Étude de la variété de fromage « Ulloa »

I. EVOLUTION DE LA FLORE MICROBIENNE ET DES COMPOSANTS AZOTES AU COURS DE LA MATURATION

par

J. A. ORDÓÑEZ et J. BURGOS

*Chaire de Biochimie et Technologie des aliments
Faculté Vétérinaire, León (Espagne)*

INTRODUCTION

La maturation du fromage est un phénomène très complexe au cours duquel se forment de nombreux produits contribuant au bouquet (peptides, acides aminés libres, ammoniacque, cétones, aldéhydes, acides gras libres, etc.). Ces produits, qui ont pour précurseurs plus ou moins éloignés les composants principaux du caillé (lactose, triglycérides et caséines), résultent de l'action conjuguée de certaines enzymes du lait, apportées par la présure ou de provenance microbienne ; ces dernières jouant, sans doute, le rôle le plus important.

La flore microbienne qui participe à la maturation des différents fromages est extrêmement variée, mais les bactéries acidolactiques jouent, parmi toute cette diversité, un rôle primordial. Cette flore est généralement constituée de streptocoques et de lactobacilles. Le rôle joué par les premiers au cours de ce processus est connu depuis le début du siècle [12, 13] ; leur rythme de croissance initial est plus rapide que celui de tous les autres germes qui prolifèrent dans le fromage. La concentration maximale en lactobacilles est généralement atteinte quand les streptocoques ont sensiblement diminué ou disparu [7, 21]. Le rôle fondamental des deux est la production d'acide lactique, mais la dégradation protéique est assurée essentiellement par les lactobacilles, dont l'activité protéolytique a été entièrement démontrée [39].

Dans certains fromages, les activités protéolytique et lipolytique sont très accusées ; ces activités résultent de l'action des moisissures, levure et ferments du « rouge ». Dans d'autres fromages, l'action des germes acidolactiques est complétée par celle d'autres bactéries : les entérocoques et microcoques [10, 15] qui sont détectés dans la

quasi totalité des fromages [10, 15], et dont la capacité protéolytique est bien connue [3, 41, 33]. Il en résulte que leur contribution à la maturation de nombreux fromages est très probable [10, 17, 18, 19, 20, 23].

La connaissance de la flore microbienne d'un fromage, de son évolution au long de la maturation, et de la contribution des divers germes à ce processus revêt une importance primordiale pour la mise au point d'une technologie adéquate de fabrication. Cette connaissance est absolument indispensable quand on désire fabriquer industriellement, avec du lait pasteurisé, un fromage élaboré traditionnellement avec du lait cru, selon des procédés artisanaux.

En Galice (Espagne), selon Compaire [6] on fabrique annuellement environ 3 000 000 de kg de fromage de type « Ulloa » et similaires (à pâte semi-molle) à partir de lait cru de vache.

Le présent travail est orienté vers la connaissance de sa flore microbienne et l'étude de son évolution tout au long de processus de maturation. Il constitue un préliminaire à la formulation d'un « starter » adéquat en vue d'une fabrication à l'échelle industrielle.

MATERIELS ET METHODES

Prélèvement d'échantillons

Les échantillons étudiés provenaient de deux séries de fromages fabriqués à partir de lait cru selon des procédés artisanaux dans deux usines différentes de la province de Lugo. Dans les deux cas ont été prélevés des échantillons : a) de lait, et b) de fromages à différentes époques de la maturation.

Les prélèvements ont été effectués selon les normes 2 : 1958 et 3 : 1958 de la F.I.L.-I.D.F.

Analyses microbiologiques

Les comptages ont été réalisés selon la méthode d'homogénéisation en boîtes (le diluant utilisé étant la solution de Ringer au 1/4) dans les milieux suivants :

— Gélose Rogosa [31] pour le comptage et l'isolement des lactobacilles.

— Gélose Elliker [11] pour la culture et l'isolement de streptocoques lactiques.

— « Plate Count Agar » (Difco) pour le comptage total.

— Gélose *m-Enterococcus* [36] pour le comptage du groupe physiologique des entérocoques. Toutes les boîtes ont été étuvées à

32° C, hormis celles utilisées pour le comptage des entérocoques, étuvées à 45° C.

Les streptocoques lactiques ont été classés d'après le critère de Sherman [35] et les lactobacilles selon les normes de Rogosa et Sharpe [32]. L'identification des staphylocoques et des microcoques a été faite en respectant les recommandations de Baird-Parker [2] ; celle des entérocoques en se basant sur les critères de Sherman [35] et Thatcher et Clark [38].

Lesensemencements nécessaires au comptage des germes du lait ont été effectués au lieu d'origine, 2 h après la traite.

Analyses biochimiques

Le dosage de l'azote a été réalisé selon la méthode de Johnson [40] ; un graphique de référence établi à partir de séroalbumine a été utilisé pour cette détermination.

L'azote total a été dosé en dissolvant à l'aide d'un homogénéisateur une quantité connue de fromage (environ 3 g) dans 100 ml d'acide acétique à 2,5 p. 100 et en déterminant l'azote sur des aliquotes appropriées.

L'azote soluble a été déterminé après homogénéisation d'une quantité adéquate de fromage dans 100 ml de solution de Sharp [22]. La suspension a été portée au bain-marie à 50° C durant 1 h ; le dosage de l'azote a été effectué sur le filtrat.

Pour la détermination de l'azote non protéique (ANP), de l'acide trichloracétique (ATC) a été ajouté à une quantité aliquote du filtrat antérieur jusqu'à obtention d'une concentration finale de 5 p. 100 ; le dosage de l'azote a été effectué sur le filtrat.

L'azote ammoniacal a été déterminé par nesslerisation directe d'une fraction aliquote du filtrat de ANP, les mesures effectuées étant rapportées à un graphique de référence établi pour $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$.

L'azote réagissant au réactif de ninhydrine a été déterminé de la manière suivante : à une quantité aliquote du filtrat résultant de la précipitation obtenue en présence de ATC, ont été ajoutés trois volumes du réactif de ninhydrine (mélange à parties égales d'une solution de 0,16 p. 100 de SnCl_2 dans un tampon de citrate 0,2 M, pH 5 et d'une solution à 4 p. 100 de ninhydrine dans l'éthylèneglycolmonométhyléther). Ce réactif a été préparé immédiatement avant d'effectuer la détermination. Après addition du réactif, les échantillons ont été maintenus dans un bain d'eau bouillante pendant 15 mn. Après refroidissement dans un bain d'eau froide et addition de huit volumes d'alcool n-propylique à 50 p. 100, on a lu l'extinction à 570 m/ μ ; la quantité d'azote a été obtenue par comparaison avec celle d'un modèle de glycocolle 0,001 M.

Le pH a été déterminé avec un pHmètre à électrodes de verre et calomel.

Technologie de fabrication

La technique de fabrication traditionnelle de ce fromage consiste à faire cailler le lait avec de la présure à une température de l'ordre de 32° C, en 30 mn environ ; le caillé obtenu est alors immédiatement divisé avec un couteau et manipulé jusqu'à obtention de particules de la dimension d'un grain de maïs. Le caillé est alors mis dans des moules spéciaux, et est pressé délicatement avec les doigts. Il est ensuite placé dans une saumure à 18° C pendant 24 h, puis soumis à la maturation (13° C et 85 p. 100 d'humidité relative, approximativement).

RESULTATS

Lait : identification de la flore la plus significative

Il est courant d'admettre que les comptages effectués dans la gélose Elliker après 2 j d'incubation à 32° C, sont exclusivement constitués par la flore lactique [8]. Cependant, l'observation microscopique et le test de catalase ont révélé l'existence de cocci Gram + et catalase + parmi les colonies existant dans ce milieu de culture. Pour cette raison, les boîtes de Petri qui contenaient de 100 à 150 colonies ont été sélectionnées et 30 p. 100 de ces colonies ont été isolées et soumises aux tests appropriés permettant leur classification. De cette manière la présence de germes *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Micrococcus spp* et *Staphylococcus spp* a été démontrée, et leurs pourcentages respectifs ont été déterminés. Le tableau 1 présente les résultats obtenus .

TABLEAU 1

Pourcentage des germes proliférant sur gélose Elliker isolés à partir du lait

Echantillon	<i>S. lactis</i>	<i>S. cremoris</i>	<i>Micrococcus spp</i>	<i>Staphylococcus spp</i>
Fabricant 1	41,66	24,99	12,50	20,83
Fabricant 2	40,73	33,33	11,11	14,81

fig. 1

Evolution de la flore et du pH au cours de la maturation (fabricant n° 1). Symboles : comptage total (▲) ; comptage sur gélose Elliker (△) ; lactobacilles (●) ; entérocoques (○) ; pH (■).

fig. 2

Evolution de la flore et du pH au cours de la maturation (fabricant n° 2). Symboles : comptage total (▲) ; comptage sur gélose Elliker (△) ; lactobacilles (●) ; entérocoques (○) ; pH (■).

Dans le but d'identifier les germes développés sur gélose Rogosa, des prélèvements de 5 à 10 colonies de chaque type morphologique observé ont été effectués, cultivés et purifiés, puis soumis aux tests permettant leur classification. Toutes les souches observées présentaient les caractéristiques spécifiques de *Lactobacillus plantarum* (forme bacillaire, Gram +, non formation de spores, catalase —, absence de production de CO₂ à partir du glucose, croissance forte à 15° C et non à 45° C, production d'acide à partir du glucose, lactose, mélicitose, mélibiose, raffinose et célobiose, croissance en présence de 0,1 p. 100 de teepol).

57 p. 100 des souches isolées à partir de gélose *m-Enterococcus* appartenaient à l'espèce *Streptococcus faecium*, les autres, soit 43 p. 100, à *Streptococcus faecalis*, var. *liquefaciens*.

Fromage : évolution de la flore au cours de la maturation et identification des micro-organismes présents dans les comptages

Les figures 1 et 2 présentent les résultats des comptages effectués dans les divers milieux ensemencés à partir du lait (jour 0) et des différents échantillons de fromages.

De même que dans le cas du lait, les colonies existant dans la gélose Elliker ont été isolées et soumises aux tests appropriés pour leur classification. Les figures 3 et 4 présentent l'évolution, au cours de la maturation, des pourcentages de *S. lactis*, *S. cremoris* et de *cocci* Gram +, catalase + (microcoques et staphylocoques).

De même que dans le lait, la présence d'une seule espèce de lactobacille, *L. plantarum*, et de deux espèces d'entérocoques, *S. faecium* et *S. faecalis*, var. *liquefaciens*, en proportions voisines de 1:1, a été mise en évidence à tous les stades de la maturation des fromages.

Un essai de classification selon les normes de Baird-Parker [2] portant sur les microcoques isolés à partir du lait et du fromage, a permis de former cinq groupes, dont les caractéristiques sont présentées dans le tableau 2. Seuls les groupes 3 et 5 de cette table présentaient des caractéristiques permettant de les inclure dans un groupe décrit (les 8 et 7 respectivement selon Cohn), et que, en accord avec Baird-Parker [2], ils seraient synonymes de *Micrococcus roseus* et *Micrococcus luteus*. Cependant, il faut remarquer que le groupe 5 n'est pas pigmenté.

Fromage : évolution, au cours de la maturation, des fractions azotées les plus significatives

Les pourcentages d'azote ont été déterminés sur les échantillons utilisés également pour les analyses microbiologiques ; les figures 5 et 6 présentent les résultats correspondants obtenus.

fig. 3

Evolution de la flore proliférant sur gélose Elliker, au cours de la maturation (fabricant n° 1). Symboles : coques Gram +, catalase — (Δ) ; coques Gram +, catalase + ($\blacktriangle$) ; *Streptococcus lactis* ($\circ$) ; *Streptococcus cremoris* ($\bullet$).

fig. 4

Evolution de la flore proliférant sur gélose Elliker, au cours de la maturation (fabricant n° 2). Symboles : coques Gram +, catalase — (Δ) ; coques Gram +, catalase + ($\blacktriangle$) ; *Streptococcus lactis* ($\circ$) ; *Streptococcus cremoris* ($\bullet$).

fig. 5

Evolution, au cours de la maturation, des fractions azotées les plus significatives (fabricant n° 1). Symboles : azote soluble (●) ; azote non protéique (○) ; azote ammoniacal (▲) ; azote aminé (△).

fig. 6

Evolution, au cours de la maturation, des fractions azotées les plus significatives (fabricant n° 2). Symbole : azote soluble (●) ; azote non protéique (○) ; azote ammoniacal (▲) ; azote aminé (△).

TABLEAU 2. — Caractères biochimiques des souches de microcoques isolées

Groupes	1	2	3	4	5
Catalase	+	+	+	+	+
Production d'acide à partir de glucose :					
1) Anaérobiose	—	—	—	—	—
2) Aérobiose	+	+	+	+	+
Voges-Proskauer	—	+	—	—	—
Réductions des nitrates	+	+	—	—	—
Utilisation des sels d'ammonium	+	—	—	—	—
Phosphatase	—	—	—	±	—
Production d'acide à partir de :					
Arabinose	—	—	—	—	—
Lactose	+	+	—	±	—
Maltose	—	—	—	—	+
Mannitol	—	—	—	—	—
Couleur des colonies	jaune	blanchâtre	rosée	blanchâtre	blanche
Nombre de colonies	1	18	1	12	24

DISCUSSION

Les résultats obtenus par les analyses microbiologiques du lait mettent en évidence sa forte contamination et en particulier la présence d'un taux élevé de staphylocoques. Ils montrent également que, pratiquement, toute la flore présente dans le lait, microcoques et staphylocoques inclus, croît sur la gélose Elliker. Il semble donc nécessaire de travailler avec précaution si l'on désire déterminer les taux de streptocoques du groupe N de Lancefield et d'autres germes lactiques sur la base des comptages effectués, comme le suggèrent certains auteurs [8].

Les micro-organismes les plus abondants dans le lait étaient les streptocoques lactiques, avec une prédominance nette de *S. lactis* sur *S. cremoris*, suivis des staphylocoques et des microcoques. On peut remarquer que les autres streptocoques habituellement trouvés par d'autres auteurs [1] sont absents, ou présents en très faibles quantités, dans les échantillons de lait analysés. En ce qui concerne les entérocoques identifiés, il faut signaler que, si la présence de *S. faecalis*, var. *liquefaciens* est habituelle, celle de *S. faecium* ne l'est pas [1, 33].

Le taux des lactobacilles présents dans le lait cru (*L. plantarum* pour cette expérience) est supérieur à celui obtenu par d'autres auteurs [28, 21, 14] bien que Sharpe et Mattick [34], et Mabbitt [26] signalent que les valeurs correspondantes atteintes par ces micro-organismes sont comprises entre 1 et 10⁶ germes/ml.

En ce qui concerne les fromages, on trouve, tout au long de la maturation, les mêmes micro-organismes que dans le lait.

Les germes lactiques et les entérocoques se multiplient considérablement au cours des premiers jours et ne se stabilisent que vers la fin de la maturation. Au cours de celle-ci on observe une prédominance non accusée de *S. lactis* sur *S. cremoris*. Ce fait paraît contredire les conclusions d'autres auteurs [7] relativement à l'évolution, dans le fromage, des deux espèces citées.

L'augmentation continue des concentrations de *L. plantarum*, au cours de la maturation, est en accord avec les observations d'autres auteurs [21, 27, 28] qui ont étudié l'évolution des lactobacilles. Néanmoins, il semble surprenant de constater que *L. plantarum* soit l'unique représentant du genre étant donné que l'on trouve habituellement *L. casei* seul, ou associé à d'autres lactobacilles [4, 29], dans les fromages à pâte crue.

Les concentrations en microcoques et staphylocoques décroissent progressivement au cours de la maturation ; après 25 j, ces micro-

organismes ne peuvent plus être détectés dans les dilutions réalisées pour les comptages en gélose Elliker. Ceci confirme les conclusions d'autres auteurs [26, 30].

L'évolution des entérocoques observée au long de la maturation est en accord avec les affirmations déjà anciennes de Kosikowski et Dahlberg [23], mais en opposition avec les conclusions de Stadhouders [37], qui affirme que la prolifération des entérocoques n'a lieu que durant l'élaboration du fromage mais non après la fermentation acido-lactique. Dans les fromages de type « Ulloa », le taux d'entérocoques se stabilise à une valeur voisine de celle qui caractérise d'autres variétés : Camembert [24], Roquefort [9] et Cheddar [5].

Les analyses effectuées dans le but d'étudier l'évolution, au cours de la maturation, des fractions azotées les plus significatives, ont mis en évidence l'existence de différences individuelles considérables. Celles-ci sont prévisibles et sont dues, sans doute, aux variations de la composition du lait comme aux conditions très variables de l'élaboration lorsqu'elle est artisanale.

Le taux d'azote soluble, qui est relativement élevé dès les premiers jours, continue à augmenter pendant les 2 premières semaines pour se stabiliser dans la suite. Les valeurs atteintes au stade final de la maturation sont comprises entre celles données par d'autres auteurs (16 p. 100-40 p. 100), pour différents types de fromages : Cheddar, Camembert, Saint-Paulin, Gruyère [25, 16].

Des considérations similaires peuvent être faites en ce qui concerne l'azote non protéique. Néanmoins, il faut remarquer les taux élevés atteints par les substances qui présentent une réaction positive au réactif de Nessler et à la ninhydrine. Même si ces valeurs ne représentent probablement pas les taux réels d'azote aminé et ammoniacal, elles peuvent être considérées dans tous les cas, comme des approximations très utiles permettant de comparer l'évolution de la protéolyse dans les différents fromages.

La protéolyse constitue un des aspects les plus importants de la maturation des fromages. Les résultats de cette étude indiquent qu'elle semble être assez intense dans la variété « Ulloa ».

Les germes qui, à première vue, peuvent être considérés comme étant responsables de ce processus, sont, malgré les affirmations de Stadhouders [37], les entérocoques. D'autre part, l'activité protéolytique intense de ces micro-organismes a été démontrée de façon répétée ; cette activité est particulièrement intense pour *S. faecalis*, var. *liquefaciens*, qui est capable de produire des endoprotéinases et une exoprotéase très actives [33].

Le rôle joué par les différents micro-organismes identifiés sera discuté dans un prochain travail.

Résumé

L'évolution de la flore microbienne au cours de la maturation du fromage espagnol « Ulloa » a été étudiée sur des échantillons prélevés dans deux fromageries de la région de Galice. Les germes totaux, les streptocoques lactiques, les lactobacilles, les entérocoques et les microcoques et staphylocoques ont été dénombrés. Les germes lactiques et les entérocoques se multiplient considérablement pendant les premiers jours et ne se stabilisent que vers la fin de la maturation. Les staphylocoques et microcoques décroissent progressivement au cours de la maturation.

La flore lactique est constituée par *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* et *Lactobacillus plantarum*. Deux espèces d'entérocoques ont été identifiées, *Streptococcus faecalis*, var. *liquefaciens* et *Streptococcus faecium*, en proportions voisines de 1:1, à tous les stades de la maturation. Un essai de classification des microcoques a été fait.

Egalement, les fractions azotées les plus significatives ont été recherchées atteignant, à la fin de la maturation, les taux suivants : azote soluble (23 p. 100-43 p. 100 de l'azote total) ; azote non protéique (37 p. 100-43 p. 100 de l'azote soluble) ; azote ammoniacal (12 p. 100-16 p. 100 de l'azote soluble) et azote aminé (9 p. 100-13 p. 100 de l'azote soluble).

Summary

A study of the microbial flora of spanish « Ulloa » cheese has been carried out during the ripening of two batches of cheese coming from two different factories of the Galicia'region. The microbial group analysed included lactic streptococci, lactobacilli, enterococci, staphylococci and micrococci. The lactic acid bacteria and the enterococci increase strongly during the first days and they become stabilize afterwards. The staphylococci and micrococci decrease progressively during ripening.

The lactic flora is composed of *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* and *Lactobacillus plantarum*. Two species of enterococci have been identified, *Streptococcus faecalis*, var. *liquefaciens* and *Streptococcus faecium*, in ratios close to 1:1 at any stage of ripening. An attempt to classify the isolated micrococci has been made.

The evolution of the most significative nitrogen fractions has also been studied: soluble nitrogen, non proteic nitrogen, ammonium nitrogen and aminic nitrogen reach at the end of ripening process the following values: 23 p. 100, 43 p. 100 of total nitrogen and 37 p. 100-

43 p. 100, 12 p. 100-16 p. 100, 9 p. 100-13 p. 100 of soluble nitrogen respectively.

(à suivre)

Reçu pour publication en novembre 1976.

Références bibliographiques

- [1] ABD-EL-MALEK et GIBSON (T.) (1948). — *J. Dairy Res.*, 15, 233.
- [2] BAIRD-PARKER (A. C.) (1965). — *J. Gen. Microbiol.*, 38, 363.
- [3] BARIBO (L. E.) et FOSTER (E. M.) (1952). — *J. Dairy Sci.*, 35, 149.
- [4] BURGOS (J.), LOPEZ (A.) et SALA (F. J.) (1971). — *Anal. Fac. Vet. León.*, 17, 109.
- [5] CLARK (W. S.) et REINBOLD (G. W.) (1967). — *J. Milk Food Technol.*, 30, 54.
- [6] COMPAIRE (C. F.) (1966). — La fabricación de quesos en Galicia. Ed. Comité Nacional Lechero, Madrid.
- [7] DAWSON (D. J.) et FEAGAN (J. T.) (1957). — *J. Dairy Res.*, 24, 210.
- [8] DEMETER (K. J.) (1969). — *Lactobacteriologia*. Ed. Acribia, Zaragoza.
- [9] DEVOYOD (J. J.) (1969). — *Le Lait*, 49, 637.
- [10] EFTHYMIU (C. J.), BACCASH (P.), LABOMBARDI (V. J.) et EPSTEIN (D. S.) (1974). — *Appl. Microbiol.*, 28, 417.
- [11] ELLIKER (P. R.), ANDERSON (A. W.) et HANNESSON (G.) (1956). — *J. Dairy Sci.*, 39, 1611.
- [12] EVANS (A. C.) (1918). — *J. Agr. Res.*, 13, 235.
- [13] EVANS (A. C.), HASTING (E. G.) et HART (E. B.) (1914). — *J. Agr. Res.*, 2, 167.
- [14] HILL (D. A.) et THORANTON (H. R.) (1958). — *Can. J. Microbiol.*, 4, 215.
- [15] IRVINE (O. R.) et BEACH (M. E.) (1962). — *J. Dairy Sci.*, 45, 648.
- [16] JACQUET (J.) et LENOIR (J.) (1954). — *C.R. Acad. Sci.*, 238, 2201.
- [17] JENSEN (J. P.), REINBOLD (G. W.), WASHAM (C. J.) et VEDAMUTHU (E. R.) (1973). — *J. Milk Food Technol.*, 36, 613.
- [18] JENSEN (J. P.), REINBOLD (G. W.), WASHAM (C. J.) et VEDAMUTHU (E. R.) (1975). — *J. Milk Food Technol.*, 38, 3.
- [19] JENSEN (J. P.), REINBOLD (G. W.), WASHAM (C. J.) et VEDAMUTHU (E. R.) (1975). — *J. Milk Food Technol.*, 38, 78.
- [20] JENSEN (J. P.), REINBOLD (G. W.), WASHAM (C. J.) et VEDAMUTHU (E. R.) (1975). — *J. Milk Food Technol.*, 38, 142.
- [21] JOHNS (C. K.) et COLE (S. E.) (1959). — *J. Dairy Res.*, 26, 157.
- [22] KOSIKOWSKI (F. V.) (1966). — *Cheese and Fermented Milk Foods*. Ed. Edwards Brothers, Inc. Michigan.
- [23] KOSIKOWSKI (F. V.) et DAHLBERG (A. C.) (1948). — *J. Dairy Sci.*, 22, 137.
- [24] LENOIR (J.) (1962). — *C.R. Acad. Agr.*, 48, 392.
- [25] LENOIR (J.) (1963). — *Ann. Technol. (INRA)*, 12, 51.
- [26] MABBITT (L. A.) (1961). — *J. Dairy Res.*, 28, 303.
- [27] MABBITT (L. A.) et ZIELINSKA (M.) (1956). — *J. Appl. Bacteriol.*, 19, 95.
- [28] NAYLOR (J.) et SHARPE (M. E.) (1958). — *J. Dairy Res.*, 25, 92.
- [29] PERRY (K. D.) et SHARPE (M. E.) (1960). — *J. Dairy Res.*, 27, 267.

- [30] ROBERTSON (P. S.) et PERRY (K. D.) (1961). — *J. Dairy Res.*, 28, 245.
 - [31] ROGOSA (M.) et SHARPE (M. E.) (1959). — *J. Appl. Bacteriol.*, 22, 329.
 - [32] ROGOSA (M.), MITCHEL (J. A.) et WISEMAN (R. F.) (1951). — *J. Bacteriol.*, 62, 132.
 - [33] SCHMIDT (J. L.) et LENOIR (J.) (1972). — *Le Lait*, n° 518, 536.
 - [34] SHARPE (M. E.) et MATTICK (A. T. R.) (1960). — *J. Dairy Res.*, 27, 277.
 - [35] SHERMAN (J. M.) (1937). — *Bact. Rev.*, 1, 3.
 - [36] SLANETZ (L. W.) et BARTLEY (C. H.) (1957). — *J. Bacteriol.*, 74, 591.
 - [37] STADHOUDERS (J.) (1960). — *Neth. Milk Dairy J.*, 14, 83.
 - [38] THATCHER (F. S.) et CLARK (D. S.) (1968). — *Microorganisms in Food*. Ed. University of Toronto Press (Canada).
 - [39] TOURNEUR (C.) (1972). — *Le Lait*, n° 513-514, 149.
 - [40] UMBREIT (W. W.), BURRIS (R. H.) et STAUFFER (J. F.) (1964). — *Manometric Techniques*. 4a ed., Ed. Burgess Pub. Comp. Minnesota.
 - [41] WALLACE (D. L.) et HAMMOND (L. G.) (1970). — *J. Dairy Sci.*, 53, 394.
-