Caractérisation des Bactéries Lactiques Isolées du Lait Cru de Chèvre des Régions Arides d'Algérie.

N. SAIDI [*], B. GUESSAS [*], F. BENSALAH [*], A.BADIS , M. HADADJI[*], D.E HENNI, H. PREVOST [**] et M. KIHAL[*]

[*]Laboratoire de Microbiologie Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université d'Oran, BP 16 Es-Sénia, 31100, Oran, Algérie.

[*] Chercheurs associés au CRSTRA.

[**]Département Sciences des Aliments, Laboratoire Microbiologie Alimentaire et Industrielle, ENITIAA, BP 82225, 44322 Nantes Cedex 3 France.

SUMMARY

Diversity and density of lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goats' milk in arid zones were studied. Phenotypical, physiological and biochemical analysis were realised.

The study of 206 isolates revealed the presence of 115 cocci and 91 lactobacilli. The representative species of the total cocci were Lactococcus species (76,16%), Streptococcus thermophilus (14,78%) and Leuconostoc species. (8,6%). The dominating species is Lactococcus lactis subsp. lactis.

Lactobacilli species found in local raw goats' milk and their proportion were: Lb. curvatus (25,25%), Lb. helviticus (10,98%), Lb. plantarum (9,89%), Lb. reuteri (9,89%), Lb. casei (7.69%), Lb. brevis (5,49%), Lb. bulgaricus (5,49%) Lb. paracasei (4,39%) and Lb. acidophilus (2,19%). Only two isolates of Lactococcus lactis subsp. lactis shown high proteolytic activity.

The amount of lactic acid production by several strain was between 42,2 mM and 110,6 mM in pure culture in milk. Whereas, in the mixed culture the result revealed positive and negative interactions.

This investigation of goats' raw milk microflora should have many industrial and biotechnological applications

KEY-WORDS: Goats' raw milk - Lactic acid bacteria - Characterization - Identification - Acidification - Proteolytic activity.

RESUME

La diversité et la densité des bactéries lactiques du lait cru de chèvre des zones arides de l'ouest d'Algérie ont fait l'objet d'analyses phénotypiques, physiologiques et biochimiques.

L'étude de 206 souches de bactéries lactiques a révélé la présence de 115 de formes cocci et 91 bâtonnets. Les cocci sont représentés par les genres Lactococcus (76,16%), Streptococcus thermophilus (14,78%) et Leuconostoc (8,6%). Lactococcus lactis subsp lactis est l'espèce dominante. Les espèces de lactobacilles détectées sont curvatus (25,25%), helviticus (10,98%), plantarum (9,89%), reuteri (9,89%), casei (7.69%), brevis (5,49%), bulgaricus (5,49%), paracasei (4,39%) et acidophilus (2,19%).

Deux souches de Lactococcus lactis subsp lactis possèdent une activité protéolytique considérable. Le pouvoir acidifiant obtenu par les différentes souches testées en milieu lait se situe entre 42,2 mM et 110,6 mM en culture pure. En revanche, l'évaluation de la cinétique d'acidification en culture mixte fait apparaître différentes interactions positives et négatives.

Mots clefs: Lait de chèvre, bactéries lactiques, identification, pouvoir acidifiant, protéolyse.

INTRODUCTION

Le lait de chèvre joue un rôle alimentaire important dans régions arides [38, 39, 43]. La production de lait de chèvre dans le monde est évaluée à 7.2 millions de tonnes par an [38]. Elle ne cesse d' augmenté vu sa valeur nutritionnelle [1, 16, 48]. La sélection de souches de bactéries lactiques pour leurs aptitudes industrielles ou leur probables potentialités thérapeutiques a pris tout son essor dans de nombreux pays [1, 19]. Ainsi des bactéries lactiques sont recherchées dans leurs divers écosystèmes naturels telle que les plantes [4, 27, 35], les fromages [36, 40] et les produits carnés et marins [35].

La nécessité d'obtention de nouvelles souches lactiques performantes et stables a reçu un intérêt particulier. La sélection de ces souches utilisées comme starter est basée sur la production d'acide lactique, de composés aromatiques, de bactériocines et de leur résistance aux bactériophages [5, 7, 9, 13, 14, 17, 18, 20, 24].

L'objectif de cette étude est d'une part l'isolement, la caractérisation et l'identification de bactéries lactiques du lait cru de chèvre des zones arides algériennes, et d'autre part l'évaluation de leurs aptitudes technologiques.

MATERIEL ET METHODES

Isolement des souches

Les échantillons de lait cru de chèvre proviennent des villes suivantes: Béchar, Saïda, Ghardaïa, Béni-Abbès, Tamanrasset et Tiaret. Dans des conditions d'asepsie, les échantillons du lait cru sont recueillis par la traite dans des flacons stériles conservés à 4°C et sont transportés le même jour au laboratoire pour analyse. Chaque échantillon du lait cru est réparti en tube à raison de 10 ml. Deux des tubes sont maintenus à température ambiante, deux incubés à 30°C, et deux autres à 45°C jusqu'à coagulation par les bactéries endogènes. L'isolement des souches bactériennes mésophiles et thermophiles est réalisée selon les

méthodes décrites par FIL (Fédération Internationale du Lait) [11]. Les souches retenues sont conservées à – 20°C dans une solution contenant 70% de lait écrémé (enrichie par 0.5 g/l d'extrait de levure et 0.5 g/l de glucose) et 30% de glycérol à 40% [42].

Caractérisation physiologique et biochimique

Tous les isolats sont préalablement testés pour la coloration de Gram, la catalase et la sporulation. Les caractéristiques des colonies sont aussi déterminées sur milieux solides M17 [45] et MRS [6]. Seules les bactéries à Gram positif et à catalase négative sont par la suite identifiées par le test de Sherman [22].

L'effet de la température sur la croissance est testé pendant 5 jours à 15°C, 37°C et 45°C. En outre la résistance à une température élevée (60°C , 30 mn) est réalisée selon la méthode de Joffin et Leyral [22]. La production de gaz à partir de glucose a été déterminée sur milieu liquide contenant des tubes de Durham [15]. L'hydrolyse de l'arginine et l'utilisation du citrate ont été testées sur milieu M16BPC de Thomas [46, 47] et milieu Kempler et Mc Kay [23]. L'aptitude à croître en présence de 4% et 6,5% de NaCl et à pH 9.6 a été observée en milieu liquide M17 à 30°C pendant 2 jours. La production de dextranes à partir de saccharose a été déterminée sur milieu solide MRS [33]. La production d'acétoïne à partir de glucose est réalisée selon le test de Voges-Proskauer [42].

Fermentation des carbohydrates

Elle est déterminée sur milieu liquide MRS additionné de 0.04 g/l de pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH, et supplémenté avec 1% des carbohydrates suivants: L-Arabinose, Ribose, D-Xylose, Galactose, D-Fructose, Mannitol, Sorbitol, Cellobiose, Maltose, Lactose, Mélibiose, Saccharose, Tréhalose, et D-Raffinose. Après inoculation, les conditions d'anaérobiose sont assurées par l'addition d'huile de paraffine stérile à la surface [42]. Ces tests sont complétés par celui de l'hydrolyse de l'esculine [34]. Enfin, le système d'identification API 50CH (Biomerieux Marcy l'Etoile France) a servi pour l'établissement du profil fermentaire des souches.

Activité protéolytique

L'aptitude à la protéolyse des différentes espèces de *Lactococcus* est recherchée sur milieu à base de lait écrémé Y.M.A [37]. L'intensité de la réponse est notée à chaque fois (-, +, ++).

Croissance et production d'acide sur milieu lait

L'évaluation de l'acidité produite par les souches en cultures pures ou en cultures mixtes (mélange de deux souches) est réalisée par titrimétrie (titrage de 10 ml d'échantillon de culture avec NaOH N/9 en présence de 5 gouttes de phénolphthaléine) et par pH-métrie. Ce test est réalisé dans le lait écrémé qui est reconstitué à 10%, enrichi par 0.5 g/l d'extrait de levure et stérilisé à 110°C pendant 10 mn. La pré-culture est obtenue par l'inoculation du lait écrémé (6 ml) par une seule colonie de bactéries lactiques. Après incubation à la température convenable et après coagulation, le tout est transvasé stérilement dans 200 ml de lait écrémé. La cinétique de croissance et d'acidification sont réalisées simultanément à des intervalles de temps régulier [20, 24]. La production d'acide lactique est exprimée en mM selon la méthode de Kumar *et al.*, [26].

RESULTATS.

Caractérisation des souches bactériennes

Les isolats à Gram positif, catalases négatifs et non sporulés sont étudiées. La croissance des souches en présence de 6.5% de NaCl, à 45°C et à pH 9.6 permet de séparer les entérocoques. Par contre les formes cocci qui ne poussent pas dans de telles conditions sont classées parmi les bactéries lactiques (115 souches) (Tableau 1).

Les tests physiologiques et biochimiques ont facilité la répartition des isolats en 6 groupes : coques homofermentaires mésophiles (groupe 1: 88 souches), coques hétérofermentaires mésophiles (groupe 2: 10 souches), coques homofermentaires thermophiles (groupe 3: 17 souches).

Dans le groupe 1, (88 souches) la recherche de l'ADH et de l'acétoïne ont permet l'identification de l'espèce et la sous-espèce : c'est le cas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ADH $^{+}$ (74 souches) et *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ADH^{-} (14 souches) et même la sous-espèce, c'est le cas de la production d'acétoïne et l'utilisation du citrate caractéristique de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* (39 souches).

Pour les autres groupes, contrairement aux lactocoques, ces deux tests s'avèrent insuffisants quant à leur identification; car elle repose essentiellement sur la fermentation des carbohydrates. Les 10 souches du groupe 2 appartiennent au genre *Leuconostoc* (Tableau 1). Parmi ces dernières, deux sont caractérisées par un profil fermentaire réduit, ne dégradent pas l'arginine et ne produisent pas de dextranes. Ces caractères nous permettent de les classer dans l'espèce *Leuconostoc mesenteroïdes* subsp. *cremoris*. L'espèce dominante de ce genre appartient à *Leuconostoc mesenteroïdes* subsp. *mesenteroïdes* qui dégrade l'arabinose et produise du dextrane.

Le troisième groupe (17 souches) possèdent les caractéristiques de *Streptococcus thermophilus* qui sont un profil fermentaire réduit, ne poussent pas en milieu Sherman. Cette souche ne supporte pas le pH 9.6 et 6.5 % de NaCl.

Les lactobacilles sont représentés par 91 souches, bâtonnets homofermentaires mésophiles (groupe 4: 53 souches), bâtonnets homofermentaires thermophiles (groupe 5: 20 souches) et bâtonnets hétérofermentaires mésophiles (groupe 6: 18 souches). Les résultats obtenus lors de la fermentation des carbohydrates (Tableau 1) permet de les répartir selon différentes espèces. Le groupe 4 est constitué de *Lb. plantarum* 9 (9.89 %), *Lb. casei* 7 (7.69 %), *Lb. curvatus* 23 (25.27 %), *Lb. rhamnosus* 10 (10.98 %) et *Lb. paracasei* 4 (4.39 %); le groupe 5 renferme *Lb. acidophilus* 2 (2.19 %); *Lb. helviticus* 10 (10.98 %), *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 5 (5.49 %) et *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis* 3 (3.29 %); quant à *Lb. brevis* 5 (5.49 %), *Lb. reuteri* 9 (9.89 %) et *Lb. fermentum* 4 (4.39 %), elles font partie du groupe 6.

Activité protéolytique et pouvoir acidifiant

Un pourcentage de 39.47 des lactocoques ne présentent aucune activité protéolytique; 53.9% un halo d'hydrolyse inférieur à 10 mm; 5.26% un halo compris entre 10mm et 20 mm. Seule une espèce de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* possède une activité

protéolytique importante (halo égale à 26 mm).

La production maximale d'acide (Figure 1) des cultures pures se situe entre 42.2 mM et 110.6 mM. Les vitesses maximales moyennes obtenues entre deux heures et dix heures d'incubation sont respectivement de 1.9 mM h^{-1} et 9 mM h^{-1}. Les figures 2a et 2b présentent la production d'acide lactique en cultures mixtes de deux couples de lactocoques. La production d'acide lactique est stimulée entre la souche LL.9LMA (31.1 mM) et la souche LL.30LMA (50 mM) celle-ci atteint 127.6 mM après 16 h d'incubation (Fig 2a). L'augmentation de la production d'acide est significative (+ de 57.3 %). La deuxième montre l'effet antagoniste entre la souche LL.9LMA (31.1 mM) et la souche LL.11LMA (55.5 mM) se manifeste par une réduction de 33.3 mM en co-culture après 10h d'incubation (Fig 2b).

DISCUSSION

Notre présente étude a permis d'isoler, de caractériser, et d'identifier 206 souches de bactéries lactiques réparties essentiellement entre de lactocoques (*Lc. lactis* subsp. *lactis* (35 souches), *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, (39 souches), *Lc. lactis* subsp. *cremoris* (14 souches), de streptocoques (*Sc. Thermophilus* 17 souches), de leuconostocs *(Ln. mesenteroides subsp. mesenteroides* 8 souches, *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* 2 souches), et de lactobacilles (*Lb. plantarum* 9 souches, *Lb. casei* 7 souches, *Lb. curvatus* 23 souches, *Lb. rhamnosus* 10 souches, *Lb. paracasei* 4 souches, *Lb. acidophilus* 2 souches, *Lb. helviticus* 10 souches, *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, 5 souches, *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis* 3 souches, *Lb. brevis* 5 souches, *Lb. reuteri* 9 souches et *Lb. fermentum* 4 souches).

Les espèces de bactéries lactiques détectées dépendent essentiellement de la nature du lait cru et des conditions d'analyse. Ainsi, à partir du cheddar, la caractérisation phénotypique et génotypique de la microflore lactique a permis de recenser les espèces dominantes de *Lb. paracasei*, de *Lb. plantarum*, de *Lb. curvatus*, et de *Lb. brevis* [12]; alors que pour Bissonnette *et al.*, [2], l'espèce dominante du même fromage était *Lc. lactis* subsp. *cremoris*. Les espèces de bactéries lactiques dominantes des levains artisanaux appartiennent à *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus*, et *Lb. brevis* [32]. Pour le poisson, ce sont *Lc. lactis* subsp. *lactis* et *Ln. citreum*. et pour le riz bouilli *Lb. paracasei* [3, 35]. Dans les produits carnés, Hugas *et al.*, [21] ont trouvé que *Lactobacillus plantarum* représente 8 % des lactobacilles isolées et l'espèce dominante était *Lactobacillus sake* avec *55 %*; en revanche, Rovira *et al.*, [41] trouvèrent *Lactobacillus plantarum* l'espèce dominante de la flore lactique isolée. Dans les produits végétaux tels que le sorgho, les espèces de bactéries lactiques dominantes appartiennent aux lactobacilles (*Lactobacillus plantarum* 34.7 %, *Lactobacillus sake-Lactobacillus curvatus* 15 %), aux leuconostocs (*Leuconostoc mesenteroides* 28.2 %) et aux pédiocoques (*Pediococcus pentosaceus* 10.2 % et *Pediococcus acidilactici* 7.8 %); par contre les lactocoques ne représentent que 4 % [27].

La deuxième étape a permis de recenser des souches possédant des propriétés technologiques intéressantes telles que le pouvoir acidifiant et l'activité protéolytique. Dans notre cas, les souches les plus acidifiantes appartiennent aux deux sous espèces *Lc. lactis* subsp. *lactis* et *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*.

Une stimulation de la production d'acide entre LL.9LMA et LL.30LMA. est obtenue. Cette protocoopération a été observé entre les souches de bactéries lactiques [10]. Elle peut aboutir à une augmentation de la croissance de ces souches et à une acidification du lait plus importante que la somme de ces activités propres à chacune des deux espèces [10].

Les méthodes utilisées pour la mise en évidence de l'activité protéolytique sont cependant assez dissemblables et les résultats obtenus sont difficilement comparables. Elles diffèrent notamment par la nature des substrats protéiques et la spécificité des activités enzymatiques. Pour notre cas nous avons utilisé le milieu Y.M.A. pour détecter l'activité protéolytique. En plus de son action sur la coagulation du lait lors de la croissance des bactéries lactiques, la protéolyse d'origine bactérienne est essentielle à l'affinage des fromages par le développement de flaveurs [29] et de la texture [31]. La composition du milieu de croissance et les conditions de culture peuvent modifier l'activité protéolytique totale ou activer/inhiber une activité protéasique ou peptidasique donnée [25, 28]. Les souches les plus protéolytiques que nous avons isolées appartiennent à l'espèce *Lc. lactis* subsp. *lactis*. Desmazeaud et Vassal [8, 30] ont montré que les souches les plus protéolytiques sont *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. Les bactéries lactiques testées sont peu protéolytiques et rejoignent les résultats obtenus par Reinheimer *et al*. [40].

Les souches présentant un halo de lyse entre 5 et 10 mm de diamètre, ont une acidité de 65.5 mM. La valeur maximale de production d'acide lactique obtenue est de 99,9 mM. Alors que pour 3 sous-espèces protéolytiques de *Lc. lactis* subsp. *lactis*, le pouvoir acidifiant varie entre 74.4 mM. et 99.9 mM. De telles constatations ont été enregistrées par Sodini *et al.*, [44].

BIBLIOGRAPHIE

[1] Agnihotri M.K., Prasad V.S.S. - Biochemistry and processing of goat milk and milk products. *Small Ruminant. Res.*, 1993,12,151-170

[2] Bissonnette F., Labrie S., Deveau H., Lamoureux M., Moineau S. - Characterization of mesophilic mixed starter cultures used for the manufacture of aged cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, 2000, 83 (4), 620-627.

[3] Bouton Y., Guyot P., Grappin R. - Preliminary characterization of microflora of comté cheese. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, 85, 123-131

[4] Cai Y. - Identification and characterization of *Enterococcus* species isolated from forage crops and their influence on silage fermentation. *J. Dairy Sci.*, 1999, 82 (11), 2466-2471.

[5] Chekroun A., Aït Hamadouche N., Kihal M., Bensoltane A., Saidi D., Mezmaze F., Kheroua O. - Hydrolytic activity of lactic acid bacteria on bovine β-lactoglobulin: effects on its immunological reactivity. *Microbiol. Aliment Nutr.*,1998, 16, 211-220.

[6] De Man J., Rogosa M., Sharpe M.E. - A medium for the cultivation of Lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.*, 1960, 23, 130-135.

[7] Desmazeaud M.J. - Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahier. Agric.*, 1996, 5, 331-343

[8] Desmazeaud M.J., Vassal L. - Activité protéolytique intracellulaire de streptocoques lactiques mésophiles: Rôle au cours de l'affinage des fromages. *Le Lait.*, 1979, 59, 327-344.

[09] Desmazeaud M.J. - L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Le Lait.*, 1983, 63, 267-316.

[10] Driessen F.M., Kingma F., Stadkouders J. - Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* in yoghourt is stimulated by carbon dioxide produced by *Streptococcus thermophilus*. *Neth. Milk Dairy J.*, 1982, 22, 135-144.

[11] Fédération Internationale du Lait. - Lait et produit laitiers, Préparation des échantillons et des dilutions en vue de l'examen microbiologique. Document 122C.,1996.

[12] Fitzsimmons N.A., Cogan T.M., Condon S., Beresford T. - Phenotypic and Genotypic Characterization of non-strarter Lactic Acid Bacteria in Mature Cheddar Cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*,1999, 65, 3418- 3426.

[13] Frey L. - Les bactériocines des bactéries lactiques. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 1993, 4, 245-251

[14] Gibbs P.A.. - Novel uses for lactic acid fermentation in food preservation. *J. Appl. Bacteriol.*, 1987, 51S-58S.

[15] Gibson T., Abdelmalek Y. - The formation of carbon dioxide by lactic acid bacteria and *Bacillus licheniformis* and a cultural method of detecting the process. *J. Dairy. Res.*, 1945, 14, 35.

[16] Gomes A.M.P., Malcata F.X. - Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological Manufacture. *J. Dairy. Sci.*, 1998, 81, 1492-1507.

[17] Hechard Y., Derijard B., Letellier F., Cenatiempo Y. - Characterization and purification of mesentericin Y105, an anti-*Listeria* bacteriocin from

Leuconostoc mesenteroïdes. *J. Gen. Microbiol.*, 1992, 138, 2727-2731.

[18] Herrero M., Mayo B., Gonzalez B., Suarez J.E. - Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation. *J. Appl. Bacteriol.*, 1996, 81, 565-570

[19] Heyman M.. - Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2000, 19 (2), 137S-146S.

[20] Huang D.Q., Prevost H., Kihal M., Diviès C. - Instability of plasmid encoding for β-galactosidase in *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*. *J. Basic. Microbiol.*, 1994, 34, 23-30.

[21] Hugas M., Garriga M., Aymerich T., Monfort J.M.. - Biochemical characterization of lactobacilli from dry fermented sausages. *Inter. J. Food Microbiol.*, 1993, 18 (2), 107-113

[22] Joffin J.N., Leyral G. - Microbiologie technique. Centre Régional de *Documentation Pédagogique d'Aquitaine Bordeaux*, 1996, pp: 219-223.

[23] Kempler G. M., Mc Kay L. L. - Improved medium for detection of citrate-fermenting *Streptococcus lactis* subsp *diacetylactis*. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 1980, 39, 956-927.

[24] Kihal M, Prevost H., Lhotte M.E., Huang D.Q., Diviès C. - Instability of plasmid-encoded citrate permease in *Leuconostoc*. *J. Appl. Microbiol.*, 1996, 22, 219-223.

[25] Kok J., De Vos W.M. - The proteolytic system of lactic acid bacteria. In: Genetics and Biotechnology of lactic acid bacteria., 1994, (Gasson, M.J., De Vos, W.M., Eds.). *Blackie Academie and Proffessional, Glasgow*.

[26] Kumar B., Sinha P.R., Sinha R.N. - Biochemical activities of lactococci treated with different curing agents. *Microbiol. Alim. Nutr.*, 1991, 9, 357-362.

[27] Kunene N.F., Geornaras I., von Holy A., Hastings J.W. - Characterization and determination of origin of lactic acid bacteria from a sorghum-based fermented weaning food by analysis of soluble protein and amplified fragment length polymorphism fingerprinting. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, 66 (3), 1084-1092.

[28] Kunji E.R.S. - The proteolytic system of *Lactococcus lactis*., 1997, *PhD. Univ. of Groningen. The Netherland*

[29] Law B.A. - Flavour development in cheeses. In: Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk (Davies F.L. and Law B.A., Eds.), 1984, 187-208. *Elsevier Applied Science Publishers, London.*

[30] Law B.A., Kolstad J. - Proteolytic systems in lactic acid bacteria. *J. Microbiol.*, 1983, 49, 225-245.

[31] Lawrence R.C. Thomas T.D., Terzaghi B.E. - Reviews of the progress of dairy science: cheese starter. *J. Dairy Sci.*, 1976, 43, 141- 193.

[32] Lopez S., Mayo B. - Identification and characterization of homofermentative mesophilic *Lactobacillus* strains isolated from artisan strarter-free cheeses. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1997, 25 (4), 233-238.

[33] Mayeux J.V., Sandine W.W.E., Elliker P.R. - A selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed strain starter cultures. *J. Dairy. Sci.*, 1962, 45, 655-656.

[34] Millière J.B., Mathot A.G., Schmitt P., Diviès C. - Phenotypic charcterization of *Leuconostoc* species. *J. Appl. Bacteriol.*, 1989, 67, 529-542.

[35] Paludan-Muller C., Huss H.H., Gram L. - Characterization of lactic acid bacteria isolated from Thai low-salt fermented fish product and the rôle of garlic as substrate for fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, 46 (3), 219-229.

[36] Papageorgiou D.K., Abrahim A., Bori M., Doundounakis S. - Chemical and bacteriological characteristics of pichtogalo chanion cheese and mesophilic starter cultures for its production. *J. Food. Protect.*, 1998, 61 (5), 601-607.

[37] Parra L., Requena T., Casal V., Gomez R. - Proteolytic activity of lactobacilli in model goats' milk curd system. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1996, 23, 375-378.

[38] Remeuf F., Lenoir J., Duby C. - Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Le Lait.*, 1989, 69, 499-518.

[39] Remeuf F., Cossin V., Dervin C., Lenoir J., Tomassone R. - Relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits et leur aptitude fromagère. *Le Lait.*, 1991, 71, 397-421.

[40] Reinheimer J.A., Binetti A.G., Quiberoni A., Bailo N.B., Rubiolo A.C., Giraffa G. - Naturel milk cultures for the production of Argentinian cheeses. *J. Food Prot.*, 1997,60 (1), 59-63.

[41] Rovira A., Nieto J.C., Rodriguez A., Reguera J.I., Gonzalez Z. - Characterization and selection of lactobaclli isolated from spanish fermented sausage. *Microbiologia*, 1997, 13 (2), 201-208.

[42] Samelis, J., Maurogenakis, F., Metaxopoulos, J. - Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *Inter. J. Food. Microbiol.*, 1994, 23, 179-196.

[43] Sawaya W.N., Safi W.J., Shalhat A.F. - Chemical composition and nutritive value of goats milk. *J. Dairy. Sci.*; 1984,. 67, 1655-1659.

[44] Sodini I., Boquien C.Y., Corrieu G., Lacroix C. - Microbial dynamics of co-and separately entrapped mixed cultures of mesophilic lactic acid bacteria during the continuous prefermentation of milk. *Enzyme Microbiol. Technol.*, 1997, 20 (5),381-388.

[45] Terzaghi B.E., Sandine W.E. - Improved medium for lactic steptococci and their bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1975,. 29, 807-813.

[46] Thomas T.D. - Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. *N.Z.J.Dairy. Sci. Technol.*, 1973, 8, 70-71.

[47] Thomas T.D., Pritchard G.C. - Proteolytic enzymes of dairy starter cultures. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1987, 46, 245-268.

[48] Touhami M. - Intérêt nutritionnel du lait de chèvre. *Ed. INRA. Paris Les Colloques.*, 1996, 81, 93-100

Tableau 1: Propriétés physiologiques et biochimiques des différentes souches de bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de chèvre.

	Cocci						Bâtonnet		
Groupe	1			2		3	4	5	6
Type Fermentaire	Homo			hétéro		homo	homo	homo	hétéro
Nombre de souches	35	39	14	8	2	17	53	20	18
ADH	+	+	-	-	-	6			10
Croissance à 15°C	+	+	+	+	+	-	-	-	-
37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45°C	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Croissance à 4% NaCl	+	+	-	-	-	-	-	-	-
6.5% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Production de Dextrane	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Acétoïne	-	+	-	-	+	-	-	-	-
Fermentation de									
Arabinose	11	13	4	+	-	5	15	2	10
Ribose	33	+	+	+	+	5	47	+	13
Xylose	2	3	-	-	-	-	30	3	-
Galactose	34	37	+	6	1	5	50	14	12
Fructose	+	30	+	+	-	7	51	18	+
Mannitol	31	29	13	-	-	-	44	4	16
Sorbitol	6	11	-	-	-	-	35	6	7
Cellobiose	33	21	12	+	-	3	+	4	+
Maltose	+	31	11	+	1	2	49	11	13
Lactose	33	+	13	+	+	+	52	18	12
Melibiose	25	35	2	5	+	+	21	1	7
Saccharose	23	22	6	+	-	16	33	2	16
Trehalose	32	+	+	+	+	+	27	17	7
Raffinose	1	1	-	-	-	-	8	-	-

+: réaction positive; -: réaction négative; les chiffres indiquent le nombre de souches positives.

Tableau 2: Activité protéolytique des différentes espèces de *Lactococcus* sur milieu YMA.

Espèces	Nombre	Degré de protéolyse			
		0	+	++	+++
Lactococcus lactis subsp *lactis*	35	16	14	4	1
Lactococcus lactis subsp *lactis* biovar *diacetylactis*	39	18	21	0	0
Lactococcus lactis subsp *cremoris*	14	8	6	0	0

0: absence d'un halo d'hydrolyse; +: halo < 10mm; ++; halo de 10mm à 20 mm; +++: halo >20mm.