

Proposition de sujet
Concours général biotechnologies 2015
Epreuve écrite
Partie documents

Rédacteurs : Mr Brégou Christophe, Mme Brun Frédérique , Mr Harvier Rudolph, Mme Rigard Gisèle, Mme Vignon Catherine, Mr Vignon Laurent.

Documents associés au sujet :

Document 1 : le lait, un liquide biologique complexe.

Sécrété par les glandes mammaires le lait a une composition chimique complexe et variable. Il contient naturellement quelques cellules mammaires et des leucocytes ainsi que des bactéries lactiques présentes dans le système canaliculaire (les canaux galactophores, la citerne du pis, le trayon). Le lait recueilli après la traite n'est donc pas stérile.

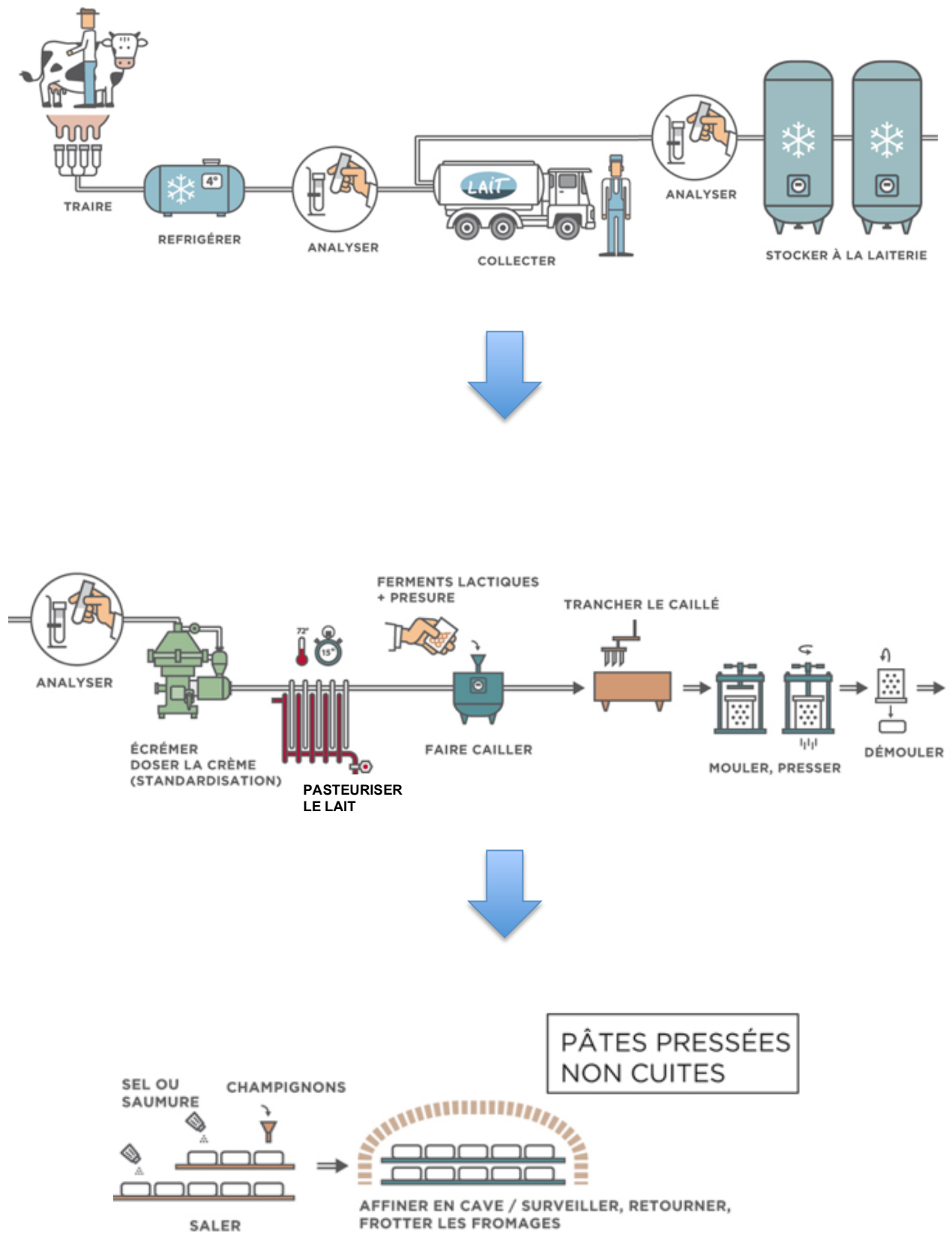
Composition chimique type d'un lait de vache

Composés	Concentration en g.L⁻¹ de lait
Eau	900-910
Glucide (lactose)	47-50
Lipides	35-45
Protides	30-36
Caséine	27-30
Protéines solubles (lactalbumine, enzymes, ...). Exemples de protéines enzymatiques du lait : oxydases, réductases, lipases, phosphatases, protéases, amylases	5,5
Acides aminés	1,5
Substances azotées non protéiques : urée, NH ₄ ⁺	7-9
Sels	
Ca ²⁺	1,00 à 1,40
Mg ²⁺	0,10 à 0,15
Vitamines (A, D, E, K, B1-2-6 et 12, PP, C, ac. Pantothénique.)	très variable (20-30 mg)
Pigments (carotènes, xanthophylles, riboflavines)	traces
Gaz dissous (CO ₂ , O ₂ , N ₂)	traces

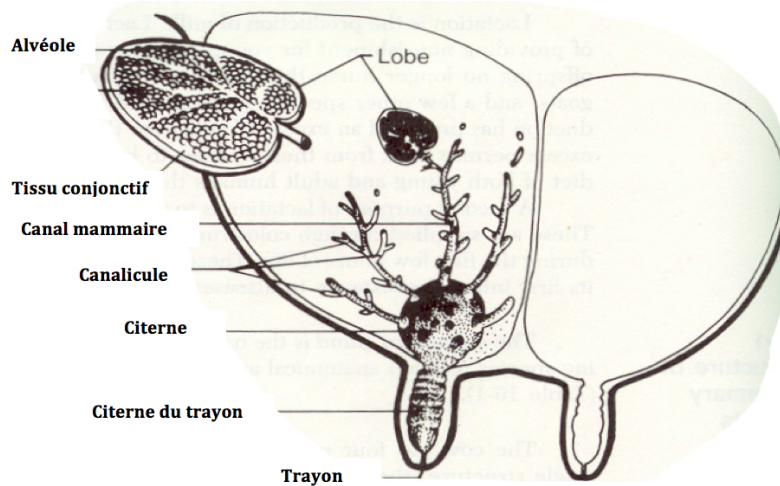
La masse volumique moyenne du lait de vache est de 1,032 kg.L⁻¹. Le lait apparaît blanc à cause des micelles de caséines dont la taille diffuse la lumière dans tout le domaine du visible.

Document 2 : diagramme de fabrication du « Saint-Nectaire » laitier

(Source : <http://www.produits-laitiers.com/les-produits-laitiers/produits-laitiers-leurs-circuits-de-fabrication/le-fromage-son-circuit-de-fabrication/>)



Document 3 : organisation du pis de la vache



Document 4 : organisation histologique d'une alvéole mammaire

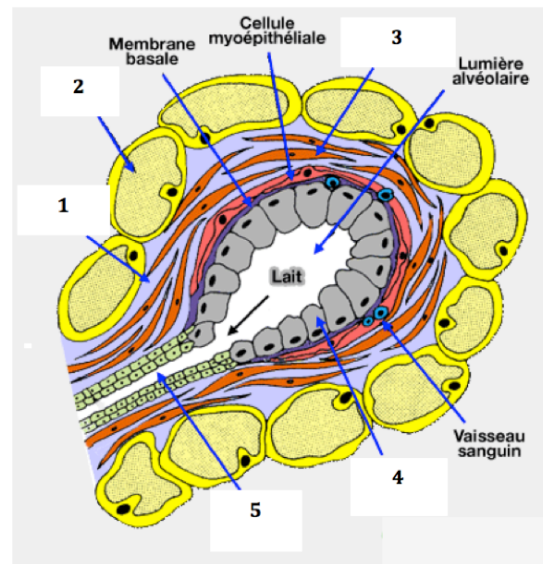
Les acini mammaires sont formés d'une unique couche de cellules épithéliales (synthétisant le lait) qui s'organisent en alvéoles. Les alvéoles sont entourées de cellules myoépithéliales (cellules musculaires incluses dans un épithélium) qui se contractent sous l'action de l'ocytocine (hormone).

Les acini se ressemblent en lobules, eux-mêmes regroupés en lobes mammaires.

Les alvéoles sont prolongées par des canaux lobulaires (ou conduits alvéolaires) et séparées par un tissu conjonctif composé de deux types de cellules : des fibroblastes allongés et des adipocytes de forme sphérique.

Entre ces cellules, la matrice extracellulaire, qui forme la membrane basale contre les cellules épithéliales alvéolaires, est formée de glycoprotéines.

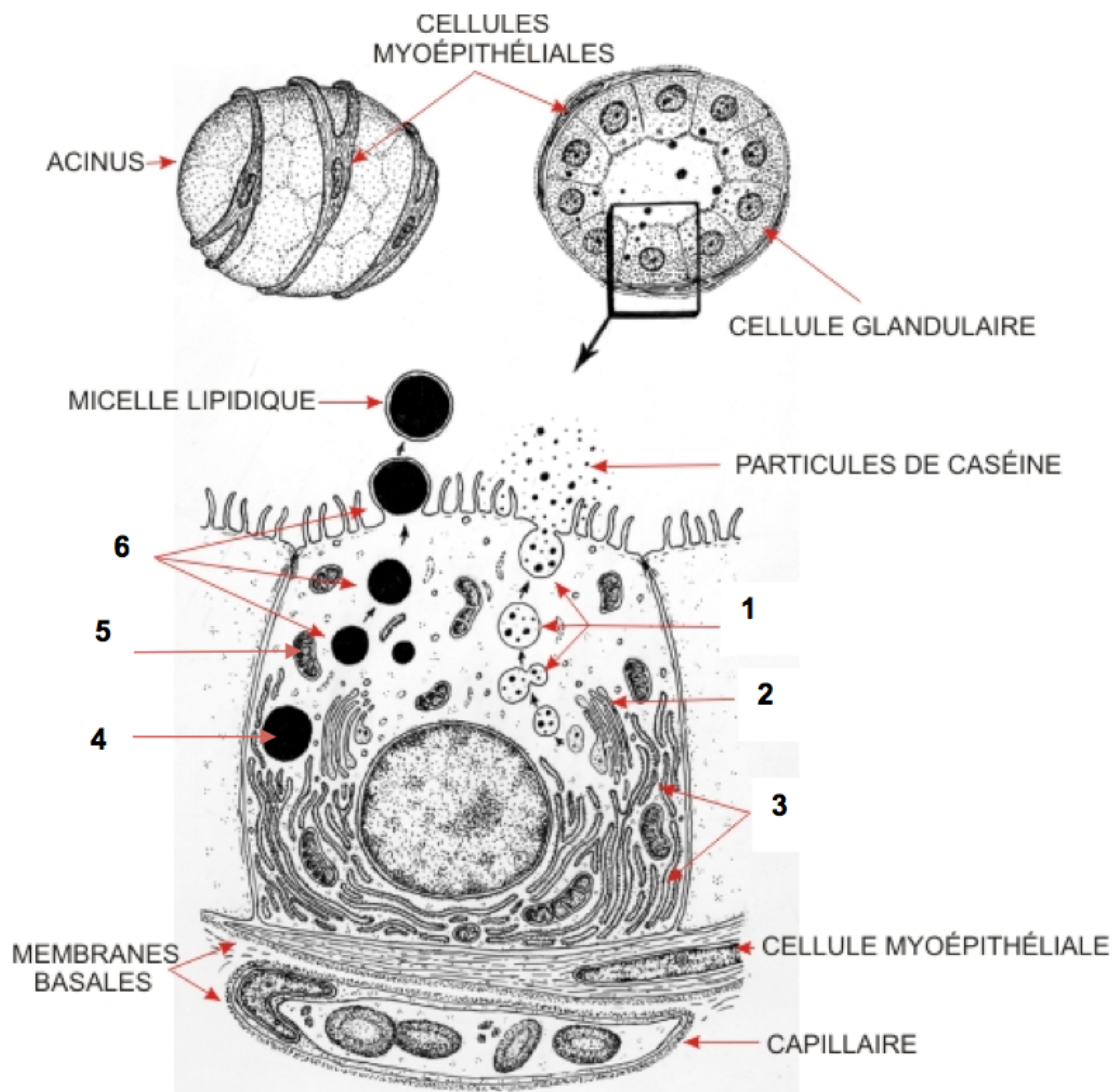
Les éléments de la matrice extracellulaire, les fibroblastes, les adipocytes et même les cellules myoépithéliales sont essentiels pour le développement des alvéoles et les rendent sensibles aux hormones lactogènes, facilitant la sécrétion lactée.



Acinus mammaire ou alvéole

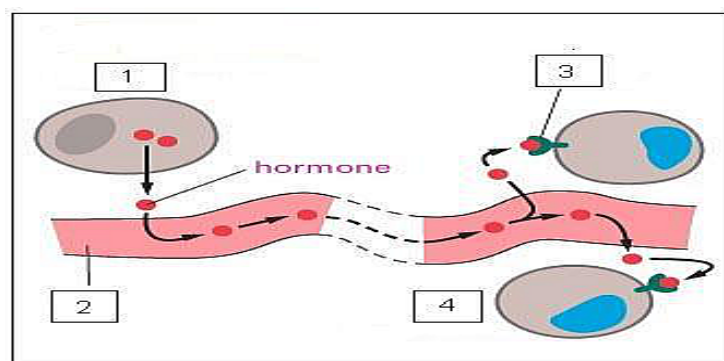
(D'après <http://www.vetopsy.fr/reproduction/lactation/glandes-mammaires-histologie.php>)

Document 5: schéma d'une cellule glandulaire



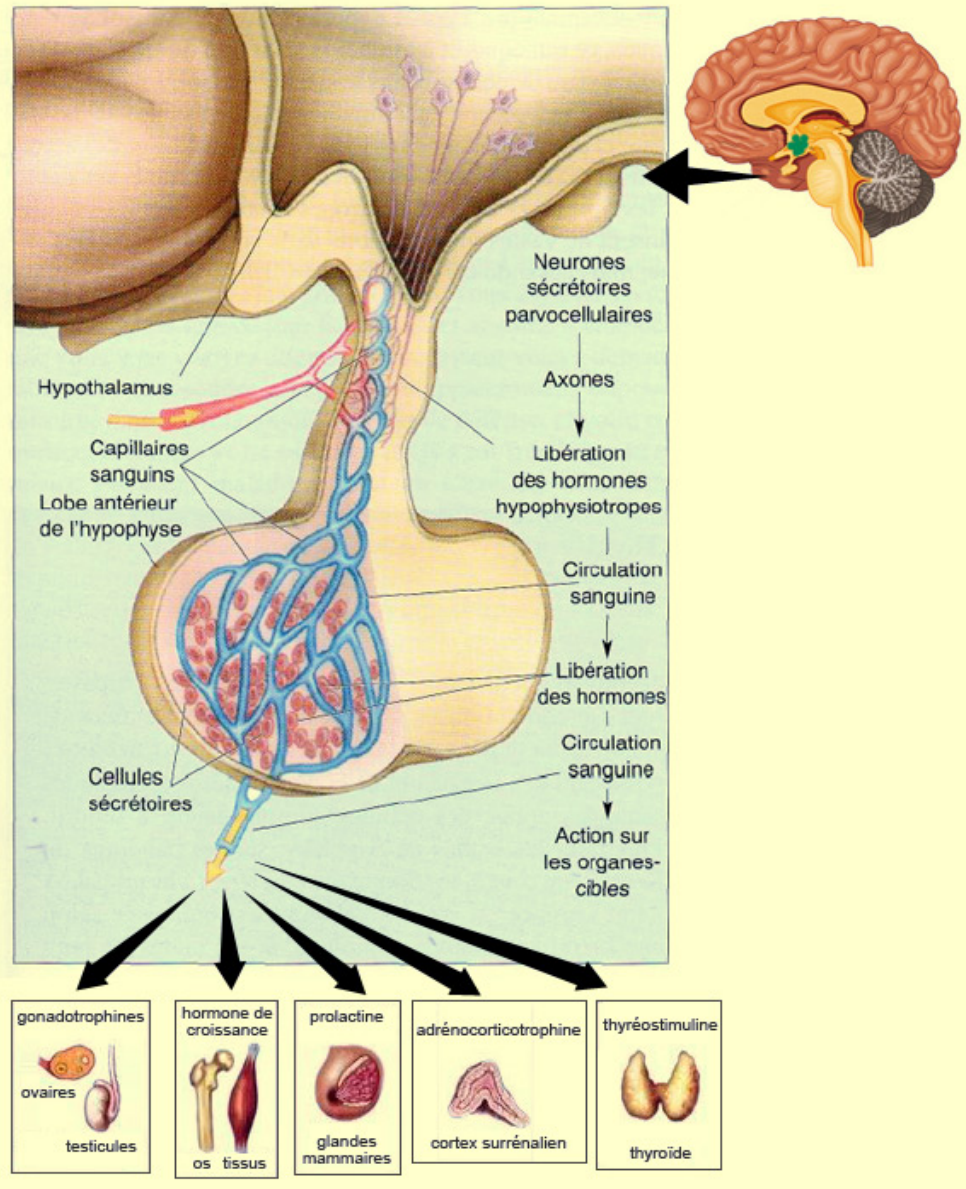
(source : http://audilab.bmed.mcgill.ca/HA/html/frs_47_F.html)

Document 6 : la communication endocrine

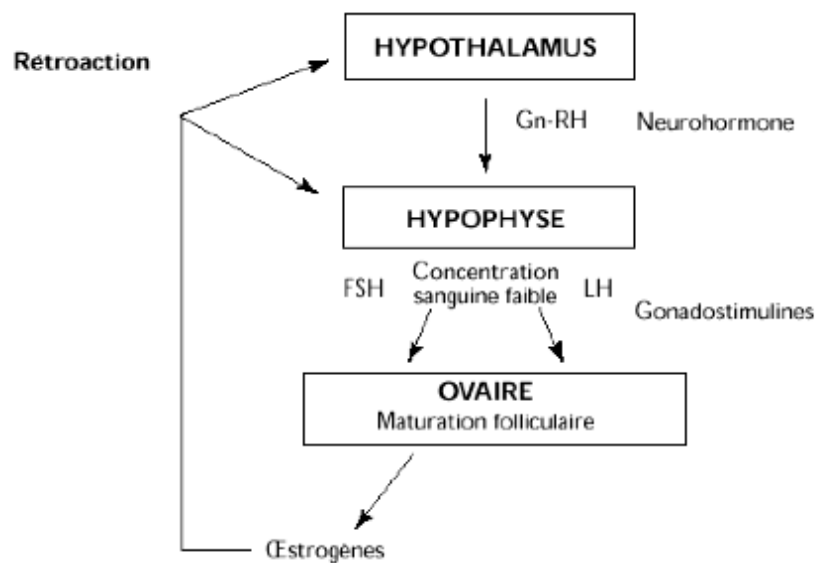


Document 7 (a,b,c,d) : données sur le fonctionnement de l'axe HHO.

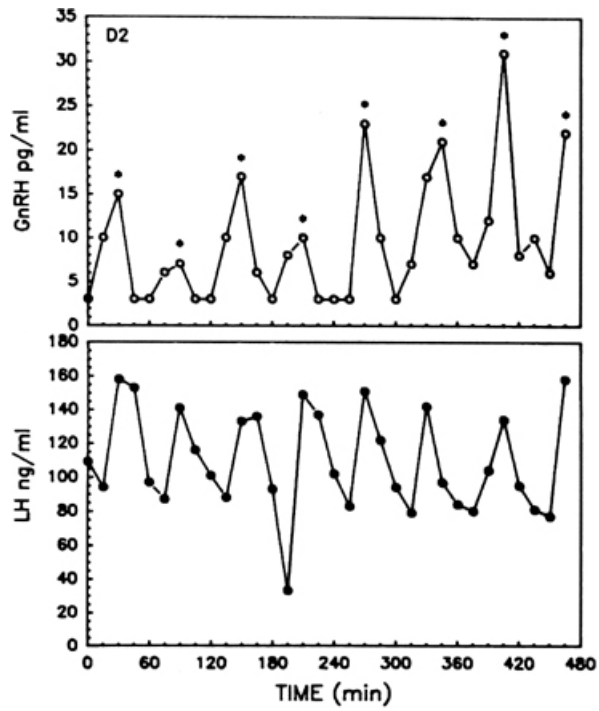
Document 7a :
anatomie de
l'axe HHO



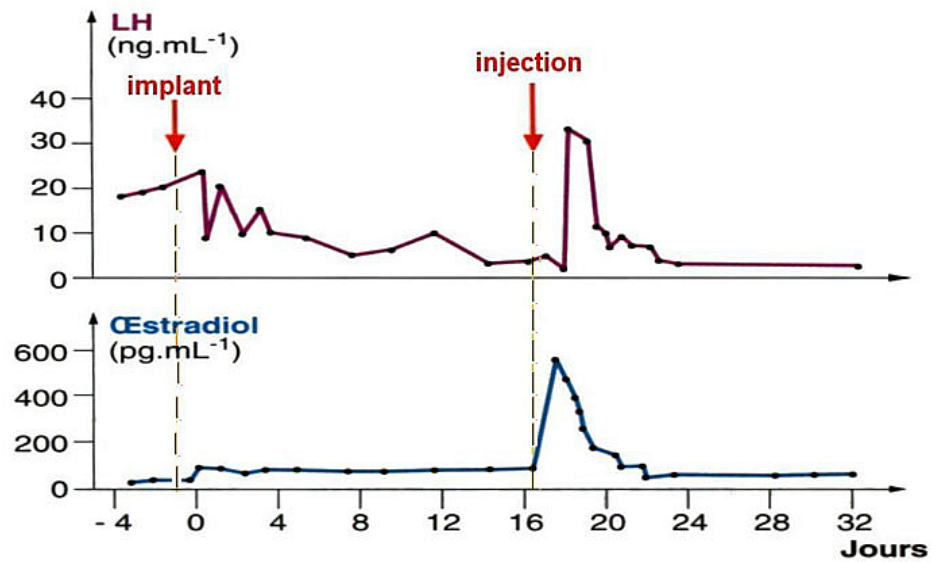
Document 7b :
fonctionnement
de l'axe HHO.



Document 7c :
sécrétion de la LH en fonction du profil de sécrétion de la GnRH chez la femelle macaque.



Document 7d :
effet dose-dépendant de l'œstradiol sur la réponse sécrétoire de la LH



Implant : diffusion continue d'œstradiol.
Injection : injection d'une forte dose d'œstradiol.

Document 7e

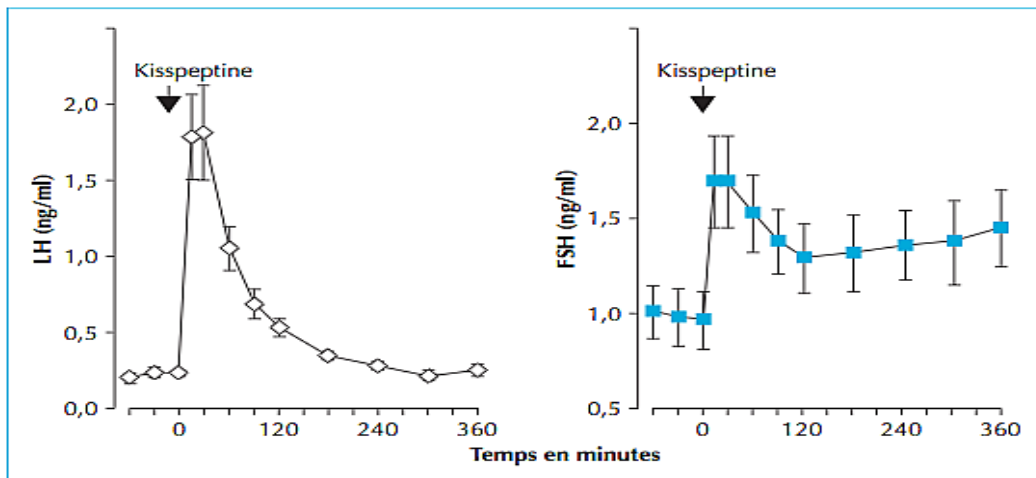
- GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone ;
- FSH : Folliculostimulating Hormone ;
- LH : Luteinising Hormone.

Document 8 : mise en évidence de l'action de la kisspeptine

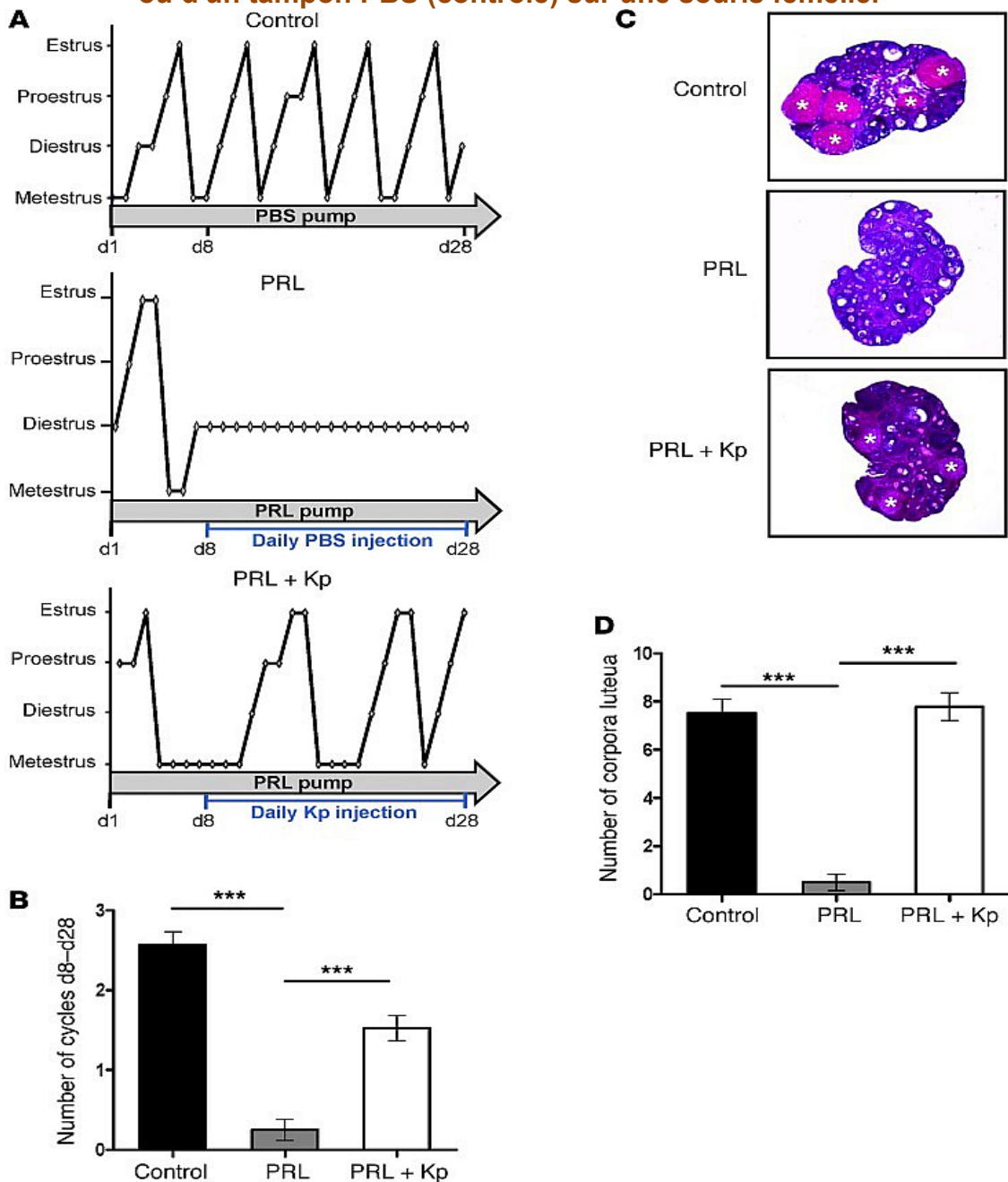
Document 8a : résultats expérimentaux

1	Les neurones à GnRH présentent peu de récepteurs aux oestrogènes mais expriment de manière élevée le récepteur de la kisspeptine.
2	Les neurones à kisspeptine possèdent de nombreux récepteurs aux oestrogènes.
3	Les neurones à kisspeptine peuvent être inhibés ou stimulés par les oestrogènes.

Document 8b : effets de l'injection intraveineuse de kisspeptine sur les sécrétions de LH et FSH



Document 9 : Effets de la perfusion de la prolactine (PRL), de kisspeptine (Kp) ou d'un tampon PBS (contrôle) sur une souris femelle.



- A.** Effets sur l'ovulation ; chez l'animal, on considère 4 phases du cycle ovarien : proestrus (phase folliculaire), estrus (ovulation), diestrus (développement du corps jaune), metestrus (dégénérescence du corps jaune et règles) ;
- B.** Effets des perfusions sur le nombre de cycles ;
- C.** Effets des perfusions sur la structure des ovaires de souris (coupes histologiques colorées à l'hématoxyline/éosine), les corps jaunes (*corpora lutea*) sont signalés par des astérisques ;
- D.** Effets des perfusions sur le nombre de corps jaunes (*corpora lutea*).

Le diluant utilisé pour les perfusions est du tampon PBS. C'est une solution de chlorure de sodium et de phosphate disodique isotonique, il peut donc être utilisé comme solution physiologique.

(source : J Clin Invest. 2012 Oct 1;122(10):3791-5. doi: 10.1172/JCI63937)

Document 10 : extrait du cahier des charges de l'AOC-Fromage «Saint-Nectaire »

La ration de base des vaches laitières est composée exclusivement d'herbe provenant de l'aire géographique définie [...] Le pâturage est obligatoire pour les vaches laitières pendant une durée de 140 jours minimum par an [...] hors période de pâturage, l'herbe distribuée sous forme de fourrage sec avec un taux de matière sèche¹ supérieur à 80% représente quotidiennement au moins 50 % de la ration de base des vaches laitières, exprimée en matière sèche [...] dans tous les cas la complémentation ne peut pas dépasser 30 % de la ration totale exprimée en matière sèche pour l'ensemble des vaches laitières et sur l'année.

Aliments complémentaires autorisés :

1-Céréales : orge, maïs, blé, avoine, seigle, triticale ;

2-Co-produits de céréales : son et remoulage de blé, drèches de maïs, drèches de blé, corn gluten feed, gluten de maïs, tourteaux de germes de maïs, radicelle d'orge ;

3-Fourrages déshydratés et agglomérés : luzerne déshydratée, foin de luzerne ;

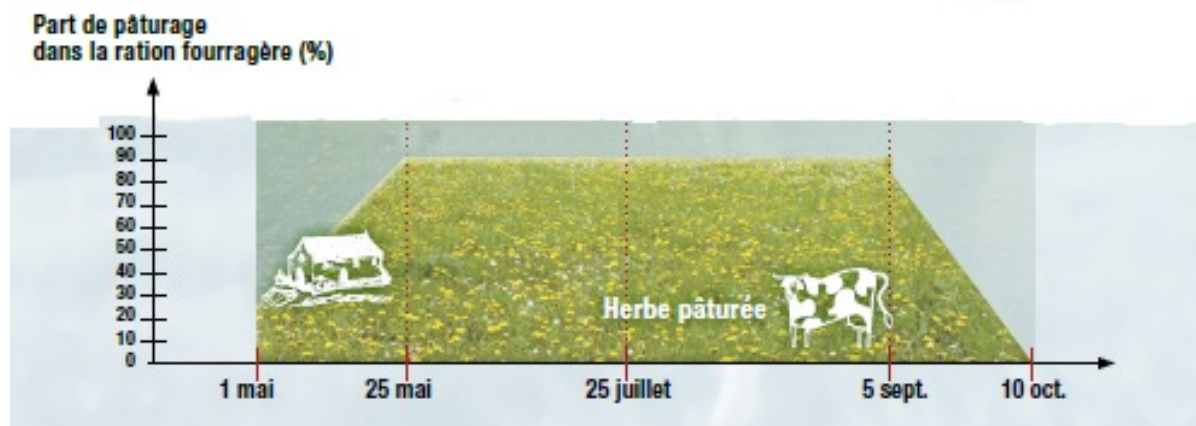
4-Graines entières protéagineuses et oléoprotéagineuses : soja, colza, tournesol, lin, féverole, lupin, pois ;

5-Co-produits des graines protéagineuses et oléoprotéagineuses : tourteaux de soja, de colza, de tournesol, de lin, huile de soja, de colza, de tournesol ;

6-Racines, tubercules et leurs co-produits : pulpe de betterave déshydratée, mélasse comme liant.

Document 11 : part de pâturage dans la ration des vaches en fonction de la période

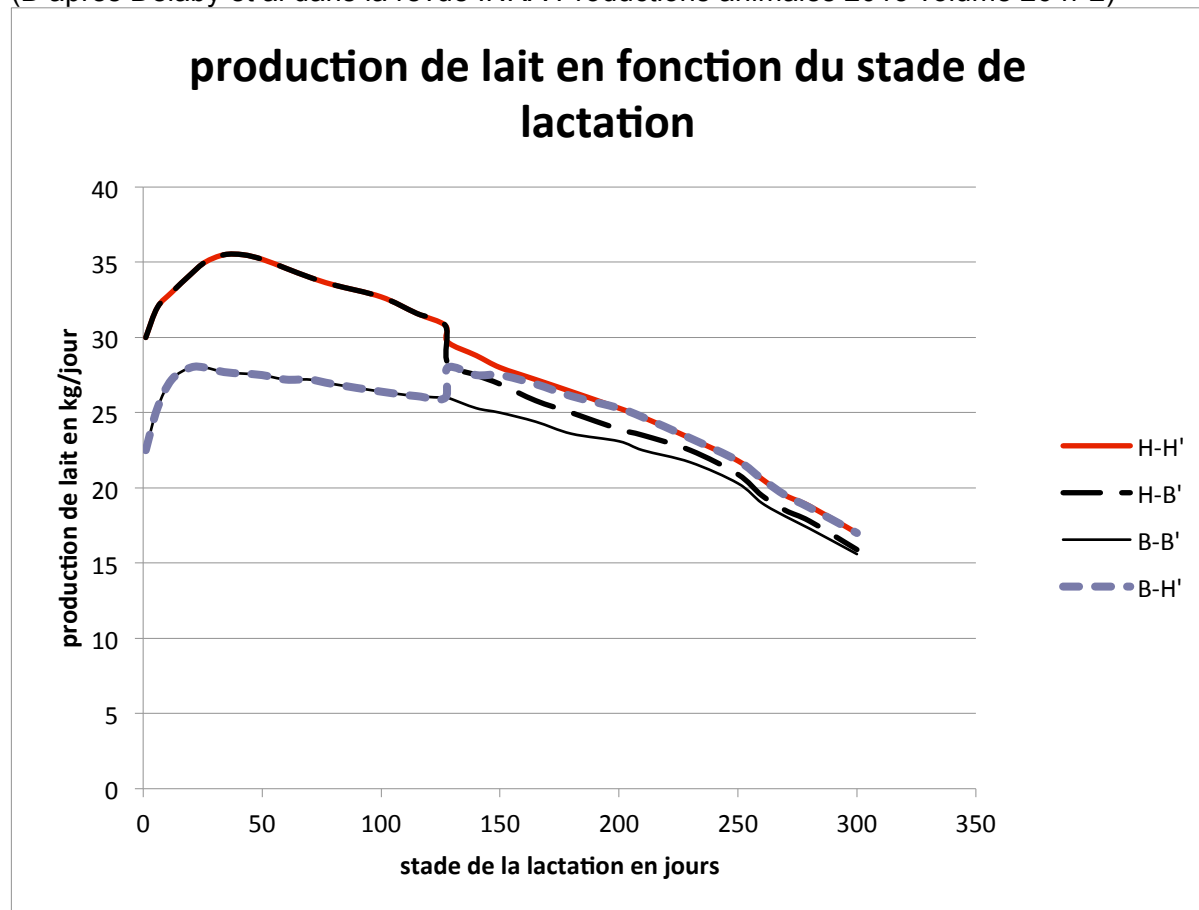
(source : Observatoire de l'alimentation des vaches laitières)



¹ la matière sèche est la matière restant après extraction de l'eau d'un produit

Document 12 : exemple de modélisation des données de production de lait au cours d'une lactation entière selon l'alimentation reçue

(D'après Delaby et al dans la revue INRA Productions animales 2013 volume 26 n°2)



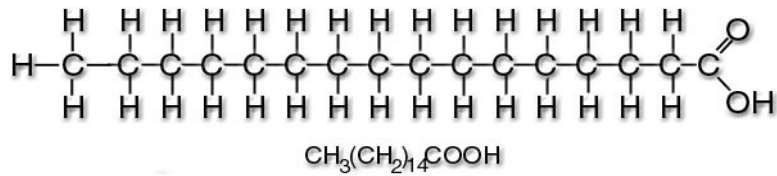
Document 13 : Influence de deux types de régimes sur la composition du lait (écarts en g pour 1000 par rapport à la moyenne) ; les calculs tiennent compte de la race et du stade de lactation.

(D'après « Lait et produits laitiers, tome 1 » Technique et documentation- Lavoisier)

	Foin	Herbe fraîche	Plus petit écart significatif
Variation du taux de matières grasses	-3,00	+2,60	0,90
Variation de la teneur en : Matières azotées	-0,20	+0,55	0,59
dont caséines (protéines majoritaires du lait)	-0,19	+0,22	0,46

Document 14 : deux acides gras

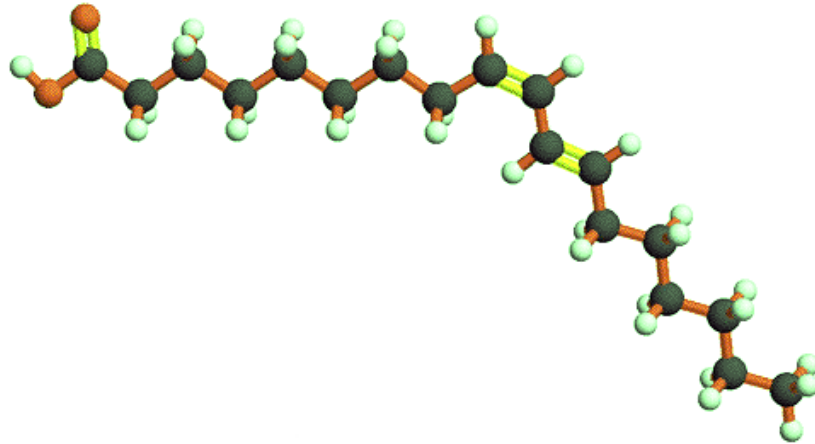
14a : l'acide palmitique



(Source :

<http://lemondeetnous.canalblog.com/archives/2007/08/02/5787749.html>)

14b : l'isomère de l'acide linoléique

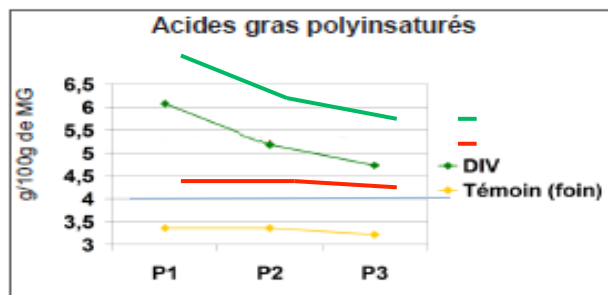
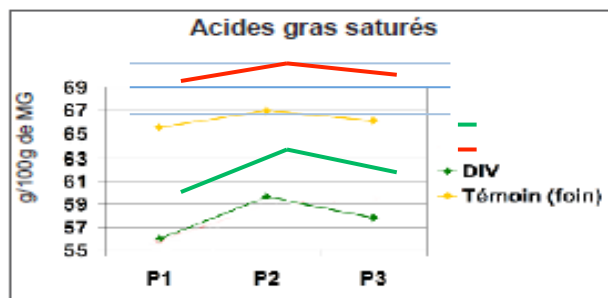


(Source :

http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Acides+Linol%C3%A9iques+Conjugu%C3%A9s&lang=4)

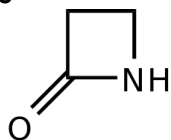
Document 15 : concentration en acides gras saturés et polyinsaturés selon l'alimentation des vaches

(Extrait du bulletin d'information du Pôle fromager AOP Massif Central, n°58)



Document 16

16a : la formule du cycle bêta-lactame



16b : Quelques antibiotiques ou familles d'antibiotiques.

(Extrait de sciences 128 : Les antibiotiques de Thierry Heberlin, éd. Nathan)

<p>Formule générale d'une pénicilline</p>	<p>Formule du chloramphénicol</p>
<p>Formule d'une cycline, la chlortétracycline</p>	<p>Thiénamycine Famille des thiénamycine</p>
<p>Sulfanilamide Formule d'un sulfamide</p>	<p>Acide nalidixique Formule d'une quinolone</p>
<p>Formule générale des céphalosporines</p>	<p>Formule d'un macrolide : l'érytromycine A</p>

Document 17 : résultat de la recherche d'inhibiteurs bactérien par la méthode Penzym

Mode opératoire :

- reconstituer l'enzyme avec 1 mL d'eau distillée ;
- répartir l'enzyme dans des tubes type Eppendorf de 1,5 mL à raison de 10 μ L ;
- ajouter 50 μ L de lait et incuber 5 min à 47,5°C ;
- ajouter un comprimé de substrat, incuber à 47,5°C pendant 7min 30s (ou 15 min selon la sensibilité désirée) ;
- lire la couleur.

Document 18 : caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.

Constantes	Moyennes	Valeurs extrêmes
Energie kJ.L ⁻¹	2930	2450-3660
Densité du lait entier à 20°C	1,031	1,028-1,033
Densité du lait écrémé à 20°C	-	1,036
Densité de la matière grasse à 20°C	-	0,94-0,96
pH à 20°C	6,6	6,6-6,8
Acidité titrable (°Dornic)	16	15-17
Point de congélation (°C)	-0,520	-
Chaleur spécifique du lait entier à 15°C	0,940	-
Chaleur spécifique du lait écrémé à 15°C	0,945	-
Viscosité du lait entier à 20°C (Pa.s)	2,2	-
Viscosité du lait entier à 25°C (Pa.s)	1,8	1,6-2,1
Viscosité du lait écrémé (Pa.s)	1,9	-
Conductibilité électrique à 25°C (siemens)	45.10 ⁻⁴	40.10 ⁻⁴ -50.10 ⁻⁴
Point d'ébullition du lait entier (°C)	100,16	-
Potentiel d'oxydoréduction (V)	0,25	0,20-0,30
Point de fusion des graisses (°C)	36	26-42

Document 19 : destruction de microorganismes par la chaleur

1. Facteurs influençant cette destruction

Sensibilité des microorganismes à la chaleur : on distingue la flore thermosensible qui est détruite à partir de 60°C comme les microorganismes végétatifs (bactéries, levures, moisissures) et la flore thermorésistante qui nécessite une température plus élevée (comme les microcoques, streptocoques lactiques, spores).

A savoir qu'un microorganisme en phase exponentielle de croissance est plus fragile.

Composition de l'aliment : une a_w (eau disponible) faible diminue la sensibilité des microorganismes. Donc un produit plus humide est plus facile à stériliser qu'un produit en partie déshydraté.

pH : un pH bas augmente la sensibilité des microorganismes.

Nature biochimique de l'aliment : problème de conduction. Les lipides conduisent moins bien la chaleur que l'eau d'où une meilleure résistance des microorganismes dans les produits gras.

Durée du traitement = barème (T°C, Δt)

2. Optimisation du barème

Impératif hygiénique : mort du microorganisme.

Impératif nutritionnel : préserver les qualités de l'aliment, limiter la destruction des vitamines.

L'optimisation du barème consiste à déterminer le couple (T°C, Δt) permettant d'atteindre l'objectif nutritionnel et microbiologique.

Document 20 : la structure primaire du proenzyme de la chymosine et de son peptide signal

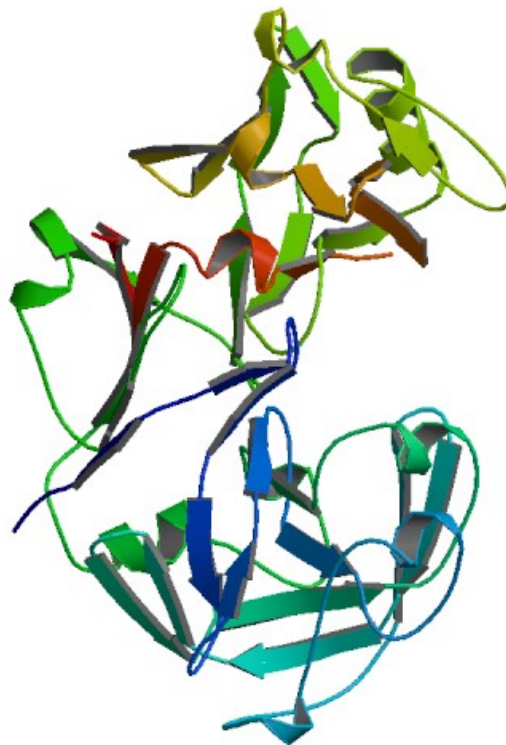
(Source : <http://www.uniprot.org/uniprot/P00794>)

Cette structure comprend : le peptide signal constitué des acides aminés 1 à 16,
le propeptide constitué des acides aminés 17 à 58,
la chymosine constituée de 323 acides aminés 59 à 381.

10	20	30	40	50	60
MRCLVLLAV	FALSQGAET	RIPLYKGKSL	RKALKEHGLL	EDFLQKQYG	ISSKYSGFGE
70	80	90	100	110	120
VASVPLTNYL	DSQYFGKIYL	GTPPQEFTVL	FDTGSSDFWV	PSIYCKSNAC	KNHQRFDPK
130	140	150	160	170	180
SSTFQNLGKP	LSIHYGTGSM	QGILGYDTVT	VSNIVDIQQT	VGLSTQEPGD	VFTYAETDGI
190	200	210	220	230	240
LGMAYPSLAS	EYSIPVFDNM	MNRHLVAQDL	FSVYMDRNGQ	ESMLTLGAID	PSYYTGSLSHW
250	260	270	280	290	300
VPVTVQQYWQ	FTVDSVTISG	VVACEGGCQ	AALDTGTSKL	VGSSDILNI	QQAIGATQNQ
310	320	330	340	350	360
YGEFDIDCDN	LSYMPVVFE	INGKMYPLTP	SAYTSQDQGF	CTSGFQSENH	SQKWILGDVF
370	380				
IREYYSVFDR	ANNLVGLAKA	I			

Document 21 : la structure tertiaire de la chymosine

(Source : <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3CMS>)



Document 22 :

22a. Les 20 acides aminés standard des protéines :

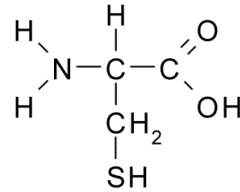
Acide glutamique	Glu	E
Acide aspartique	Asp	D
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Cystéine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I

Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Méthionine	Met	M
Phénylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Sérine	Ser	S
Thréonine	Thr	T
Tryptophane	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

22b. Formules semi-développée des acides aminés C, F et M :

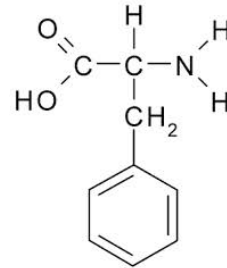
Formule semi-développée de la cystéine (C)

CYS



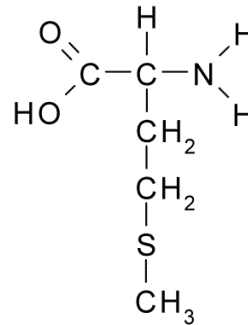
Formule semi-développée de la phénylalanine

(F) PHE



Formule semi-développée de la méthionine

(M) MET



Document 23 : structure de la micelle de caséine

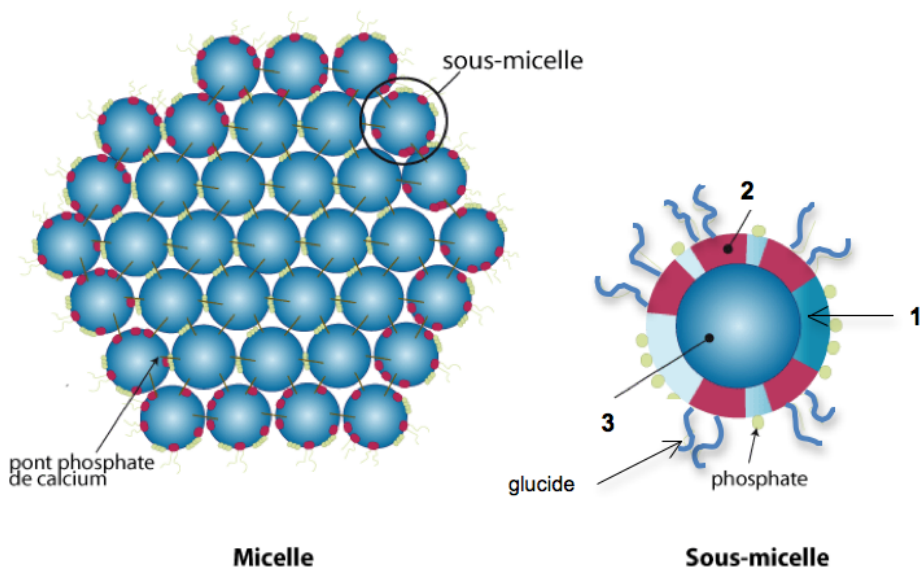
(Source : http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4_II_e.html)

Les différentes caséines vont s'associer entre elles de façon à créer un édifice plus volumineux : la sous-micelle, et les sous-micelles de caséine vont s'associer pour donner la micelle de caséine. La sous-micelle de caséine résulte de l'association des caséines alpha, bêta et kappa qui représente environ 92% de la masse de la sous-micelle, le reste étant représenté par des minéraux comme le montre le tableau ci-après :

Composés	Teneur en g/100g	Composés	Teneur en g/100g
Caséine α S1	33	Calcium	2,9
Caséine α S2	11	Magnésium	0,2
Caséine β	33	Phosphore inorganique	4,3
Caséine κ	11	Citrate	0,5
Caséine γ	4		

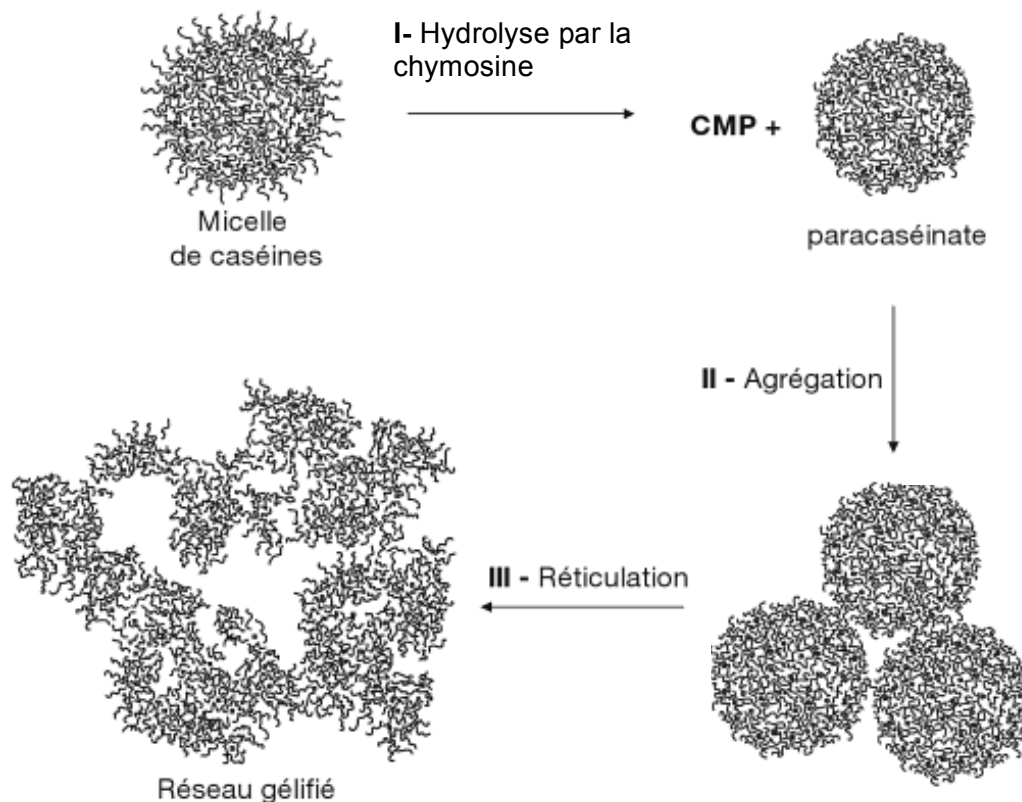
La sous-micelle de caséine n'a pas une structure homogène, elle possède un cœur hydrophobe constitué par la caséine bêta associée aux parties hydrophobes des autres caséines. En périphérie on retrouvera les parties hydrophiles des différentes caséines (partie phosphorylée pour les caséines alpha S1 et alpha S2) ainsi que la partie glycosylée de la caséine kappa.

La micelle de caséine est constituée de 10 à 100 sous-micelles reliées entre elles par l'intermédiaire de ponts phospho-calcique. Dans le lait il y a environ 34 mmol par litre de calcium dont 24 mmol appartiennent aux micelles sous la forme de phosphate de calcium ($Ca/Pi = 1,5$ à 2), le tiers restant est sous forme soluble de citrate de calcium.



Document 24 : modification de la structure micellaire au cours de la coagulation du lait par la présure

(Source : Croguennec, Jeantet, Brulé, Fondements physicochimiques de la technologie laitière, p.144, Editions TEC & DOC Lavoisier, 2008)



CMP = caséinoglycomacropéptide

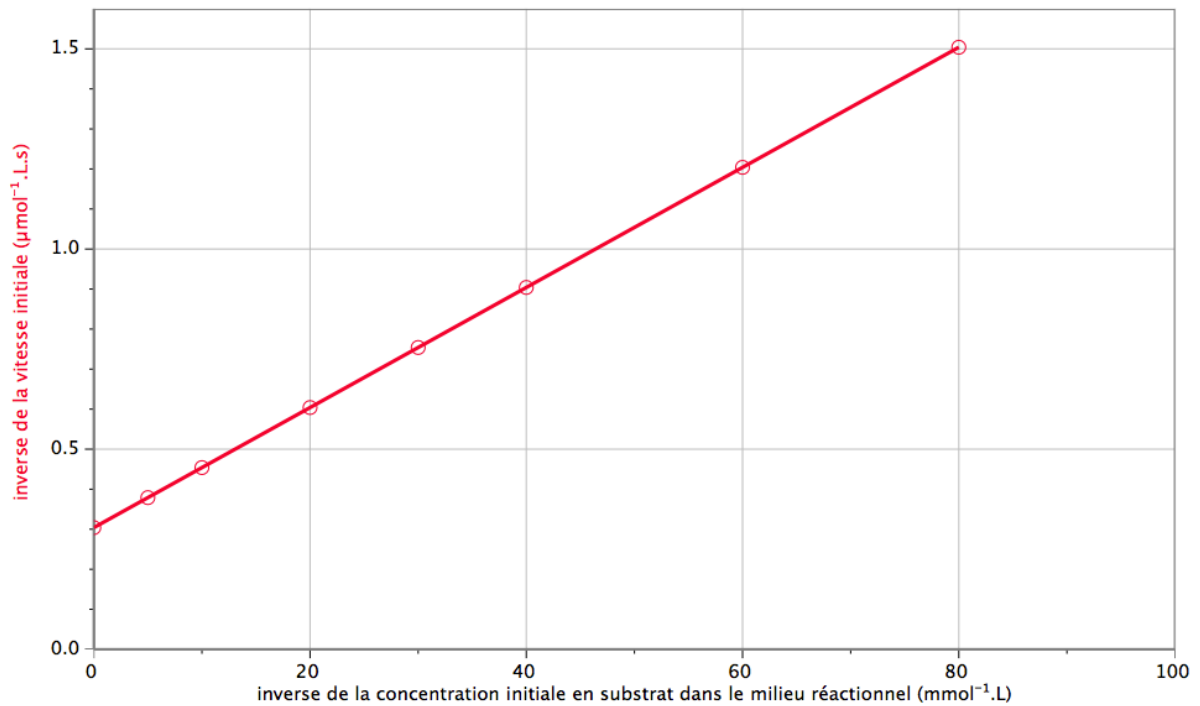
Document 25 : séquence primaire de la caséine kappa

(Source : http://biochim-agro.univ-lille1.fr/proteines/co/ch4_II_d.html)

1	Gln Glu Gln Asn Gln Glu Gln Pro Ile Arg Cys Glu Lys Asp Glu	15
16	Arg Phe Phe Ser Asp Lys Ile Ala Lys Tyr Ile Pro Ile Gln Tyr	30
31	Val Leu Ser Arg Tyr Pro Ser Tyr Gly Leu Asn Tyr Tyr Gln Gln	45
46	Lys Pro Val Ala Leu Ile Asn Asn Gln Phe Leu Pro Tyr Pro Tyr	60
61	Tyr Ala Lys Pro Ala Ala Val Arg Ser Pro Ala Gln Ile Leu Gln	75
76	Trp Gln Val Leu Ser Asn Thr Val Pro Ala Lys Ser Cys Gln Ala	90
91	Gln Pro Thr Thr Met Ala Arg His Pro His Pro His Leu Ser Phe	105
106	Met Ala Ile Pro Pro Lys Lys Asn Gln Asp Lys Thr Glu Ile Pro	120
121	Thr Ile Asn Thr Ile Ala Ser Gly Glu Pro Thr Ser Thr Pro Thr	135
136	Thr Glu Ala Val Glu Ser Thr Val Ala Thr Leu Glu Asp Ser Pro	150
151	Glu Val Ile Glu Ser Pro Pro Glu Ile Asn Thr Val Gln Val Thr	165
166	Ser Thr Ala Val	

Document 26 :

Représentation de Lineweaver et Burk: $1/v_i = f(1/S)$



Conditions expérimentales : Enzyme = chymosine; S = substrat = caséine kappa;

Température du milieu réactionnel: 30°C; pH du milieu réactionnel : 6,2

Equation de la droite représentative de l'équation de Lineweaver et Burk

$$\frac{1}{v_i} = 0,015 \cdot \frac{1}{[S]} + 0,304$$

Rappel : La représentation de Lineweaver et Burk (ou représentation des doubles inverses) a pour équation générale:

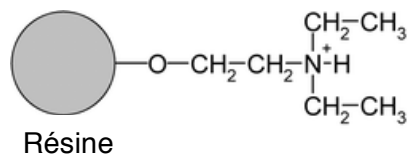
$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Document 27 :

Document 27a. Caractéristiques de la résine échangeuse d'ions.

La résine échangeuse d'ions utilisée pour séparer la chymosine de la pepsine présente les caractéristiques suivantes :

- Phase stationnaire : résine échangeuse d'ions type Fractogel® EMD DEAE (M)
- Groupements fonctionnels de la résine : Diethylaminoethyl (DEAE) dont la formule est présentée dans le document ci-dessous.

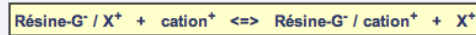


- Température optimale d'utilisation : de 4°C à la température ambiante
- pH d'utilisation : 2-13
- Capacité de fixation : 100 mg de protéine (sérumalbumine bovine) / mL de gel.
- Conditions d'élution : solution de (Na⁺, Cl⁻) de concentrations élevées.

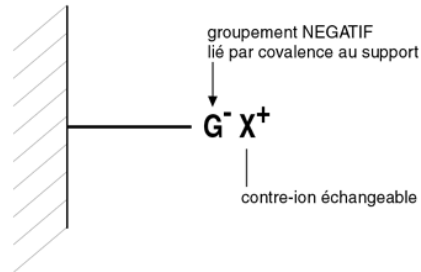
Document 27b. Principe de la chromatographie échangeuse d'ions (CEI)

Les échangeurs d'ions sont des macromolécules insolubles portant des groupements ionisables, qui ont la propriété d'échanger de façon réversible certains de leurs ions, au contact d'autres ions provenant d'une solution. On distingue :

- des résines cationiques : qui échangent réversiblement des cations.



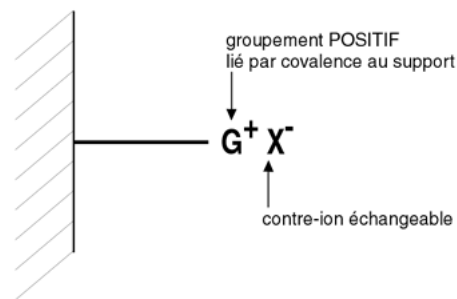
Résine échangeuse de cations (cationique) :



- des résines anioniques : qui échangent réversiblement des anions.

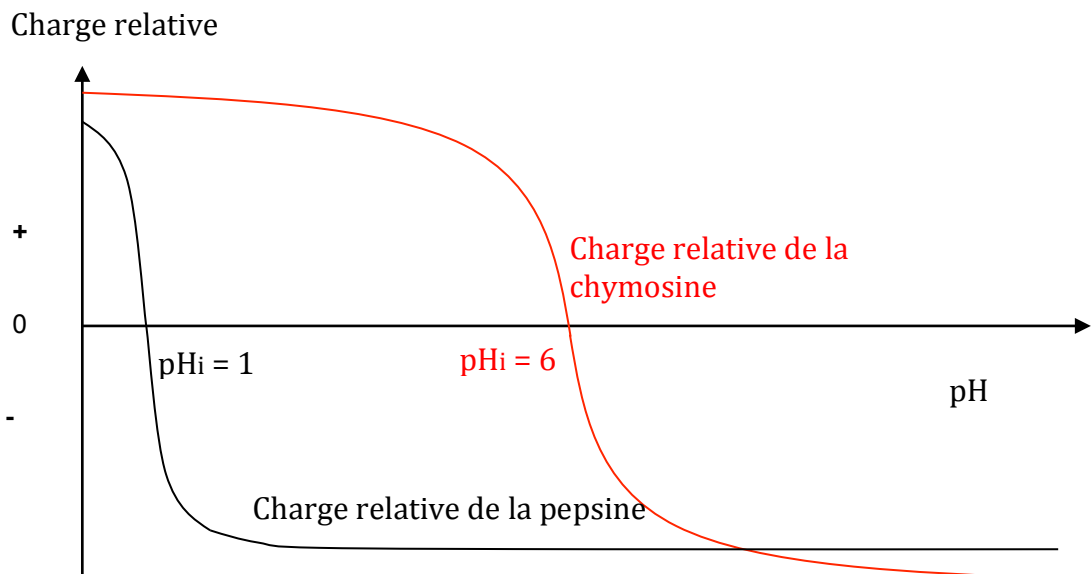


Résine échangeuse d'anions (anionique) :



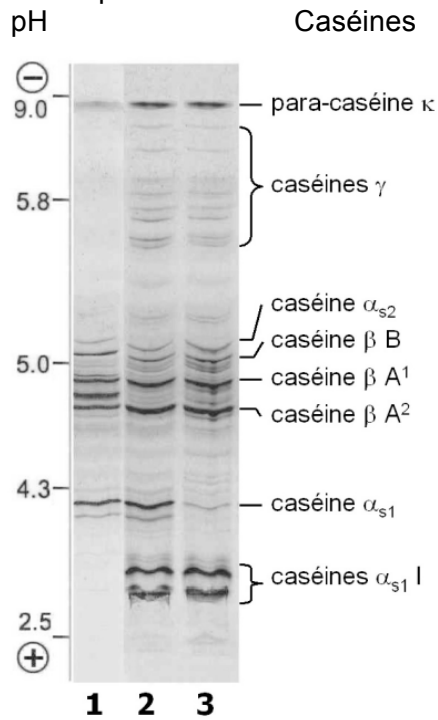
Document 27c. Courbes de charges de la chymosine et de la pepsine en fonction du pH du milieu

Document 27c : courbes des charges relatives de la chymosine et de la pepsine en fonction du pH du milieu



Document 28 : électrophorégramme (iso-électrofocalisation sur une plage de pH de 2,5 à 9,0) des protéines lactiques :

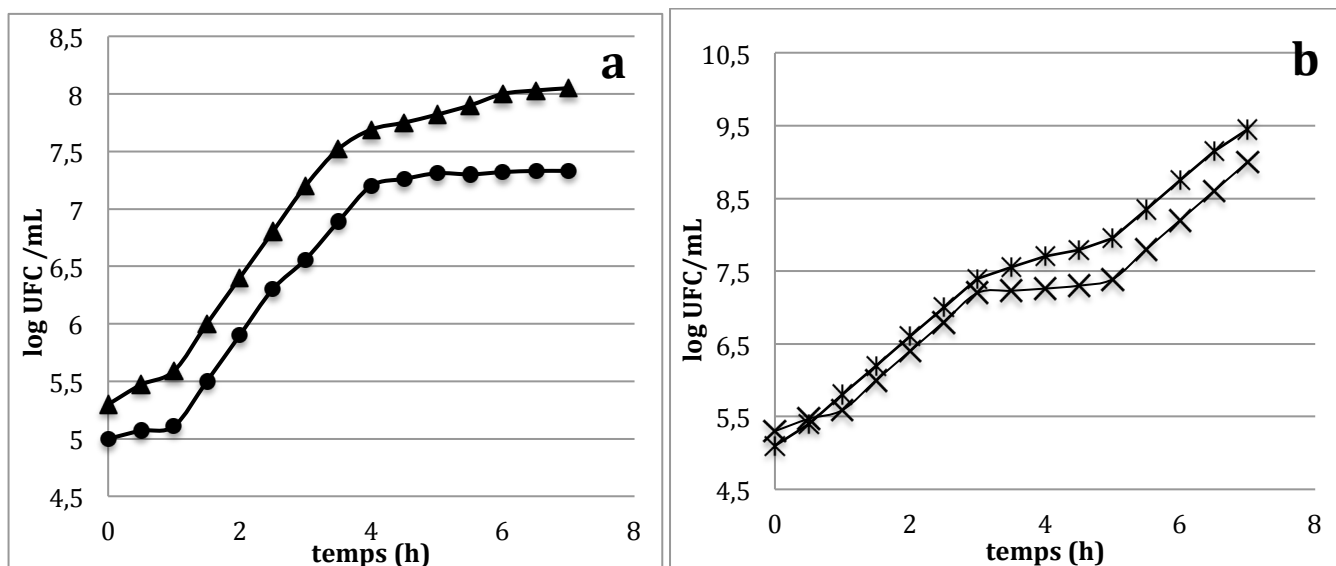
- 1 = lait cru ;
- 2 = lait cru brassé et emprésuré à 36°C ;
- 3 = lait cru brassé et emprésuré à 40°C.



Caséines α_{s1} I : fragments issus de l'hydrolyse de la caséine α_{s1}

Iso-électrofocalisation : électrophorèse permettant de séparer les protéines selon leur pH_i . En établissant un gradient de pH, la protéine s'immobilise (mobilité = 0) dans la zone du gel correspondant à son pH iso-électrique.

Document 29 : Cinétiques de croissance de *S. thermophilus* sur du lait (conditions de culture identiques)



a : souches protéase – (sans protéase de paroi) : (●) et (▲)
b : souches protéase + (souches possédant une protéase de paroi) : (×) et (*)
 (D'après Georges Corrieu, François-Marie Luquet, coord. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments, Lavoisier, 2008).

Document 30 : composition du consortium « anti-listerial » sélectionné à partir de lait cru

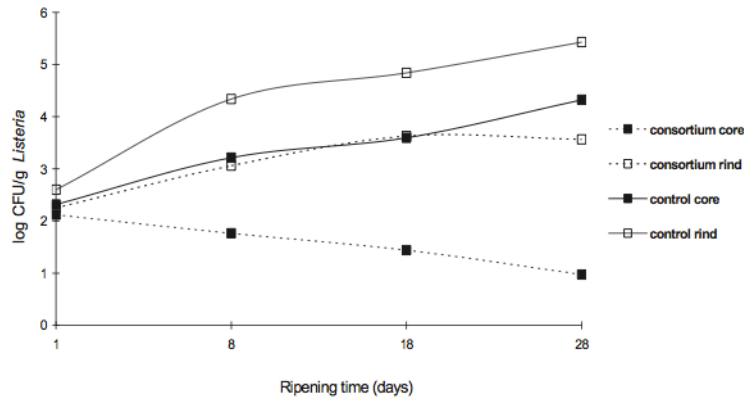
Les documents 30 à 32 sont issus de l'article Callon C., Picque D., Corrieu G., Montel M.C. Ripening conditions : A tool for the control of *Listeria monocytogenes* in uncooked pressed type cheese 2011 Elsevier Ltd.

Composition of the anti-listerial microbial consortium selected from raw milk (Callon et al., 2011).

Microbial community	Level of inoculation in milk (log cfu/mL)	Taxonomic groups
<i>Lactobacillus casei</i> (2 strains)	3,00	Lactic acid bacteria
<i>Lactobacillus curvatus</i>	3,00	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	4,00	
<i>Lactobacillus farciminis</i>	4,00	
<i>Leuconostoc citreum</i>	3,00	
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	3,00	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,50	Gram positive. Non Lactic bacteria
<i>Staphylococcus equorum</i>	2,50	
<i>Arthrobacter nicotianae</i>	3,00	
<i>Corynebacterium flavescens</i>	2,00	
<i>Corynebacterium casei</i>	2,00	
<i>Brevibacterium linens</i>	2,00	
<i>Exiguobacterium sp.</i>	3,00	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3,00	
<i>Brachybacterium rhamnosum</i>	2,00	
<i>Macrococcus caseolyticus</i>	2,00	

Raw : cru

Document 31 : Effet du consortium « anti-listerial » sur la croissance de *Listeria monocytogenes* à cœur et en surface d'un fromage à pâte pressée au cours de l'affinage.

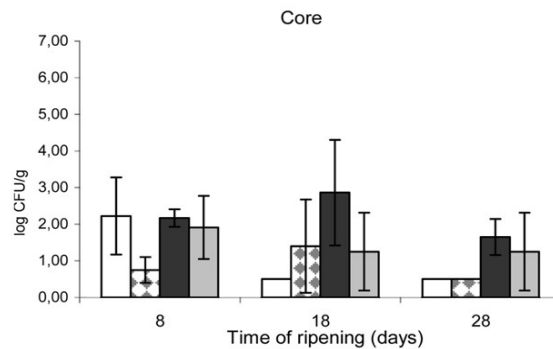


L. monocytogenes growth (log CFU/g) in core and rind of control (inoculated with *Streptococcus thermophilus* and *Penicillium commune*) and consortium cheeses (inoculated with *St. thermophilus*, *P. commune* and anti-listerial consortium) according to ripening time. Mean values obtained taking into account all the experiments (n 1/4 8) regardless of ripening temperature and relative humidity.

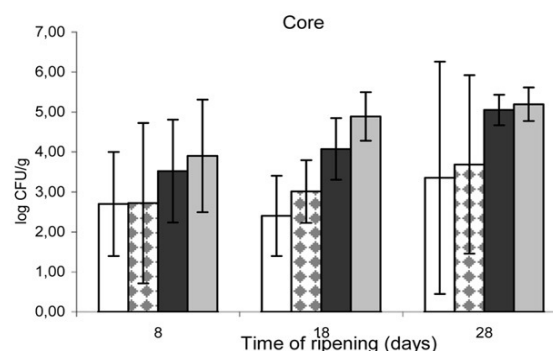
Core : cœur
Rind : cœur
Ripening : affinage

Document 32 : Effet de la température (9 et 13°C) et de l'humidité relative de l'air (93 et 97%) pendant l'affinage sur la croissance de *Listeria* au cœur du fromage en présence du consortium « anti-listerial » comparé à un témoin.

a *Listeria* counts in consortium cheeses



b *Listeria* counts in control cheeses



□ 9°C-93%RH ▨ 13°C-93%RH ■ 9°C-97%RH ▩ 13°C-97%RH

Effects of temperature (9 and 13 °C) and relative humidity (93 and 97%) on *Listeria* counts (log CFU/g) in cores of a) consortium and b) control cheeses during ripening (d8, d18 and d28).