Études microbiologiques sur le lait et le fromage de chèvre en Sardaigne

Note II : streptocoques, lactobacilles et leuconostoc

par

F. FATICHENTI, P. DEIANA, G. A. FARRIS
et G. SOGGIA

*Institut de Microbiologie Agraire et Technique de l'Université
de Sassari*

INTRODUCTION

L'élevage de la chèvre a atteint aujourd'hui une importance plus grande que dans le passé pour une série de motifs d'ordre technique et économique ; c'est pourquoi il mérite plus de considération, non seulement dans les zones traditionnelles à relief accidenté et montagneux, mais aussi dans d'autres zones moins marginales où la chèvre peut manifester pleinement ses remarquables capacités en tant qu'animal producteur de lait.

Afin de parvenir à ce but, une restructuration des élevages et des techniques de transformation du lait s'avère nécessaire, surtout dans les zones où il n'existe pas de tradition fromagère pour la transformation du lait de chèvre. A titre d'indication on peut rappeler qu'actuellement, pour le travail du lait de chèvre en Sardaigne, on ne suit pas une technologie unique mais un schéma général dérivé directement des fromages de lait de brebis, schéma qui subit des variations liées à des traditions locales et à l'expérience personnelle de chaque berger.

Ce schéma général peut être résumé ainsi :

Le lait est filtré grossièrement à travers une toile et ensuite réchauffé à 36-38° C. La coagulation a lieu à cette température en employant la présure liquide de veau ou la présure en pâte d'agneau ou de chevreau.

Le choix de la quantité de présure à ajouter et de la température du lait est le plus souvent confié à l'empirisme du fromager.

Le temps de prise est de 15 mn environ et l'obtention d'un coagulum ferme (après la prise) exige à peu près la même durée (15 mn).

Le décaillage est conduit jusqu'à l'obtention de grains de la grosseur d'un pois.

Le caillé, constamment agité est alors réchauffé jusqu'à 40°-45° C en 7 à 10 mn alors que dans le cas des fromages à pâte cuite on chauffe entre 48° et 56° C en 25 à 30 mn. Le chauffage pratiqué ici est nettement plus faible ; il correspond à ce que l'on peut appeler une « demi-cuisson », terme que nous utiliserons par la suite.

Après 10 mn environ de repos le caillé est retourné et pressé à la main, extrait de la chaudière et mis dans des moules en bois ou en aluminium. Ces moules ont une forme tronconique très aplatie et sont de dimensions variables.

En exerçant une pression lente mais énergique des mains sur la pâte, on élimine le plus possible de lactosérum, en retournant un certain nombre de fois le fromage dans son moule.

Ensuite les fromages, toujours dans les moules, sont empilés l'un sur l'autre de manière à former des piles de quatre unités au maximum.

De temps en temps on déplace le fromage du bas d'une pile vers le haut afin d'uniformiser la pression sur tous les fromages.

Le fromage est ainsi égoutté et ressuyé pendant un temps compris entre 12 et 24 h, selon les conditions de température et d'humidité du local où il se trouve placé.

La salaison s'opère généralement en plaçant les fromages sortis des moules pendant 20 à 30 h dans une solution saturée de sel de cuisine à la température de 15° C environ ; plus rarement la salaison est effectuée en laissant les moules dans une saumure saturée pendant une nuit seulement et en saupoudrant de sel les deux faces des fromages à 48 h d'intervalle, pendant 10 j.

Parvenus à ce stade, les fromages qui pèsent en moyenne 2,5 à 2,7 kg sont placés dans les locaux d'affinage.

Le fromage mûr est de qualité acceptable s'il est consommé au bout de peu de temps mais, si on le garde plus longtemps, il a tendance à devenir plâtreux, salé et extrêmement piquant.

Pour obvier à ces inconvénients on a reconnu qu'il était nécessaire de définir, pour la Sardaigne, un plan de recherche grâce auquel on puisse obtenir des connaissances nouvelles sur la transformation du lait de chèvre et sur les aspects microbiologiques jusqu'à présent presque complètement négligés. Un tel plan devrait comporter notamment les principales étapes suivantes :

1. Etudes portant sur la flore microbienne du lait, du fromage et du lactosérum.

2. Sélection et caractérisation de souches de la microflore lactique et de souches de levures, dans le but d'obtenir des levains indigènes.

3. Essais de fabrication de fromages avec des levains formés par les ferments lactiques soit seuls, soit associés à des levures, en utilisant les technologies déjà connues ou en proposant de nouvelles, toutes devant tendre à la production de fromages à pâte molle.

Les études microbiologiques ont été commencées et, dans une première note, nous avons décrit les levures déjà isolées et identifiées [6].

Dans la présente note nous apportons les résultats de l'étude microbiologique sur les mêmes échantillons de lait, lactosérums et fromages.

Notre étude a porté plus particulièrement sur les genres *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Leuconostoc*.

MATERIEL ET METHODES

On a visité différentes localités de la Sardaigne où la production du fromage de chèvre occupe une place plus importante qu'ailleurs ; en particulier on a suivi le travail du lait dans les six zones suivantes :

Zone 1 : montagne de Fonni.

Zone 2 : colline de Guspini.

Zone 3 : fromagerie de San Gavino.

Zone 4 : plaine de Talana.

Zone 5 : montagne de Talana.

Zone 6 : colline de Trinità d'Agultu.

Au cours de la fabrication du fromage on a recueilli des échantillons de lait, de lactosérum (avant et après la demi-cuisson sauf dans la zone 6 où la demi-cuisson n'était pas employée) et de fromage âgé de 10 j.

A l'exception des échantillons de la zone 3, qui ont été prélevés dans une fromagerie coopérative, tous les autres provenaient d'élevages où le berger transforme lui-même le lait produit par son propre troupeau.

Pour les numérations microbiennes, on a pris en considération les groupes de bactéries mentionnées dans le tableau 1 où sont indiqués aussi les milieux de culture utilisés et les modalités de l'incubation. Les isolements ont été au contraire limités à la microflore lactique « sensu stricto », c'est-à-dire à la microflore se rapportant aux genres *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc*, pour lesquels on a fait l'identification de l'espèce en suivant le schéma de classement proposé par Buttiaux *et al.* [4] et par Sharpe *et al.* [15]; les tests biochimiques ont été effectués selon les méthodologies

TABLEAU 1

Milieu de culture et modalités d'incubation

Micro-organismes	Milieux	Modalité de l'incubation	
		Température (° C)	Durée (h)
Numération totale	Agar Plate count Difco	37	48
Lactobacilles	Milieu MRS [7]	32	48
Streptocoques mésophiles	Agar-sérum-caséinate [13]	30	48
Streptocoques thermophiles	Agar-sérum-caséinate [13]	45	48
Leuconostoc	Milieu de Mayeux [12]	22	96
Propioniques	Milieu P ₂ [5]	30	48
Microcoques et staphylocoques	Mannitol-Salt-Agar-Difco	37	24-48
Entérocoques	Milieu de Barnes [2]	37	48-72
Coliformes	Agar désoxycholate Difco	37	24-48
<i>Clostridia</i> (spores)	Epreuve de Weinzirl modifiée [1, 17]	37	48-72
Levures	Milieu Gyp [6]	25	72

décrites par Devoyod et Muller [8], Devoyod et Lapierre [9], Sozzi et Maret [16], Buttiaux *et al.* [4].

Les caractères étudiés, que, par souci de brièveté, on énumère ici sans tenir compte des groupes microbiens auxquels ils se réfèrent, sont les suivants : morphologie, présence de catalase, croissance à différentes températures, production de CO₂ à partir du glucose, résistance à différentes concentrations de chlorure de sodium, croissance à pH 9,6, mesure de la quantité d'acide formée, action sur le lait tournesolé, production de dextrane, production d'acétoïne, résistance à 60° C pendant 30 mn, résistance à 55° C pendant 15 mn, hydrolyse de l'esculine, comportement en présence de Teepol, production de gaz à partir du citrate ; ont été effectués également les essais de fermentation des glucides suivants : cellobiose, galactose, lactose, saccharose, maltose, tréhalose, rhamnose, mélibiose, arabinose et salicine pour le genre *Lactobacillus* ; lactose, glucose, saccharose, maltose pour le genre *Streptococcus* ; lactose, saccharose et tréhalose pour le genre *Leuconostoc*.

Pour vérifier la production d'ammoniac à partir de l'arginine on a utilisé la méthodologie décrite par Rogosa *et al.* [14].

La détermination du nombre de spores de *Clostridia* a été effectuée selon Weinzirl [17] en utilisant les tables de Mc Crady avec cinq tubes par dilution.

Toutes les souches isolées et purifiées ont été conservées sur lait tournesolé avant d'être soumises aux tests d'identification. Les streptocoques ont été isolés sur gélose au caseinate et lactosérum [13] et sur milieu MRS [7] la plupart des lactobacilles sur MRS ; les leuconostoc surtout sur le milieu de Mayeux *et al.* [12].

RESULTATS ET DISCUSSION

A l'âge de 10 j les fromages produits dans les six fromageries, pouvaient être considérés comme étant de qualité acceptable, exception faite pour les F3 et F5 qui présentaient un gonflement précoce. Cependant, avec le temps, les fromages ont présenté (comme on le constate malheureusement bien souvent) des caractères indésirables, tels que texture plâtreuse, lainures, crevasses et gerçures des fromages et goût trop piquant.

Les résultats des numérations concernant la microflore présente dans les différents échantillons de lait, de lactosérum et de fromage âgé de 10 j sont rapportés dans les tableaux 2 et 3.

Dans le tableau 4 on mentionne les résultats concernant l'identification de toutes les souches de lactobacilles, streptocoques et leuconostoc isolées.

A. Microflore du lait

Tous les laits utilisés pour la production expérimentale de fromage de chèvre apparaissent comme notablement pollués, qu'il s'agisse des laits crus (L1-L2-L4-L5-L6), ou du lait ayant subi une pasteurisation (L3) dans un pasteurisateur à plaques à la température de 68° C pendant environ 15 s. Dans ce dernier lait, les streptocoques mésophiles, les entérocoques et les coliformes sont en plus petit nombre bien que la flore totale atteigne encore un chiffre élevé. Tous les autres groupes restent présents et ils le sont à peu près dans le même rapport que dans les laits crus.

La microflore totale est très élevée de même que les coliformes ; la microflore lactique est représentée par les lactobacilles, les streptocoques thermophiles et mésophiles.

Les streptocoques, surtout les mésophiles, atteignent des valeurs particulièrement élevées dans tous les laits. Pour L1 cette valeur dépasse le milliard de cellules par ml. Au contraire, le nombre de lactobacilles est relativement plus réduit. De plus le milieu MRS, employé habituellement pour dénombrer les lactobacilles s'est révélé, dans notre cas, peu sélectif ; l'observation au microscope des mi-

crobes prélevés sur les colonies développées sur la gélose a montré qu'il y avait à côté des lactobacilles un pourcentage notable de streptocoques lactiques.

Leuconostoc et entérocoques sont également présents en nombre limité.

Les propioniques au contraire ont été trouvés en nombre élevé dans tous les laits examinés, sauf dans les échantillons L1 et L3 ; comme indiqué plus haut, ce dernier avait subi un traitement thermique.

Les coliformes étaient présents dans tous les échantillons de lait en nombre élevé ; on sait qu'ils reflètent une hygiène défectueuse dans les conditions de production du lait.

Les microcoques et staphylocoques sont présents dans tous les échantillons ; leur nombre avoisine en moyenne 200 000 cellules par ml.

Les spores de *Clostridia* ont été trouvées seulement dans le lait L3 ; les levures, enfin, étaient présentes dans tous les laits examinés excepté L1.

B. Composition de la microflore des lactosérums

Les lactosérums ont été examinés avant (Sa) et après (Sb) la demi-cuisson du caillé.

En général le nombre des micro-organismes chez les échantillons Sa est égal ou un peu inférieur à celui des laits de départ ; de même dans les Sb, la microflore s'est maintenue à des valeurs analogues à celle des laits ; dans quelques cas ces valeurs ont été dépassées.

On a notamment trouvé en nombre élevé les streptocoques, les propioniques, les leuconostoc, les entérocoques, les microcoques et staphylocoques.

Au contraire, les lactobacilles, les coliformes et les levures sont en plus petit nombre que dans le lait.

Les spores de *Clostridia*, enfin, ont été trouvées seulement dans les lactosérums provenant de la localité 3.

C. Microflore des fromages

Dans les fromages âgés de 10 j la microflore totale s'est révélée toujours très nombreuse, atteignant quelques milliards par g. En ce qui concerne la microflore lactique, les lactobacilles ont été présents en nombre plus élevé que dans le lait et dans le lactosérum, atteignant 200 millions/g dans le fromage F3.

Le nombre des streptocoques est très élevé, allant pour les mésophiles d'un minimum de 4.10^7 pour l'échantillon F6 à un maximum

TABLEAU 2. — Nombre et catégories de micro-organismes trouvés dans le lait, le lactosérum et le fromage de chèvre

Catégorie de micro-organismes	Localité de provenance et échantillons examinés																						
	1				2				3				4				5				6		
	L1	Sa1	Sb1	F1	L2	Sa2	Sb2	F2	L3	Sa3	Sb3	F3	L4	Sa4	Sb4	F4	L5	Sa5	Sb5	F5	L6	Sa6	F6
Nombre total de germes	5500 000	5000 000	1500 000	50 000	10 000	2 000	10 000	900 000	7 000	200	30 000	800 000	300	3 000	100	4700 000	10 000	10 000	300 000	1400 000	120 000	40 000	200 000
Lactobacilles	1900	2300	1100	50 000	8 000	3 000	5 000	11 000	500	100	10 000	200 000	1 000	1 000	3 000	25 000	10 000	200	1 000	32 000	800	14 000	20 000
Streptocoques thermophiles	100	2 000	2 000	3 000	80	20	130	330 000	100	30	5 000	410 000	9900	1 100	10 000	1 000	6 800	20 000	30 000	850 000	8	100	80
Streptocoques mésophiles	1700 000	1 000 000	700 000	450 000	14 000	5 000	8 000	690 000	70	4 000	80 000	800 000	51 000	70 000	120 000	4 500 000	100 000	140 000	19 000	2300 000	10 000	1 000 000	40 000
Leuconostoc	800	2 000	800	9 600	2 500	3 000	4 000	1 000	200	2	2 000	800	100	600	820	80 000	200	40	22	60 000	0,7	170	800

Légende : les chiffres (à multiplier par 10³) indiquent le nombre de micro-organismes par ml de lait ou de lactosérum et par gramme de fromage.

L Lait. Sa Sérum avant la demi-cuisson. Sb Sérum après la demi-cuisson. F Fromage âgé de 10 j.

TABLEAU 3. — Nombre et catégories de micro-organismes trouvés dans le lait, le lactosérum et le fromage de chèvre

Catégorie de micro-organismes	Localité de provenance et échantillons examinés																						
	1				2				3				4				5				6		
	L1	Sa1	Sb1	F1	L2	Sa2	Sb2	F2	L3	Sa3	Sb3	F3	L4	Sa4	Sb4	F4	L5	Sa5	Sb5	F5	L6	Sa6	F6
Entérocoques	100	100	10	1000	10	1	1	1000	1	10	100	10000	1	1	1	1000	1000	10	100	1000	100	1000	1000
Microcoques et staphylocoques	140	2	60	2000	100	42	10	300	300	20	60	20	300	230	230	400	50	50	4500	6300	28	130	400
Propioniques	1	0,9	60	3	800	660	700	3000	7	9,5	1000	7000	14000	2000	12000	100	28000	14000	32000	10000	25000	30000	0,5
Coliformes	100	150	100	14	100	10	100	900	4	18	3500	24000	20	2	20	6	800	300	8500	20000	3500	10000	2
<i>Clostridia</i> (spores)	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	0,0078	0,0045	0,0045	0,0045	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent
Levures	absent	0,2	0,4	240	30	10	10	2,2	40	0,1	82	200	0,6	0,2	1,6	400	0,02	20	12	4000	10	620	200

Légende : les chiffres (à multiplier par 10³) indiquent le nombre de micro-organismes par ml de lait ou de lactosérum et par gramme de fromage.

L Lait. Sa Sérum avant la demi-cuisson. Sb Sérum après la demi-cuisson. F Fromage âgé de 10 j.

TABLEAU 4. — Récapitulation des souches et espèces isolées

Espèces isolées	Localité de provenance et échantillons examinés																						Total des souches isolées		
	1				2				3				4				5				6				
	L1	Sa1	Sb1	F1	L2	Sa2	Sb2	F2	L3	Sa3	Sb3	F3	L4	Sa4	Sb4	F4	L5	Sa5	Sb5	F5	L6	Sa6		F6	
<i>Streptococcus</i>																									
<i>Str. faecalis</i>	1	6	2	2	7	2			3	8	3	1	2	1	3	1	2		4	2	6	4	5	65	
<i>Str. faecalis</i> var. <i>liquef.</i>											1	1												2	
<i>Str. faecium</i>		3	4	10						1	1		5	1	5			3		2				35	
<i>Str. durans</i>	3					2	3		1			1					1		2		1			14	
<i>Str. lactis</i>	12	14	13		6	5	7	4	13	2	8	7	13	9	14	12	8	11	8	6	2	14	3	191	
<i>Str. cremoris</i>	1	3	1				1		1					1	1	1		1			3			14	
<i>Str. thermophilus</i>				1		1		6	3	7	4	10	3		1	2			2	8			2	50	
<i>Lactobacillus</i>																									
<i>L. bulgaricus</i>		1		3						1		1				1				1				8	
<i>L. lactis</i>												1												1	
<i>L. casei</i> var. <i>casei</i>			1	1	1		4	8				6				2				1		4		28	
<i>Leuconostoc</i>																									
<i>Leuc. lactis</i> (Kefir)	1		2						1	4							3	8			7			26	
<i>Leuc. dextranicum</i>	4	1							2					1		1					3	1	4	17	
<i>Leuc. mesenteroides</i>		2	2	4	4	5	5	4	4	2	6	5	6	2	8	2	3		4	4		2	1	75	
																								526	
Légende :	L	Lait.			Sa	Sérum avant la demi-cuisson.			Sb	Sérum après la demi-cuisson.							F	Fromage âgé de 10 j.							

Légende :

L Lait.

Sa Sérum avant la demi-cuisson.

Sb Sérum après la demi-cuisson.

F Fromage âgé de 10 j.

de $4,5.10^9$ pour l'échantillon F4 et pour les thermophiles d'un minimum de 8.10^4 dans le cas de F6 à un maximum de $8,5.10^8$ pour F5.

Les leuconostoc, qui avaient été trouvés en nombre limité dans les laits et les lactosérums, sont au contraire nombreux dans tous les échantillons examinés et ils sont représentés notamment par les espèces productrices de dextrane à partir du saccharose.

Les entérocoques sont également nombreux, dépassant dans tous les échantillons le million de cellules par gramme.

Microcoques et staphylocoques ont également été trouvés en assez grand nombre dans tous les échantillons, généralement en nombre supérieur à ceux trouvés dans les laits et dans les lactosérums.

Les coliformes étaient également présents dans tous les fromages examinés. Dans les échantillons F3 et F5 leur nombre était plus élevé que dans les autres échantillons et les fromages F3 et F5 ont présenté l'aspect typique du gonflement précoce.

Au contraire on a observé que les propioniques étaient souvent plus nombreux dans les laits et dans les lactosérums que dans les fromages.

A ce propos on doit souligner que les propioniques sont généralement bien représentés dans les fromages de brebis où, probablement, ils jouent un rôle non négligeable dans la maturation et la production de l'arôme.

Les spores des *Clostridia* étaient présentes seulement dans le fromage F3 tandis que les levures ont été trouvées dans tous les échantillons.

Enfin on peut remarquer que le nombre total de germes est, dans quelques cas (tab. 2 et 3), inférieur à celui de certains groupes microbiens (à celui des streptocoques mésophiles notamment). Cette différence peut être due à une meilleure croissance des groupes microbiens en question sur des milieux spécialement étudiés pour eux.

Mais il est également possible que la température d'incubation de 37°C , que nous avons retenue pour la numération totale, soit trop élevée pour permettre le développement du nombre maximum de germes. Une température d'incubation de 30°C (qui est celle adoptée pour les streptocoques mésophiles) aurait sans doute donné un nombre total de germes plus élevé.

D. Isolement et identification des espèces microbiennes le plus souvent présentes

Parmi tous les échantillons examinés on a isolé 526 souches. Le tableau 4 indique les espèces isolées et identifiées et la distribution

des différentes espèces microbiennes dans les laits, dans les lactosérums et dans les fromages.

Ces souches appartiennent à 7 espèces de *Streptococcus*, à 4 de *Lactobacillus* et à 3 de *Leuconostoc*.

Genre Streptococcus : l'espèce microbienne la plus largement représentée est *Str. lactis* (191 souches), isolée de 22 échantillons sur 23 ; ensuite on trouve *Str. faecalis* (65 souches) et *Str. thermophilus* (50 souches) ; ce dernier a été isolé surtout à partir des fromages.

Dans la localité 3 *Str. thermophilus* est également présent dans les laits et les lactosérums ; ceci doit probablement être attribué à un effet sélectif du traitement thermique subi par le lait.

On a trouvé 35 souches de *Str. faecium* sur 10 échantillons et on a isolé un nombre équivalent de souches de *Str. cremoris*. Les formes les moins représentées sont *Str. durans* et *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, qui est présent seulement dans les échantillons Sb3 et F3.

Genre Lactobacillus : parmi les formes en bâtonnet, *L. casei* var. *casei* est celui le plus fréquemment trouvé ; il est présent dans 9 échantillons sur 23 ; *L. bulgaricus* a été isolé de 6 échantillons seulement, tandis que *L. lactis* a été isolé seulement du fromage F3. Toutes les espèces de lactobacilles isolées sont homofermentaires et proviennent, pour la plupart, des échantillons de fromages âgés de 10 j.

Genre Leuconostoc : parmi les cocci hétérofermentaires l'espèce la plus représentée est *Leuc. mesenteroides*, présent dans 20 échantillons sur 23 au total ; les espèces *Leuc. dextranicum* et *Leuc. lactis* (*kefir*) sont moins fréquentes.

CONCLUSION

Pour le fromage sarde préparé avec du lait de chèvre, l'intérêt de disposer d'une production typique, aux caractères organoleptiques constants et où les défauts de goût ou de texture de la pâte se trouvent réduits à un minimum, est indubitable.

La qualité défectueuse des produits obtenus dans les six fromageries situées dans des localités de la Sardaigne éloignées les unes des autres, produits préparés selon la technologie traditionnelle, montre la nécessité de mettre sur pied une production de fromages à pâte molle qui puisse trouver un accueil favorable de la part du consommateur.

Dans ce but nous avons étudié la microflore du lait car il représente la source de la microflore naturelle ; la microflore du lactosérum, en vue de son utilisation éventuelle pour la préparation des

levains ; et enfin la microflore des fromages, car ils représentent la flore responsable de la maturation.

Les numérations microbiennes effectuées sur tous les échantillons ont mis en évidence que, pendant la saison de production des fromages, on a dans ces produits une microflore très abondante et hétérogène.

Cette microflore est représentée par des groupes utiles pour la transformation du lait mais aussi par des groupes de micro-organismes nuisibles pour l'obtention d'un fromage de bonne qualité.

On a observé en effet la présence de trop nombreux coliformes, staphylocoques, clostridia, entérocoques etc. ; la pasteurisation effectuée dans la fromagerie de la zone 3 ne semble pas avoir réussi à réduire le nombre de ces germes indésirables à un niveau acceptable.

Si l'on tient compte que certains des laits examinés venaient d'être traités (L2, L3, L4, L5) alors que d'autres (L1, L6) avaient été traités depuis un certain temps, on peut admettre que la flore microbienne de ces laits était en nombre trop élevé pour qu'une transformation rationnelle en fromage soit réalisable. Une amélioration des conditions de production du lait et un traitement thermique adéquat de celui-ci paraissent indispensables.

Naturellement cette situation entraîne aussi la nécessité d'utiliser des levains qui, selon le cas, devront contenir de préférence telle ou telle souche choisie parmi celles appartenant aux espèces les plus largement représentées en fonction des caractéristiques biochimiques du produit à obtenir.

Dans l'hypothèse où l'on chercherait à produire des fromages à pâte molle à partir de lait de chèvre, il serait sans doute opportun d'utiliser un levain mixte, constitué en majeure partie par des streptocoques, plus particulièrement *Str. lactis*, *Str. thermophilus* et *Str. cremoris* et, dans une proportion plus faible, par des lactobacilles tels que *L. casei* var. *casei* et *L. bulgaricus*. Dans un deuxième temps, on pourra envisager l'emploi de souches de micro-organismes aromatisants du genre *Leuconostoc*.

En ce qui concerne ces derniers, en particulier ceux qui sont producteurs de dextrane, présents en grand nombre dans nos échantillons, il conviendrait de mieux vérifier leur rôle dans la maturation et dans l'obtention des caractères typiques des fromages.

A cet effet ils seront soumis, comme toute la microflore lactique, à des examens plus approfondis en tenant particulièrement compte de leur aptitude fromagère.

Dans la même optique, il conviendrait de mieux étudier les souches de *Str. faecium* et *Str. faecalis*, trouvés très fréquemment en assez grand nombre ; en effet ces espèces semblent acquérir un rôle toujours plus déterminant pour la normalisation de quelques produits fromagers italiens ; par exemple quelques souches de *Str.*

faecium ont déjà été utilisées en culture associée dans la fabrication du Fiore Sardo [3].

L'apport des levures en général, que l'on a seulement mentionné ici car il a déjà été étudié dans une autre note [6], ne doit pas être négligé. *Debaryomyces hansenii* en particulier a été utilisé par nous dans un levain mixte pour la transformation du lait de chèvre en fromage dans le but d'obtenir des fromages à courte maturation destinés à être consommés rapidement ensuite (10).

En définitive, les résultats de la recherche ci-dessus décrite montrent que les levains devraient être constitués par un mélange d'espèces microbiennes, dans un rapport tenant compte, soit de leur distribution dans la nature, soit de leur capacité à réaliser les transformations enzymatiques reconnues nécessaires pour conserver et faire ressortir les caractères typiques mais convenablement normalisés du fromage.

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos remerciements à Mme le Professeur S. Carini pour l'aide et les précieux conseils qu'elle nous a apportés lors de la rédaction de cette publication et à M. le professeur G. Mocquot pour ses suggestions et encouragements ainsi que pour avoir révisé le manuscrit. Nous remercions également Luisanna Lecis et Pinuccia Oggiano pour leur assistance technique.

Résumé

On a examiné des échantillons de lait, de lactosérum et de fromage de chèvre provenant de différentes zones de la Sardaigne.

Les numérations microbiennes ont mis en évidence une microflore naturelle très hétérogène qui comprend soit des groupes représentant un intérêt pour la transformation du lait, soit des groupes de micro-organismes nuisibles pour la fabrication du fromage.

Dans les genres *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Leuconostoc* on a isolé 526 souches de micro-organismes appartenant aux espèces suivantes :

Str. faecalis, *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, *Str. faecium*, *Str. durans*, *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. casei* var. *casei*, *Leuc. lactis* (ou kefir), *Leuc. dextranicum*, *Leuc. mesenteroides*.

L'ensemble des résultats obtenus montre que dans l'état actuel des choses, pour mieux transformer le lait, il est nécessaire de le soumettre à un traitement thermique adéquat et d'utiliser des levains constitués par un mélange d'espèces microbiennes dans un rapport qui tienne compte à la fois de leur distribution naturelle et de leurs caractéristiques biochimiques.

Summary

Goat's milk, whey and cheese samples, originating from different zones of Sardinia have been examined.

The microbial counts have shown a very heterogenous natural microflora including some groups of microorganisms which can be considered as beneficial from the stand point of milk processing, but also some groups of microorganisms which can be considered as detrimental for cheese production.

526 strains of microorganisms have been isolated which belong to the following genera *Streptococcus*, *Lactobacillus* and *Leuconostoc* and to the following species : *Str. faecalis*, *Str. faecalis* var. *liquefaciens*, *Str. faecium*, *Str. durans*, *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. casei* var. *casei*, *Leuc. lactis* (or *kefir*), *Leuc. dextranicum*, *Leuc. mesenteroides*.

On the whole the results obtained so far show that, in the present conditions, in order to improve milk processing, it is necessary to submit the milk to an adequate heat treatment and to use lactic starters composed of a mixture of microbial species in a ratio that does correspond both to their distribution in nature and to their biochemical characteristics.

Bibliographie

- [1] ANNIBALDI (S.) (1969). — Modificazione della prova di Weinzierl per la ricerca dei clostridi butirrici nel latte. *Sc. e tecn. Latt. cas.*, 20, 75-79.
- [2] BARNES (E. M.) (1956). — Tetrazolium reduction as a means of differentiating *Streptococcus faecalis* from *Streptococcus faecium*. *J. gen. Microbiol.*, 14, 57-68.
- [3] BOTTAZZI (V.), ARRIZZA (S.), LEDDA (A.) (1978). — Impiego di colture di fermenti lattici nella produzione del Fiore Sardo. *Sc. e tecn. latt. cas.*, 29, 160-168.
- [4] BUTTIAUX (R.), BEERENS (H.), TACQUET (A.) (1975). — Tecniche batteriologiche. Soc. Editrice Demi-Roma.
- [5] CARINI (S.), CASADEI (S.) (1970). — Contributo alla conoscenza della respirazione dei metabolismi ossidativi nei propionici, *Sc. e tecn. latt. cas.*, 21, 365-378.
- [6] DEIANA (P.), FATICHENTI (F.), FARRIS (G. A.) (1977). — Indagini microbiologiche sul latte e sul formaggio di capra in Sardegna. Nota I: lieviti. *Industria del latte*, 13, 49-56.
- [7] DE MAN (J. C.), ROGOSA (M.), SHARPE (M. E.) (1960). — A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bact.*, 23, 130-135.
- [8] DEVOYOD (J. J.), MULLER (M.) (1969). — La flore microbienne du fromage de Roquefort. III. Les streptocoques lactiques et les leuconostoc. Influence de différents micro-organismes de contamination. *Le Lait*, 49, 369-399.

- [9] DEVOYOD (J. J.), LAPIERRE (M. J.) (1970). — La flore microbienne du fromage de Roquefort. V. Les lactobacilles. *Le Lait*, 50, 277-284.
 - [10] FATICHENTI (F.), DEIANA (P.), FARRIS (G. A.) CAMPUS (R.), CARINI (S.), TODESCO (R.) (1979). — Utilizzazione di starter misti di fermenti lattici e di lieviti in una nuova tecnologia di produzione di formaggio di capra (en cours de publication).
 - [11] FATICHENTI (F.), FARRIS (G. A.), DEIANA (P.) (1977). L'evoluzione della microflora blastomicetica nel «Fiore Sardo». *Industria del latte*, 13, 11-18.
 - [12] MAYEUX (J. V.), SANDINE (W. E.), ELLIKER (P. R.) (1962). — A selected medium for detecting leuconostoc organisms in mixed strains starter cultures. *J. Dairy sc.*, 45, 655-656.
 - [13] OTTOGALLI (G.), GALLI (A.) (1967). — Ricerche sui fermenti lattici della specie *Streptococcus thermophilus*. Nota IV. *Annali di Microbiol. ed Enzimologia*, 17, 135-146.
 - [14] ROGOSA (M.), SHARPE (M. E.) (1959). — An approach to the classification of the lactobacilli. *Appl. Bact.*, 22, 329-340.
 - [15] SHARPE (M. E.), FRIER (T. F.), SMITH (D. G.) (1966). — Identification methods for microbiologists. Edited by B.M. Gibbs and F.A. Skinner, Part A - Academic Press London, New York.
 - [16] SOZZI (T.), MARET (R.) (1973). — Etude sur la microflore lactique du fromage « Vacherin Mont-d'Or ». *Le Lait*, 53, 280-294.
 - [17] WEINZIRL (J.) (1916). — A simple test for *B. sporogenes* in milk and water. *Zentr. Bakt. Parasit.*, 45, 392. Voir ANNIBALDI (S.) (1969) op. cit.
-