MÉMOIRES ORIGINAUX ⁽¹⁾

LA FLORE BACTÉRIENNE DU FROMAGE DE KINGSTON D'APRÈS LES MICRO-PHOTOGRAPHIES

par Wilfrid SADLER, B.S.A., M. Sc.,

Professeur de Laiterie à l'Université de la Colombie Britannique, à Vancouver (Canada)

Le procédé employé dans la fabrication du fromage de Kingston fut étudié et décrit par TODD et SADLER en 1911 (2). Les principes généraux sur lesquels repose la fabrication des variétés à pâte dure, pressées, sont indiqués avec des modifications particulières, dans le tableau A. On produit un fromage qui, quoique ne pesant qu'une livre (0 k. 453), est à point et prêt à être consommé dix jours après sa fabrication. La période de dix jours est la période la plus courte à la fin de laquelle la maturation peut être observée. Le fromage est, à ce moment, bon pour la consommation ; mais il est plutôt plus à point et plus conforme au modèle en trois semaines ; et, s'il est conservé dans de bonnes conditions, il est encore conforme au modèle jusqu'à 6 semaines après sa fabrication (1). L'arôme est doux, et pourtant caractérisé. La pâte est molle si on la compare à celle du fromage de Cheddar, moins granuleuse que celle de la variété Cheshire, et s'étale bien sur l'appareil à essayer. La pâte et l'arôme sont tous les deux particuliers et caractéristiques.

Pendant plusieurs années, des fromages de Kingston ont été produits dans les laboratoires de l'Université de la Colombie Britannique et il y a 5 ans, fut commencée l'étude de la bactériologie de ce fromage. Une étude relative à un fromage pressé qui fermente si rapidement est évidemment intéressante. Pour une thèse nécessaire à des étudiants, Mr. C. D. KELLY, sous ma direction, fit quelques examens préliminaires de la flore bactérienne du fromage. Il continua ce travail plus tard, et ses résultats, qui sont des plus intéressants et très instructifs, ont déjà été publiés [2] et [3]. En résumé, il trouva que la flore du fromage de Kingston est très semblable, sinon identique, à celle du fromage de Cheddar, et qu'on y observe la même série de types.

Je donne ci-dessous quelques extraits de lettres de F.C. HARRISON montrant l'intérêt considérable qu'il portait aux recherches : « ... Je vous suggère aussi de faire quelques coupes de ce fromage, de façon à voir s'il

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Depuis qu'on emploie du lait pasteurisé, la fermentation dure un peu plus longtemps que précédemment.

contient des organismes du type *bulgaricus*... » [4]. « ... Il semble curieux que ces fromages arrivent si rapidement à maturation, et si vous en pouvez trouver la raison, ce sera très intéressant et cela pourra nous donner des renseignements en ce qui concerne une maturation plus rapide... » [4]. « ... Je ne pensais pas qu'un fromage de cette sorte puisse être aussi crémeux. J'ai remarqué qu'il avait à peu près un mois d'âge, et il semble curieux qu'il se soit si bien mûri pendant cette courte période de temps. Il y a certainement d'autres facteurs qui interviennent en ceci, et qui le rendent si différent d'un fromage de Cheddar ordinaire du même âge... » [4]. Plus récemment, le Dr J.A. RUDDICK et MM. Jos. BURGESS, W.A. WILSON, et J.F. SINGLETON, du Ministère Canadien de l'Agriculture, après avoir examiné le fromage, ont fait des observations en ce qui concerne la qualité, et la rapidité de maturation, très voisines de celles de HARRISON.

Etude actuelle. — C'est à l'automne de 1924 que commencèrent les examens microscopiques directs du fromage de Kingston. Six mois auparavant, et depuis que les travaux de KELLY, dont il a été question plus haut, avaient eu lieu, nous avons cessé l'emploi de lait cru pour nos études sur le fromage et adopté la pratique de pasteuriser le lait pendant 30 minutes à 142° F-145° F (= de 61° à 62°7 C environ). Cette manière de procéder, qui a prévalu, a donné de très bons résultats, et il y a tout lieu de se féliciter de ce que cette modification ait été apportée. Occasionnellement, ainsi qu'il est montré dans le tableau A, la température est montée à 146° F (= 63°33 C environ). Le lait que nous employons est très similaire comme qualité au lait certifié, et il est pasteurisé comme il est indiqué ci-dessus. Les détails de la fabrication ont été notés, ainsi que le montre l'exemple indiqué dans le tableau A, et le laboratoire a exercé un contrôle constant sur les diverses phases. On verra donc que l'étude actuelle ne s'applique qu'à des fromages faits avec du lait pasteurisé (1).

Outre l'étude microscopique poursuivie pendant les 18 derniers mois, des cultures ont été faites, et actuellement 50 cultures, partiellement au point, sont en notre possession. La plupart ont été faites sur gélose pendant plus d'un an, et sont encore très actives. Les études de ces cultures seront poursuivies.

Cependant, comme les examens microscopiques semblent déjà avoir prouvé la présence des bactéries en bâtonnets au moment où le fromage est à point, et comme cela confirme les travaux bactériolo-

(1) Pendant les 3 dernières années, les fromages de Kingston ont été entièrement faits, sous ma direction, par Mr. W. L. CARPENTER, de ce service. Je dois mes remerciements à M. CARPENTER pour l'application qu'il a montrée et les soins particuliers qu'il a pris, surtout quand nous sommes passés du lait cru au lait pasteurisé.

riques de KELLY [2] [3], c'est maintenant que nous présentons les renseignements s'y référant. En conséquence, le présent travail a trait à la partie microscopique de l'étude.

Étude microscopique. — Un certain nombre d'expérimentateurs ont conseillé, et adopté, pour l'examen microscopique du fromage, les méthodes histologiques usuelles d'ensemencement et de coupe. Pour les travaux de TRIOLI-PETERSON (1903), GORINI (1904) et RODELLA (1905), les citations de HARRISON [5] et HUCKER [6] sont suffisantes. HARRISON (1906) [5] employa les méthodes histologiques pour l'examen du fromage de Cheddar et du caillé à diverses périodes de la fabrication de ce fromage, et indique les méthodes employées. HUCKER (1921) [6] examina le Cheddar pendant la maturation par les méthodes histologiques usuelles. Il suggère que l'examen microscopique direct pourrait être employé, en étudiant non seulement les types, mais le nombre des organismes présents pendant la maturation, afin de compléter les méthodes de culture bien établies.

Dans l'étude histologique du fromage de Kingston, j'ai suivi, dans les grandes lignes, les méthodes décrites par HARRISON [5]. Des coupes de caillé ont été préparées pendant la fabrication, ainsi que des coupes de nombreux fromages arrivés à maturité. Il y eut quelques petites difficultés au début, car le caillé et le fromage sont plus mous, contiennent plutôt plus d'humidité, et sont plus fragiles, que dans le cas du caillé et du fromage de Cheddar. Assez rapidement, pourtant, des résultats très satisfaisants furent obtenus.

Outre l'examen des coupes, j'ai obtenu de très bons résultats en examinant le fromage, à n'importe quel moment après le pressage, en faisant des préparations par contact direct. Ce procédé peut être appliqué plus facilement quand on examine un fromage aussi petit que le Kingston, que lorsqu'on examine un grand Cheddar, car un fromage de Kingston en son entier est coupé à chaque examen. Des couches successives de fromage sont coupées avec des couteaux très coupants, stériles, et des lames bien polies, passées à la flamme, puis refroidies, sont posées sur le fromage. Les préparations sont fixées pendant quelques heures dans l'alcool à 96 % et quelquefois aussi sur la flamme ; elles sont desséchées dans l'étuve, placée dans le xylène, colorées comme les coupes, éclaircies dans l'essence de girofle, et montées à la manière habituelle. Les préparations par contact direct montrées dans les fig. 7-10 furent laissées dans l'essence de girofle pendant plusieurs heures et quelquefois plus d'une journée.

Procédé employé pour la fabrication du fromage. — Il n'est pas dans nos intentions de donner ici une description complète des méthodes de fabrication employées. La publication citée en [1]

est à consulter et le tableau A donne des renseignements complets. La méthode est complètement différente de celle employée dans la fabrication du fromage de Cheddar, et s'approche plus de celle employée pour la variété Cheshire. La cuisson est exécutée à une température relativement basse et, quand le sérum a été extrait, on ne permet pas au caillé de s'épaissir. Le caillé mûr est passé deux fois dans un moulin Cheshire. On applique une légère pression pendant trois heures, puis les fromages sont laissés en moules pendant 3 à 4 jours, les retournements nécessaires étant effectués convenablement, jusqu'à ce qu'ils soient en état d'être rognés et entourés de bandes.

Cultures employées. — Il est de la plus grande importance d'avoir comme « starters » des cultures appropriées. Quand on emploie du lait pasteurisé, la culture particulière employée constitue, dans une plus grande proportion même, la flore du lait dont les fromages doivent être faits. Depuis plus de 2 ans, nous avons employé des « starters » préparés avec une culture d'ERICSSON, et des cultures isolées et préparées par HAMMER [7]. Le Professeur GOLDING, de mon Service, en étudiant l'influence des cultures de HAMMER sur le lait destiné à la fabrication du fromage et sur la maturation de certaines variétés de fromage, a introduit ces cultures ici. Les résultats les plus satisfaisants dans la fabrication du fromage de Kingston ont été obtenus en employant un « starter » qui contient à peu près parties égales de cultures ERICSSON et de cultures HAMMER ou GOLDING. Les chiffres indiqués sur les tableaux, tels que D. 122, indiquent une culture spécifique préparée par HAMMER ou GOLDING. Les examens microscopiques des starters, exécutés de temps en temps, n'ont jamais montré la présence de formes en bâtonnets.

Observations. — La présence évidente des bactéries en bâtonnets, dans le fromage de Kingston mûr, est donnée par les illustrations qui accompagnent cette étude; celles-ci répondent définitivement aux valables suggestions de HARRISON, et les résultats des travaux précédents de KELLY sont confirmés. Des examens minutieux des préparations, dont les micro-photographies ont été prises, ont montré que les organismes, dans le fromage, sont répartis très irrégulièrement, et qu'on trouve beaucoup de variations dans les dimensions des colonies ou masses microbiennes. Dans une certaine mesure, certaines des photo-micrographies confirment cette observation. On n'a pas essayé de compter les organismes d'après la méthode suggérée par HUCKER. L'étude faite ici semble prouver que la valeur de sa méthode est encore une question à étudier. De plus, elle fortifie le point de vue qui veut que, lorsqu'on examine les facteurs qui déterminent la maturation réussie du fromage de KINGSTON, on tienne

compte, non seulement de la flore bactérienne prédominante, mais encore des méthodes les plus pratiques employées dans la fabrication et la maturation.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) TODD, Alec. et SADLER, Wilfrid, 1911. *The Kingston Cheese*. — Jour. Board of Agr. — XVIII 3-193-203, Londres.
- (2) KELLY, C.D., 1924. *The Bacteriology of the Kingston Cheese*. Trans. Roy. Society Can. 3^{es} séries, Vol. XVIII, p. 51-59.
- (3) KELLY, C.D., 1924. *Further Studies on the Bacterial Flora of the « Kingston Cheese »*, Jour. of Dairy Science VII. 6.
- (4) HARRISON, F.C. Communications [personnelles entre Mai 1924 et Avril 1925.
- (5) HARRISON, F.C., 1906. *The Distribution of Lactic Acid Bacteria in Curd and Cheese of the Cheddar Type*, avec 9 illustrations de micro-photographies. Trans. Roy. Socy. Can. 2^{es} séries, Vol. XII, Sec. IV, p. 83-97.
- (6) HUCKER, G.J., 1921. *The Microscopic Study of Bacteria in Cheese*. Tech. Bull. N° 87, New York Agr. Exper. Stat., Geneva.
- (7) HAMMER, B.W., et BAILEY, D.E., 1919. *The Volatile Acid Production of Starters and of Organisms Isolated from them*. Research Bull. N° 55, Agr. Exp. Sta., Ames, Iowa, — et plusieurs autres études ultérieures.

(1) Pour toutes les photo-micrographies, on a employé des oculaires à compensation et un objectif apochromatique Zeiss N° 90 (1.3) à immersion dans l'huile. Dans certains cas, on a employé un appareil Zeiss : dans d'autres, un appareil Leitz.

Chaque préparation, sauf la fig. 10, fut colorée par la méthode Gram, en employant l'éosine comme contre-colorant. En colorant la préparation montrée sur la fig. 10, le procédé Gram fut suivi et l'alcool amylique (5) employé pour la décoloration.

Préparations de l'auteur

Photo-micrographies par Percy BENTLEY.

EXAMENS MICROSCOPIQUES (1)

Coupes

FIG. 1

Caillé au moment du soutirage du sérum
(immersion; grossissement 1800 fois)

A noter des organismes ressemblant plus particulièrement aux types du *starter*, et les nombreux espaces clairs dans la structure du caillé. (Fromage fait le 28/II/24, tabl. A.)

FIG. 2

Caillé au moment du soutirage du sérum
(immersion; grossissement 1800 fois)

Des cocci par paires et des cocci en chaînettes, représentant évidemment la flore du *starter*: petites colonies, ce qui est typique dans plusieurs champs sur la plaque. (Fromage fait le 9/I/25, tabl. A.)

FIG. 3

Caillé au moment du passage au moulin (grossissement 900 fois).

Stade plus tardif de la fabrication du fromage ci-dessus. Les organismes sont beaucoup plus nombreux, et l'apparence générale donne une vue très fidèle de la lame entière (même fromage que le précédent).

FIG. 4

Fromage âgé de 3 semaines (grossissement 1800 fois).

A ce moment, le fromage est habituellement mûr et typique. Noter les bâtonnets courts et trapus. Quand les coupes furent effectuées, le fromage qui était tout à fait typique à la fois au point de vue de la pâte et de l'arôme, était bien brisé et s'étalait bien sur l'appareil à essayer.

TABLEAU A

Lait pasteurisé aux températures ci-dessous	Date de fabrication	Numéro des séries	Lait		Lait		Levain (Starter)				Levain utilisé	Lait au moment où la présure est additionnée					
			matin	soir	Poids en livres (1)	Mat-tière grasse %	Acidité %	onces par 100 livres	Poids en onces (2)	Heure de l'addition		Essai de la présure en secondes	Acidité %	Proportion de la présure en drachme par livre	Nombre de drachmes de présure (3)	Heure	Tempé-rature en degrés Fahrenheit
142°F.	28/11/24	51			100	4,9	0,9	16	15	10,05	D. 122	23	0,19	1 à 25	4	10,55	86°
145°F.	9/1/25	59			250	5,2	0,8	12	30	10,05	Ericsson	23	0,19	1 à 25	10	11,42	86°
142°F.	19/11/25	128			350	5,4	0,9	12	42	9,25	Mixed	16	0,17	1 à 25	14	10,25	87°
142°F.	27/11/25	129			315	5,6	0,74	16	50	9,18	Mixed	18	0,17	1 à 25	12,5	10,11	86°
143°F.	13/1/26	137			315	4,6	0,72	16	50	9,45	D. 144/Eric.	16	0,18	1 à 25	12,5	10,40	86°
145°F.	2/2/26	140			284	4,9	0,7	16	48	9,25	D. 20/Eric.	15	0,2	1 à 25	11,5	10,15	87°
146°F.	19/2/26	142			300	4,8	0,74	16	48	9,30	d°	17	0,17	1 à 25	12	10,18	86°
146°F.	14/4/26	150			350	4,7	0,78	16	56	9,45	d°	20	0,17	1 à 25	14	10,40	86°

Heure du découpage	Commencem ^t de l'agitation		Chauffage					Décaillage		Soutirage du sérum				Coupé en cubes et retourné		Retourné et brisé		Retourné et brisé		Retourné et brisé		
	Heure	Acidi-té %	Heure de début	Acidi-té %	Heure de la fin	Acidi-té %	Tempé-rature finale en ° F	Heure	Acidi-té %	Heures depuis le début	Heure	début acidi-té %	fin acidi-té %	Heure	Acidi-té %	Heure	Acidi-té %	Heure	Acidi-té %	Heure	Acidi-té %	
11,30	11,50	0,12	12,05	0,12	12,25	0,13	90°	12,35	0,14			1,12	0,14	0,14	1,40	0,16	2,05	0,18	2,35	0,22	2,50	0,26
12,15	12,40	0,12	12,55	0,13	1,15	0,13	90°	1,40	0,14			2,00	0,17	0,17	2,20	0,2	2,35	0,24	2,45	0,28	2,55	0,3
10,48	11,14	0,11	11,30	0,12	11,50	0,12	91°	12,15	0,13			12,30	0,13	0,14	12,50	0,15	1,05	0,17	1,30	0,19	1,50	0,22
10,38	10,58	0,11	11,15	0,11	11,35	0,11	92°	12,00	0,12			12,30	0,12	0,14	12,50	0,17	1,05	0,2	1,25	0,23	1,45	0,26
11,25	11,45	0,11	12,00	0,11	12,20	0,12	90°	12,45	0,12			1,15	0,13	0,16	1,30	0,19	1,45	0,21	2,00	0,24	2,15	0,28
11,30	11,27	0,12	11,35	0,12	11,52	0,12	91°	12,30	0,12			12,45	0,12	0,15	1,05	0,17	1,20	0,19	1,40	0,25	1,50	0,26
11,00	11,20	0,11	11,35	0,11	11,55	0,12	91°	12,20	0,12			12,40	0,13	0,16	1,00	0,18	1,15	0,2	1,30	0,22	1,40	0,25
11,20	11,40	0,11	12,00	0,11	12,20	0,11	90°	12,40	0,12			1,05	0,12	0,14	1,25	0,15	1,40	0,17	2,00	0,19	2,20	0,24

Passé au moulin						Mis en presse			Retourné				Cessation	Rognage
Heures depuis le début	Heure	Essai au fer	Acidité %	Caillé en livres	Sel en onces	Heure	Acidité %	Pression en livres	Heure	Pression en livres	Heure	Pression en livres	de la pression à :	et mise sous bandes
4,15	3,10	3/4"	0,27	16	5		3,25	0,38	5	4,30	15		6,30	2/12/24
3,33	3,15	3/4	0,32	43	14		3,30	0,47	10	4,30	20		6,30	12/1/25
4,00	2,25	3/4	0,3	59	17		3,00	0,52	15	4,00	20		6,00	3 jours
3,45	1,55	3/4	0,29	51	15		2,20	0,5	10	3,20	20		5,20	3 jours
3,40	2,20	3/4	0,29	54	15 ½		2,50	0,49	15	4,00	20		6,00	3 jours
3,50	2,05	1"	0,3	47	13 ½		2,35	0,47	10	4,00	20		6,00	3 jours
3,50	2,08	3/4	0,28	49	14		2,20	0,46	10	3,20	20		5,20	3 jours
4,00	2,40	3/4"	0,27	57	16 ½		3,00	0,4	10	4,00	20		6,00	

1 Livre anglaise = 453 grs

2 Once anglaise = 28 grs

3 Drachme = le 1/3 de l'once

FIG. 5

Fromage mûr (grossissement 1800 fois).

Excellent fromage. Noter les groupes de petits cocci par deux et par courtes chaînettes, et les groupes dispersés de cocci en bâtonnets courts et trapus. Ces derniers sont caractéristiques de nombreux champs des préparations examinées. (Fromage fait le 19/II/25, tabl. A.)

N. B. — Une culture faite avec ce fromage produisit des bâtonnets et de grands cocci ovoïdes; quelques-uns de ces derniers solubilisent rapidement le lait.

FIG. 6

Fromage mûr (grossissement 1800 fois)

La plaque fut examinée très complètement; les organismes caractéristiques et le groupement des types prédominants dont il est question au paragraphe ci-dessus sont montrés très grossis. (Fromage fait le 19/II/25, Tabl. A.)

Plaques par contact direct

FIG. 7

Fromage mûr (âgé de 7 semaines) (grossissement 900 fois)

Fromage fabriqué le même jour que celui examiné ci-dessus, mais plus vieux de 2 ou 3 semaines. Une très grande colonie de bâtonnets peut être observée : d'autres parties des préparations montrent des colonies plus petites de bâtonnets identiques. Comparer cette fig. avec la fig. 6 ci-dessus. Fromage fait le 19/II/25.

N. B. — En ensemençant directement du fromage dans du lait le jour où la préparation fut faite, on obtint, en maintenant à 40°, un beau caillé solide : par cultures successives dans le lait, de grands cocci ovoïdes, qui solubilisent le lait, furent obtenus ; ceci, malgré le fait que les formes en bâtonnets prédominaient en apparence à ce moment.

FIG. 8

Fromage mûr (âgé de 5 semaines $\frac{1}{2}$) (grossissement 900 fois)

C'était un excellent fromage. Les bâtonnets sont en petites colonies et isolés. (Fromage fait le 27/II/25, tabl.A.)

FIG. 9

Fromage mûr âgé de 5 semaines 1/2 (grossissement 900 fois)

Une autre vue de la préparation dont fut tirée la fig. 8. Il semble qu'on ait une culture pure de formes en bâtonnets. Les masses, les colonies, et les simples cellules sont à observer. On peut voir, sur la fig. 8 ci-dessus, que la plaque n'était pas aussi couverte, qu'elle l'est ici. (Fromage fait le 27/II/25, tabl. A.)

N. B. — Des ensemencements directs de fromage dans du lait, au moment où la préparation fut faite, donnèrent un beau caillé solide, en maintenant à 40°. L'examen microscopique montra que le caillé était, en apparence, une culture pure de bâtonnets prenant le Gram. Comparez avec les commentaires faits en décrivant la fig. 7.

FIG. 10

Fromages mûr âgé de 6 semaines (grossissement 900 fois)

Bon fromage. Noter que les bâtonnets varient en longueur et en épaisseur. Quelques exemplaires de cocci ovoïdes, simples ou à courtes chaînes, peuvent être vus. Dans d'autres vues de la même plaque, on a observé des bâtonnets plus longs et plus épais.