



HAL
open science

La flore microbienne du fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru. I. - TECHNIQUES D'ETUDES ET RESULTATS PRELIMINAIRES

Liliane Millet, Dominique Melcion, J.J. Devoyod

► **To cite this version:**

Liliane Millet, Dominique Melcion, J.J. Devoyod. La flore microbienne du fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru. I. - TECHNIQUES D'ETUDES ET RESULTATS PRELIMINAIRES. *Le Lait*, 1974, 54 (537), pp.397-407. hal-00928657

HAL Id: hal-00928657

<https://hal.science/hal-00928657>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La flore microbienne du fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru

I. — TECHNIQUES D'ETUDES ET RESULTATS PRELIMINAIRES

par

Liliane MILLET*, Dominique MELCION**
et J. J. DEVOYOD*

INTRODUCTION

On distingue généralement trois types de fabrication du fromage de Cantal, la fabrication fermière, la fabrication laitière et la fabrication industrielle. En fabrication « fermière », le lait cru est emprésuré « chaud » aussitôt après la traite, sans addition de levains ; en fabrication « laitière », le fromage est également fabriqué à partir de lait cru, sans addition de levains, mais à partir de lait qui a été collecté dans les fermes et amené à la fromagerie ; dans la fabrication « industrielle » le lait est thermisé et des levains lactiques commerciaux sont utilisés.

Lorsque le Cantal est fabriqué à partir de lait cru, la qualité du produit fini est très variable, elle dépend entre autres des variations de composition du lait et des variations des constituants de la flore microbienne du lait. Il est bien connu qu'en général les meilleurs fromages de Cantal sont ceux qui ont été fabriqués à partir des laits récoltés en été et à partir des laits récoltés en début d'automne (période de regain).

Les renseignements que nous possédons sur les principaux micro-organismes qui constituent la flore microbienne du fromage de Cantal sont très fragmentaires. Les quelques analyses qui ont été faites antérieurement concernaient la flore des laits de fabrication, flore totale et bactéries coliformes principalement (Larroumets, 1968) et la flore de fromages laitiers et fermiers âgés de 7 semaines : flore totale, bactéries coliformes et levures (Tison, 1962).

* Laboratoire de Recherches Fromagères (I.N.R.A.) - 15000 Aurillac.

** Laboratoire de Bactériologie laitière (I.N.R.A.) - 78350 Jouy-en-Josas.

Si l'on veut pouvoir pallier aux variations saisonnières de qualité, en ajoutant par exemple à bon escient certains micro-organismes au lait, lorsqu'ils font défaut il est nécessaire de mieux connaître la flore microbienne du fromage de Cantal. De plus une part importante des fromages est actuellement commercialisée sous forme de portions, or le fait d'emballer sous film un produit dont on ignore les micro-organismes qu'il renferme, présente un risque certain. Pour toutes ces raisons, il nous a paru intéressant d'entreprendre une étude sur la flore microbienne du fromage de Cantal.

Dans le présent article, nous indiquons les méthodes utilisées et nous présentons les résultats préliminaires des analyses bactériologiques effectuées sur des fromages de Cantal fabriqués à partir de lait cru, sans addition de levains.

MATERIEL ET METHODES

A) ECHANTILLONS

Les échantillons de fromage étaient prélevés aseptiquement en deux temps, à l'aide de deux sondes :

a) Avec une sonde de 16 mm de diamètre : on prélevait une carotte de 1 à 2 cm de haut (qui servait à reboucher le trou effectué).

b) Avec une sonde de 13 mm de diamètre : on prélevait un échantillon de fromage dans l'orifice ainsi préparé.

Cette technique permet d'une part, d'éviter d'entraîner la flore superficielle vers le centre du fromage au cours du prélèvement, d'autre part d'effectuer les prélèvements dans de bonnes conditions d'asepsie.

B) EXAMENS BACTERIOLOGIQUES

1) Préparation des dilutions

10 g de fromage étaient mis en suspension dans 90 ml d'une solution de citrate de sodium à 2 p.100. Des dilutions décimales étaient faites ensuite dans la même solution stérile de citrate.

2) Dénombrement des micro-organismes - Identification sommaire

a) *Flore totale mésophile* : les micro-organismes constituant la flore totale mésophile étaient dénombrés sur gélose nutritive (Plate Count Agar Difco n° 479) additionnée de pourpre de bromocrésol (concentration finale 0,2 p. 1000) après incubation des boîtes de

Pétri pendant 72 h à 30° C. La présence de l'indicateur coloré permettait d'apprécier le nombre de micro-organismes acidifiants.

b) *Bactéries coliformes* : Les bactéries coliformes étaient dénombrées soit sur gélose au désoxycholate de sodium (Désoxycholate Agar Difco n° 420) soit sur gélose au rouge neutre et violet cristal (Violet Red Bile Agar Difco n° 12) après incubation des boîtes de Pétri pendant 18 à 24 h à 37° C. En vue d'identification ultérieure, 5 à 15 colonies (nombre correspondant à la racine carrée du nombre de colonies développées sur le milieu) étaient prélevées et repiquées sur milieu de Kligler (B.D. Mérieux).

c) *Escherichia coli* : les *Escherichia coli* étaient dénombrés soit sur gélose au désoxycholate (Désoxycholate Agar Difco n° 420), soit sur gélose au rouge neutre et violet cristal (Violet Red Bile Agar Difco n° 12) après incubation des boîtes de Pétri pendant 18 à 24 h à 44° C. Pour confirmation, des colonies étaient prélevées et repiquées sur milieu Kligler, en cas de doute on ensemait une série de cupules d'identification (API système).

d) *Staphylocoques à coagulase positive* : les staphylocoques à coagulase positive étaient dénombrés sur milieux ETGPA de Baird-Parker (1962) après incubation des boîtes de Pétri pendant 24 h à 37° C. Si au bout de 24 h aucun développement ne s'était produit ou si l'on observait seulement des colonies atypiques, on incubait 24 h supplémentaires à 37° C. Si les colonies s'étaient développées on en soumettait trois au moins à l'épreuve de la catalase ; si cette épreuve était positive, on soumettait la colonie correspondante à l'épreuve de la coagulase.

La recherche des staphylocoques à coagulase positive, a été également faite en effectuant un enrichissement sur le bouillon de Giolitti et Cantoni (1966) en particulier dans le cas de la recherche des staphylocoques dans 1 g de fromage. 30 ml de la suspension de fromage étaient amenés à pH 7 avec la soude N stérile. Chacune des trois portions de 10 ml de cette suspension neutralisée (10 ml représentant 1 g de fromage) était inoculée dans 10 ml de milieu de Giolitti et Cantoni à double concentration. Après avoir bien mélangé l'inoculum avec le milieu régénéré en évitant toute introduction d'air, on coulait dessus un bouchon de gélose fondue à 2 p. 100 et on laissait solidifier. Après incubation pendant 24 h à 37° C, les tubes qui présentaient un noircissement ou un précipité noirâtre étaient repris et on étalait à la surface d'une boîte renfermant le milieu ETGPA de Baird-Parker environ 0,001 ml de la culture. Les boîtes étaient incubées pendant 24 h à 37° C, et l'on opérait ensuite comme dans le cas du dénombrement direct sur milieu ETGPA. On concluait à la présence de staphylocoques à coagulase positive dans 1 g de l'échantillon de fromage lorsqu'un tube d'enrichissement au moins sur les trois renfermait des staphylocoques à coagulase positive.

e) *Microcoques et staphylocoques* : les microcoques et staphylocoques étaient dénombrés sur milieu de Chapman (Mannitol Salt Agar Difco n° 30) après incubation de 48 h à 37° C. On effectuait ensuite un prélèvement de 5 à 15 colonies que l'on repiquait dans un bouillon nutritif. On séparait les souches de microcoques de celles des staphylocoques par l'épreuve de production d'acide en anaérobiose à partir du glucose : des tubes de gélose nutritive (Plate Count Agar Difco n° 479), additionnée de pourpre de bromocrésol à 0,2 p. 1000 (concentration finale) étaient maintenus à l'ébullition pendant 20 mn, puis refroidis à 47° C. Après ensemencement, le contenu des tubes était transvasé dans des tubes stériles de 8 x 400 mm (Raibaud et al., 1966), puis mis à incuber à 37° C, le changement de coloration éventuel de l'indicateur était examiné après 24 h et 48 h d'incubation.

Pour l'identification ultérieure des souches de microcoques et de staphylocoques nous avons utilisé la classification de Baird-Parker et les techniques préconisées par cet auteur (Baird-Parker, 1963 et 1965).

f) *Bactéries lactiques* :

— Les streptocoques lactiques étaient dénombrés sur le milieu de Turner et al. (1962) après incubation des boîtes de Pétri pendant 48 h à 30° C. Sur ce milieu on peut différencier les colonies de *Streptococcus lactis*, qui sont rouge foncé, des colonies de *Streptococcus cremoris* qui sont blanches ou légèrement rosées. En vue d'une identification plus complète, 5 à 15 souches de streptocoques lactiques étaient repiquées sur lait tournesolé et l'on effectuait ensuite les épreuves suivantes : production d'acide à partir du maltose, croissance en présence de 4 p. 100 de chlorure de sodium, production d'acétoïne et production d'ammoniaque à partir d'arginine (les méthodes utilisées ont été décrites antérieurement : Devoyod et Muller, 1969).

— Les *Leuconostoc* étaient dénombrés sur le milieu de Mayeux et al. (1962) après incubation de 72 h à 22° C. Sur ce milieu on peut différencier les *Leuconostoc* producteurs de dextrane : *L. mesenteroides* et *L. dextranicum* qui donnent des colonies larges et gluantes de *L. cremoris* et *L. lactis* qui forment de petites colonies blanches à bleutées. Pour ces dernières colonies, un examen microscopique de confirmation était nécessaire car certaines levures étaient capables de se développer sur le milieu de Mayeux en donnant des colonies d'aspect bleuté.

Pour une identification plus complète, 5 à 15 souches de *Leuconostoc* étaient repiquées dans le bouillon MRS (de Man et al., 1960) et l'on étudiait les caractères biochimiques suivants : croissance à 37° C, production de CO₂ à partir du glucose, production de diacétyle, production d'acide à partir de l'arabinose, du xylose, de la

salicine, du saccharose, du melibiose, du lactose et du tréhalose ainsi que la production de CO₂ dans le lait (les méthodes utilisées ont été décrites antérieurement : Devoyod et Muller, 1969).

— Les lactobacilles, auxquels nous nous sommes intéressés plus particulièrement, appartiennent à deux groupes distincts ; les streptobactéries ou lactobacilles mésophiles et les betabactéries ou lactobacilles hétérofermentaires.

Les lactobacilles mésophiles étaient dénombrés sur milieu MRS (de Man et *al.*, 1960) acidifié à pH 5,6. Les milieuxensemencés étaient incubés pendant 48 h à 30° C dans des tubes de 8 × 400 mm (Raibaud et *al.*, 1966). Pour identifier ces lactobacilles, on repiquait les colonies sur bouillon MRS et après incubation pendant 24 h à 30° C on étudiait les caractères biochimiques suivants : croissance à 15° C et 45° C, production d'acide à partir de l'arabinose, du lactose, du melibiose, du raffinose, du rhamnose, du sucrose et du xylose. Les besoins nutritionnels ont été également étudiés ; on cultivait les souches isolées sur milieu de Pollack et Lindner (1943) (besoin nutritif en peptides) et sur milieu utilisé pour la recherche de l'acide folique (Folic Acid Assay Medium Difco n° 318).

Les lactobacilles hétérofermentaires étaient dénombrés après incubation pendant 48 h à 30° C sur bouillon MRS, additionné de chlorhydrate d'arginine et acidifié à pH 4,7 ; on utilisait des cloches de Durham pour mettre en évidence la production de gaz, et le réactif de Nessler pour mettre en évidence la production d'ammoniaque. Chaque dilution décimale de suspension de fromage servait à ensemencer trois tubes de milieu et l'on calculait le nombre le plus probable en utilisant la table de Mac Crady. Un examen microscopique était nécessaire pour confirmer la présence des lactobacilles dans les tubes positifs (présence de gaz) car lorsque les *Leuconostoc* étaient en grand nombre, ils étaient susceptibles de se développer dans le bouillon MRS acidifié en produisant du gaz.

Pour identifier les espèces de lactobacilles hétérofermentaires on utilisait les épreuves de croissance à 15° C et 45° C, de production d'acide à partir de l'arabinose, du cellobiose, du melezitose, du melibiose, du raffinose, du trehalose, du xylose et du maltose (les méthodes utilisées ont été décrites antérieurement : Devoyod, 1970 ; Devoyod et Desmazeaud, 1971). On a utilisé également les galeries API d'identification (galeries API *Lactobacillus*).

— Les entérocoques étaient dénombrés sur le milieu de Kenner (KF *Streptococcus* Agar Difco n° 496) après incubation des boîtes de Pétri pendant 48 h à 37° C. Sur ce milieu on peut distinguer *Streptococcus faecalis* et ses variétés qui donnent des colonies de couleur lie de vin des autres entérocoques *Str. durans*, *Str. faecium*, etc. qui donnent des colonies rosées.

En vue d'une identification plus complète on repiquait 5 à 15 colonies sur le milieu de Barnes (1956) et l'on étudiait les caractères

biochimiques suivants : croissance à 10° C, 45° C et 50° C, liquéfaction de la gélatine, réduction du TTC, production d'acide à partir du mannitol, de l'arabinose, du melibiose et du mélézitose (les méthodes utilisées ont été décrites antérieurement : Devoyod, 1969).

g) *Levures et moisissures* : les levures et moisissures étaient dénombrées sur gélose à l'extrait de pomme de terre (Potato Dextrose Agar Difco n° 43) ajustée à pH 3,5 avec de l'acide tartrique. Dans un premier stade d'identification on séparait les levures fermentant le lactose des autres types de levure, pour cela les souches de levures étaient cultivées sur un lactosérum de fromagerie (pH 6) stérilisé par filtration sur filtre Seitz EKS, la mise en évidence de la production de gaz se faisant au moyen de cloches de Durham placées dans les tubes de lactosérum. On identifiait ensuite les levures isolées selon les critères de Lodder (1970) en utilisant des techniques décrites antérieurement (Devoyod et Sponem, 1970).

h) *Clostridium* : 10 ml de la suspension de fromage étaient chauffés à 75° C pendant 10 mn puis l'on procédait à des dilutions décimales en eau distillée. On ensemait ces dilutions dans un milieu RCM (Reinforced Clostridia Medium Oxoid) préalablement régénéré (3 tubes par dilution). On a utilisé également un milieu au lactate (Cerf et Bergère, 1968). On coulait sur le milieu ensemencé un bouchon de paraffine stérile et on incubait à 37° C. On notait le nombre de tubes positifs (croissance et production de gaz) et on calculait le NPP (nombre le plus probable) en utilisant la table de Mac Crady.

Pour l'identification, on cultivait les *Clostridia* sur milieu au lait cystéiné (pH 7,0), sur milieu au lactate et sur milieu VL et VL sulfite (Beerens et al., 1962).

RESULTATS ET DISCUSSION

Nous avons analysé la flore microbienne de 31 échantillons de fromage de Cantal fabriqué à partir de lait cru (Cantal fermier et Cantal laitier). Ces fromages avaient été fabriqués au cours de l'été et de l'automne et étaient âgés de 2 à 5 mois. Du point de vue organoleptique, certains fromages étaient d'excellente qualité, d'autres manquaient d'onctuosité et avaient un goût peu agréable.

Nous présentons l'ensemble de nos résultats sans faire de distinction ni dans l'origine des fromages (fermiers et laitiers), ni dans leur qualité ; le nombre d'échantillons analysés ne permettant pas de faire des comparaisons valables. Toutefois, nous soulignerons les différences de flore entre ces divers fromages lorsque les différences sont très nettement marquées.

Nos résultats sont présentés sous forme de diagrammes montrant la répartition des échantillons de fromage en fonction de leur teneur en micro-organisme.

— *Bactéries coliformes et Escherichia coli* (fig. 1 et 2)

On constate une répartition très voisine de ces bactéries dans les fromages : cela montre que *E. coli* représente une part importante des bactéries coliformes dénombrées dans le fromage de Cantal ; nous avons identifié également des *Enterobacter* et des *Hafniae*. Nous n'avons pas constaté de corrélation entre le nombre de bactéries coliformes et la qualité organoleptique des fromages ; par exemple dans les fromages ayant un bon goût et une pâte onctueuse nous avons aussi bien trouvé des échantillons exempts de bactéries coliformes que des échantillons en contenant plusieurs milliers. Par contre les fromages de mauvaise qualité renfermaient toujours un nombre élevé de bactéries coliformes.

— *Staphylocoques à coagulase positive*

Les staphylocoques à coagulase positive (fig. 3) sont peu nombreux dans les échantillons analysés mais certains de ces micro-organismes ne donnaient pas sur le milieu de Baird-Parker des colonies typiques (noires-brillantes avec bordure claire et zone d'éclaircissement s'étendant dans le milieu opaque), ils ont fait l'objet d'une étude particulière.

— *Bactéries lactiques*

Parmi les bactéries lactiques, les lactobacilles mésophiles appartenant à l'espèce *Lactobacillus casei* constituent la flore microbienne dominante du fromage de Cantal et ce dès le 2^e mois. Dans les fromages ayant un goût désagréable nous avons trouvé des lactobacilles hétéro-fermentaires (*Lactobacillus brevis*, essentiellement) en flore dominante. Le rapport lactobacilles/streptocoques est compris entre 10 et 100. Nous avons constaté que les micro-organismes qui donnent des colonies blanc-rosé sur le milieu de Turner (type *Str. cremoris*) sont plus nombreux que ceux qui donnent des colonies foncé (type *Str. lactis* et *Str. diacetylactis*).

En ce qui concerne les *Leuconostoc* producteurs de dextrane (fig. 5), nous voyons que leur nombre est très variable, de quelques centaines à plusieurs dizaines de millions par gramme de produit. Il ne nous est pas possible actuellement de préciser le rôle que jouent ces micro-organismes dans la technologie du Cantal, mais nous avons constaté que les fromages de mauvaise qualité contenaient peu de *Leuconostoc*.

La répartition des entérocoques (fig. 6) dans les échantillons analysés présente deux maxima : l'un situé entre 10 000 et 100 000

Teneur des fromages de Cantal

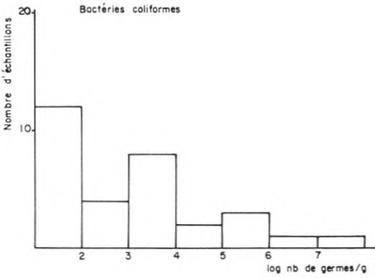


fig. 1
en bactéries coliformes

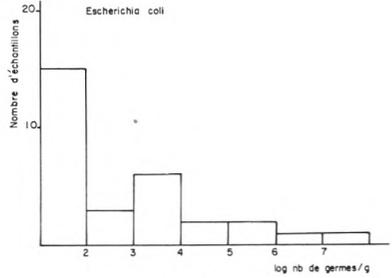


fig. 2
en *Escherichia coli*

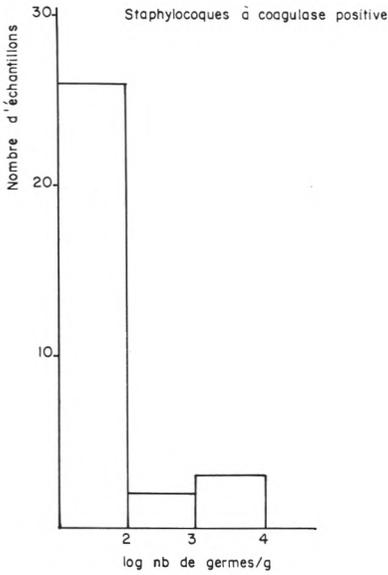


fig. 3
en staphylocoques
à coagulase positive

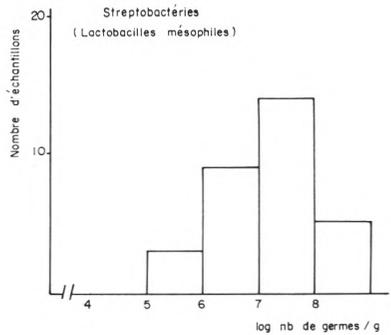


fig. 4
en lactobacilles
mésophiles

germes par gramme correspond à des fromages fermiers, l'autre situé entre 10 et 100 millions par gramme correspond à des fromages laitiers. C'est uniquement dans le cas des entérocoques que la différence entre fromages fermiers et fromages laitiers est aussi marquée.

Teneur des fromages de Cantal

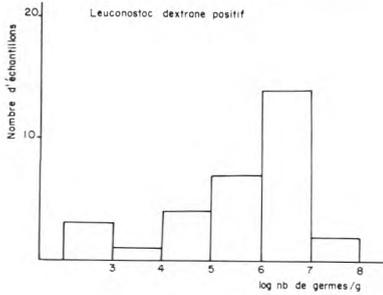


fig. 5

en *Leuconostoc* dextrane positifs

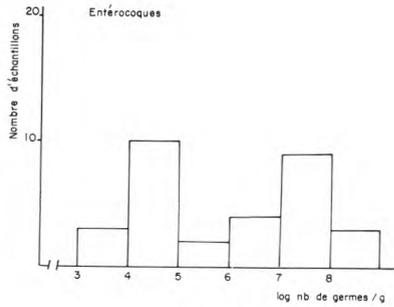


fig. 6

en entérocoques

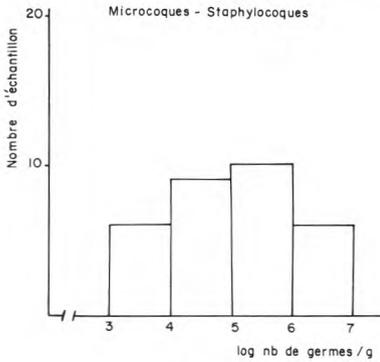


fig. 7

en microcoques et staphylocoques

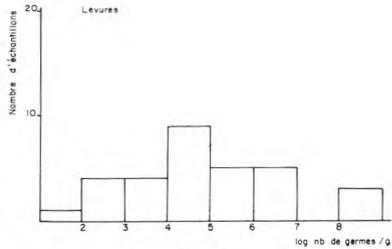


fig. 8

en levures

Le rôle de ces micro-organismes sur la qualité organoleptique des fromages est très discutée. Le nombre d'échantillons analysés ne nous permet pas, dans le cas des fromages fabriqués à partir de lait cru de savoir si les entérocoques interviennent réellement ou non dans la qualité de ces fromages. La constatation importante que nous avons faite est qu'il est possible d'obtenir des fromages de Cantal à pâte souple, au goût typique, agréable, avec des teneurs en entérocoques ne dépassant pas 3 à 5 000 germes par gramme.

— *Microcoques ; levures*

Nous avons trouvé pour les microcoques et staphylocoques (fig. 7) d'une part et les levures (fig. 8) d'autre part sensiblement la même répartition dans les fromages fermiers et dans les fromages laitiers. Toutefois les échantillons qui renferment de fortes teneurs

en micro-organismes correspondaient à des fromages de mauvaise qualité provenant de fabrications défectueuses dans lesquelles l'égouttage avait été insuffisant.

Clostridies

Bien que les professionnels attribuent aux *Clostridium* du groupe butyrique la responsabilité de défauts de goût des fromages (fromages très piquants), nous n'avons dénombré aucun germe de ce genre dans les fromages présentant ces défauts.

Ces résultats préliminaires ne nous permettent pas de définir l'importance et le rôle des différents micro-organismes sur la qualité du fromage de Cantal. Ces micro-organismes font actuellement l'objet d'une étude dont les résultats seront publiés ultérieurement.

Résumé

La flore microbienne de 31 fromages de Cantal âgés de 2 à 5 mois fabriqués à partir de lait cru a été étudiée. Les principaux micro-organismes qui constituent cette flore ont été dénombrés et identifiés : à savoir, bactéries lactiques ; bactéries coliformes et *Escherichia coli*, staphylocoques à coagulase positive, microcoques et staphylocoques non pathogènes, levures et Clostridies.

Summary

THE MICROBIAL FLORA OF RAW MILK CANTAL CHEESE

I. Technics of study and Preliminary results

The microbial flora of 31 raw milk 2 and 5 months aged Cantal cheese was investigated. The main micro-organisms of the flora were counted i.e. : lactic acid bacteria, coliform bacteria and *E. coli* coagulase positive staphylococci, micrococci and non pathogenic staphylococci, yeasts and butyric acid clostridia.

Remerciements

Nous remercions bien vivement M. Charet pour l'intérêt qu'il a porté à notre étude et M. Larroumets pour la collaboration qu'il nous a apportée dans sa réalisation.

Nous remercions MM. Accolas et Bergère pour les renseignements et conseils qu'ils nous ont donnés pour la recherche des lactobacilles et des clostridia.

Nos remerciements vont également à MM. Mocquot et Auclair pour leurs suggestions et leurs critiques qui ont été pour nous une aide précieuse dans la présentation de ce travail.

Reçu pour publication le 25 avril 1974.

Références bibliographiques

- [1] BAIRD-PARKER (A. C.) (1962). — An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase-positive staphylococci. *J. Appl. Bact.*, 25, 12.
- [2] BAIRD-PARKER (A. C.) (1963). — A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests. *J. gen. Microbiol.*, 30, 409.
- [3] BAIRD-PARKER (A. C.) (1965). — The classification of staphylococci and micrococci from world-wide sources. *J. gen. Microbiol.*, 38, 363.
- [4] BARNES (E. M.) (1956). — Methods for the isolation of faecal streptococci (Lancefield group D) from bacon factories. *J. appl. Bact.*, 19, 193.
- [5] BEERENS (H.), CASTEL (M.M.) et PUT (H. M. C.) (1962). — Caractères d'identification de quelques *Clostridium* du groupe *butyricum*. *Ann. Inst. Pasteur*, 103, 112.
- [6] CERF (O.) et BERGERE (J. L.) (1968). — La numération des spores de *Clostridium* et son application au lait et aux produits laitiers. *Le Lait*, 478, 501.
- [7] DEVOYOD (J. J.) (1969). — La flore microbienne du fromage de Roquefort. IV. Les entérocoques. *Le Lait*, 495, 277.
- [8] DEVOYOD (J. J.) (1970). — La flore microbienne du fromage de Roquefort. V. Les lactobacilles. *Le Lait*, 495, 277.
- [9] DEVOYOD (J. J.) et DESMAZEAUD (M.) (1971). — Les associations microbiennes dans le fromage de Roquefort. III. Action des entérocoques et des levures fermentant le lactose vis-à-vis des lactobacilles. *Le Lait*, 507, 399.
- [10] DEVOYOD (J. J.) et 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*, 487, 369.
- [11] DEVOYOD (J. J.) et SPONEM (D.) (1970). — La flore microbienne du fromage de Roquefort. VI Les levures. *Le Lait*, 498, 524.
- [12] GIOLITTI (G.) and CANTONI (C.) (1966). — A medium for the isolation of staphylococci from foodstuffs. *J. appl. Bact.*, 29, 395.
- [13] LARROUMETS (J. M.) (1968). — Communication personnelle.
- [14] LODDER (J.) (1970). — The yeasts a taxonomic study. *North Hollands Publishing Company*, Amsterdam.
- [15] DE MAN (J. C.), ROGOSA (M.) and SHARPE (E.) (1960). — A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J. appl. Bact.*, 23, 310.
- [16] MAYEUX (J. V.), SANDINE (W. E.) and ELLIKER (P. R.) (1962). — A selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed-strain starter cultures. *J. Dairy Sci.*, 45, 655.
- [17] POLLACK (M. A.) and LINDNER (M.) (1943). — A growth stimulant for *Lactobacillus casei*. *J. Biol. Chem.*, 147, 183.
- [18] RAIBAUD (P.), DICKINSON (A. B.), CHARLIER (H.) et MOCOQUOT (G.) (1966). — La microflore du tube digestif du rat. I. Techniques d'études et milieux proposés. *Ann. Inst. Pasteur*, 110, 568.
- [19] TISON (1962). — Communication personnelle.
- [20] TURNER (N.), SANDINE (W. E.) and ELLIKER (P. R.) (1962). — An agar medium for differentiating *Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris*. *J. Dairy Sci.*, 45, 656.