, S., Deveau, H., Lamoureux, M. et Moineau, S., "Characterization of mesophilic mixed starter cultures used for the manufacture of aged cheddar cheese", *J. Dairy Sci.*, Vol. 83 .n° 4(2000), pp.620-627.
- [26]- Thomas, T.D., "Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria", *N.Z.J. Dairy. Sci. Technol.*, **8**(1973), pp. 70-71.
- [27]- Millièrre, J.B., Mathot, A.G., Schmitt, P. et Diviès C., "Phenotypic characterization of *Leuconostoc* species", *J. Appl. Bacteriol.*, **67**(1989), pp. 529-542.
- [28]- Schmitt, P., Diviès, C. et Merlot, C., "Utilisation of citrate by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* in continuous culture", *Biotechnol. Lett.*, **12**(1990), pp.127-130.
- [29]- Kempler, G.M. et Mc Kay, L.L., "Improved medium for detection of citrate-fermenting *Streptococcus lactis* subsp *diacetylactis*", *J. Appl. Environ. Microbiol.* **39**(1980), pp. 956-927.
- [30]- Garvie E. I., "Taxonomy and identification of bacteria important in cheese and fermented dairy products. In : advanced in Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk", Elsevier Applied science publisher, London, N.Y. 1984, p. 35-65.
- [31]- Salama S. M., Musafija-Jeknic T., Sandine E. W et Giovannoni, J. S., "An ecological study of lactic acid bacteria. Isolation of new strains of *Lactococcus*. Including *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*", *J. Dairy. Sci.*, **78**(1995), pp. 1004-1007.

- [32]- Hutking R., Halambeck S.M et Morris H. A., "Use of galactos-fermenting *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Swiss, Mozzarella, and short-method Cheddar cheese", *J. Dairy. Sci.*, **69**(1986), pp. 1-8.
- [33]- Dellaglio F., De Roissart H., Torriani S., Curk M et Janssens. C, *In* : Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, 1994. Vol. 1 : 25-114.
- [34]- Collins M. D., Farrow J. A. E., Philips B. A., Ferusu S. et Jones D., "Classification of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola* and some catalase-negative asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus *Carnobacterium*", *Int. J. syst. Bacteriol.*, **37**(1987), pp. 310-316.
- [35]- Demarigny Y., Beuvier E., Dasen A et Duboz G., "Influence of raw milk microflora on the characteristics of Swiss-type cheese. I. Evolution of microflora during ripening and characterization of facultatively heterofermentative lactobacilli", *Lait*. **76**(1996), pp. 371-387.
- [36]- Fitzsimmons, N.A., Cogan, T.M., Condon, S. et Beresford T., "Phenotypic and Genotypic Characterization of non-strarter Lactic Acid Bacteria in Mature Cheddar Cheese", *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**(1999), pp. 3418- 3426.
- [37]- Harrati E., "Recherche sur le Lben et le Klila algeriens", Thèse de doctorat de spécialité. Université de Caen. France. 1974.
- [38]- Tantaoui-Elaraki A., Berrada M., El Marrakchi, A et Berramou A. 1983. Etude sur le Lben marocain. *Le lait*. **63** : 230-245.
- [39]- Tzanetakis N et Litopoulou-Tzanetaki E., "Changes in numbers and kinds of lactic acid bacteria in Feta and Teleme, tow Greek cheeses from ewes' milk", *J. Dairy .Sci.*, **75** (1992), pp. 1389-1393.
- [40]- Sawaya, W.N., Safi, W.J. and Shalhat A.F., "Chemical composition and nutritive value of goats milk", *J. Dairy. Sci.*, **67**(1984), pp. 1655-1659.
- [41]- Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D. E., Prevost H et Kihal M., "Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre des régions arides d'Algérie", *Journal. Algérien des Régions Arides*. N°01 Juin (2002), pp. 1-10.
- [42]- Bekhouche, F., Bachir-Cherif, et Gheribi, M., "Isolement et identification de bactéries lactiques à partir de lait cru de vaches", XIème Journées Nationales de Microbiologie. Oran. Algérie. 30 novembre et 01 December (1998).
- [43]- Hitchener B., J., Egan, A. F et Rogers P. J., "Characteristics of lactic acid bacteria isolated from Vacuum-Packaged beef", *Journal. Appl. Bacteriol.* **52**(1982), pp. 31-37.
- [44]- Jenness R., "Composition and characteristics of goat milk": Review 1968-1979. *J. Dairy Sci.*, **63**(1982), pp. 605.
- [45]- Remeuf, F., Cossin, V., Dervin, C., Lenoir, J. et Tomassone, R., "Relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits et leur aptitude fromagère", *Lait.*, **71**(1991), pp. 397-421.
- [46]- Picque D., Perret B., Latrille E et Corrieu G., "Caractérisation et classification des bactéries lactiques à partir de la mesure de leur cinétique d'acidification", *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, **25**(1992), pp. 181-186.
- [47]- Gomes, A. M., Malcata, F. X. et Klaver, F. A., "Growth enhancement of *Bifidobacterium lactis* Bo and *Lactobacillus acidophilus* ki by milk hydrolysates", *J. Dairy. Sci.*, **81**(1998), pp. 281-25.
- [48]- Deguchi Y et Morishita T., "Nutritional requirement in multiple auxotrophic lactic acid bacteria: genetic lesion affecting amino acid biosynthetic pathways in *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium* and *Pediococcus acidilactici*", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**(1992), pp. 913-918.