LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

J. HERMIER. — Une méthode applicable au contrôle industriel de la qualité bactériologique du lait stérilisé en bouteilles 241

G. CHINTESCO, C. TOMA et I. IONESCO. — Recherche sur la fabrication, en Roumanie, du fromage « Télèmea », de lait de brebis 263

L. SERRES, S. AMARIGLIO, L. BENARD et D. ROBINET. — Contribution à l'étude des méthodes de recherche des neutralisants dans les poudres de lait écrémé (*fin*) 273

REVUE :

G. GÉNIN. — Le lait dans le monde 289

Bibliographie analytique :

1^o Les livres 296

2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 310
3^o Brevets 339

Bulletin bibliographique :

1^o Les livres 342
2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 343

Documents et informations :

Y. GANDON. — La situation laitière 347
Panorama du lait à travers les âges. A propos des « Tal-mouses » 350
Journée d'information sur la traite collective en Moselle 358
Lait en poudre : évolution du commerce 361
Lait écrémé dans l'alimentation des animaux (*fin*) 362
Annuaire du froid 368
Communication 368

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

UNE MÉTHODE APPLICABLE AU CONTRÔLE INDUSTRIEL DE LA QUALITÉ BACTÉRIOLOGIQUE DU LAIT STÉRILISÉ EN BOUTEILLES

par
J. HERMIER

Station Centrale de Microbiologie et de Recherches Laitières
Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise)

I. — INTRODUCTION

La législation française prévoit que tout lait vendu sous la dénomination de lait stérilisé ne doit contenir aucun germe vivant.

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

D'après cette définition, le lait stérilisé en bouteilles, vendu en France, appartient à la catégorie des conserves faiblement acides (conserves à pH au-dessus de 4, de la classification de BUTTIAUX [6]), et l'examen bactériologique du lait stérilisé suit les règles de l'examen bactériologique des conserves.

Cet examen doit résoudre deux problèmes fondamentaux :

- l'échantillonnage, c'est-à-dire la détermination du nombre de récipients à prélever, par lot de fabrication, en vue de l'analyse,
- la détection des récipients non-stériles dans les échantillons prélevés.

La question de l'échantillonnage a été traitée par THOMAS et CHEFTEL [28], par MOSSEL [16] dans le cas des conserves en général, et par MOSSEL et DRION [17] dans le cas particulier du lait stérilisé. L'examen bactériologique proprement dit a été étudié par BUTTIAUX et al. [7] et par MOSSEL et DRION [17]. Ici nous nous occuperons seulement du contrôle de fabrication par le laboratoire de l'usine, qui doit non seulement s'assurer que le lot de fabrication étudié répond bien aux normes mais aussi être en mesure de détecter rapidement un dérèglement éventuel de la fabrication.

Rappelons que l'examen bactériologique, dans le cas du lait stérilisé, comporte une incubation préliminaire des bouteilles de l'échantillon à une température permettant la multiplication rapide de la cellule issue de la spore germée. Les germes sporulés que l'on peut rencontrer dans le lait stérilisé appartiennent au point de vue de la température de croissance à deux groupes distincts : les mésophiles capables de se multiplier à 30° C (et non à 55° C), les thermophiles capables de se multiplier à 55° C. Il est donc indispensable de diviser l'échantillon en deux moitiés : l'une incubée à 55° C et l'autre à 30° C.

La recherche des thermophiles est fort simple : au cours des 10 jours pendant lesquels les bouteilles sont incubées à 55° C, un développement bactérien éventuel est accompagné d'une coagulation acide du lait. Théoriquement la stérilité des bouteilles non-coagulées à la fin de l'incubation doit être contrôlée par un ensemencement sur milieu bactériologique à partir du contenu des bouteilles. Mais, en fait, les bouteilles qui, après 10 jours d'incubation ne présentent pas d'altération visible, sont stériles (HERMIER [13], PEYLET [22], THIEULIN et al. [27]). Donc, l'examen visuel des bouteilles à la fin de la période d'incubation est suffisant.

La recherche des mésophiles est beaucoup plus laborieuse. Tout d'abord, la période d'incubation est plus longue que dans le cas de la recherche des thermophiles : 18-20 jours, d'après BUTTIAUX et al. [7], 3 à 4 semaines d'après MOSSEL et MOL [18]. D'autre

part, le développement microbien n'est pas obligatoirement accompagné de modifications visibles du lait ; le contrôle de la stérilité par ensemencement sur milieu bactériologique est donc ici obligatoire. Parmi les sporulés mésophiles présents dans le lait stérilisé, la proportion d'anaérobies est faible ou nulle (BUTTIAUX et al. [7], BRETON et GAUTIER [4], GALESLOOT et LABOTS [10]) ; aussi, pour le contrôle à l'usine, il est possible de se contenter d'un ensemencement en aérobie sur un milieu convenable.

Cette méthode de recherche des mésophiles présente, pour le laboratoire de contrôle, des défauts majeurs. L'un d'entre eux réside dans la nécessité de contrôler la stérilité des bouteilles par un ensemencement. L'ouverture et le prélèvement doivent se faire avec le maximum de précautions d'asepsie pour ne pas contaminer le lait prélevé. Aussi BUTTIAUX [6] préconise-t-il l'emploi d'une hotte stérile à l'intérieur de laquelle s'effectuent les opérations d'ensemencement. MOSSEL et DRION [17], à partir de l'analyse statistique de 50 essais « à blanc », ont établi, pour leur laboratoire, des normes d'interprétation des résultats.

Cependant, même en supposant les difficultés techniques de l'ensemencement résolues, le principal défaut demeure : la durée de l'analyse qui demande pratiquement un mois. Ce délai est incompatible avec les exigences du contrôle régulier qui ne peut être utile qu'à la condition de donner une réponse rapide.

Dans ce qui suit, nous nous proposons d'étudier une méthode de contrôle qui facilite la recherche des spores de mésophiles, en raccourcissant la période d'incubation des bouteilles à 30° C et en supprimant l'obligation de l'ensemencement bactériologique à partir du contenu des bouteilles en fin d'incubation. Pour cela, nous avons étudié dans quelles conditions on pouvait appliquer au contrôle bactériologique du lait stérilisé, la technique dite du « supplément » précédemment décrite [12].

Rappelons cette technique : elle consiste à ajouter au lait, avant sa stérilisation définitive, un supplément constitué par une solution contenant de l'extrait de levure, du glucose, de la soude pour élever le pH du lait à 7,0-7,1, et du pourpre de bromocrésol. Après leur stérilisation, les bouteilles additionnées du supplément sont mises à incuber pendant 6 jours à 30° C ; la couleur des bouteilles non-stériles vire du bleu au vert, par suite de l'acidification due à la fermentation rapide du glucose.

Les essais qui ont permis de mettre au point la formule du supplément ont montré que, dans le cas d'un lait chauffé à 120° C, pendant 6 à 10 secondes, le pourcentage d'échantillons stériles n'était pas modifié par l'addition du supplément. Mais dans le cas du lait stérilisé commercial, les spores, présentes dans le lait, sont

soumises à un chauffage beaucoup plus fort que celui utilisé pour la mise au point du supplément (120° C, 6 à 10 secondes). Or, la thermorésistance des spores fortement chauffées est fonction de la composition du milieu de subculture, qui permet la germination des spores et la multiplication végétative ; comme l'introduction du supplément modifie à la fois le milieu de chauffage et le milieu de subculture, il est indispensable de vérifier si la thermorésistance des spores chauffées dans le lait est différente de celle des spores chauffées dans le lait avec supplément. De plus, les spores fortement chauffées peuvent présenter le phénomène de « dormancy » (FOSTER et WYNNE [9]), c'est-à-dire germer avec un retard considérable ; il faut donc vérifier que la période d'incubation proposée (6 jours) est suffisante.

II. — TECHNIQUES

1) Milieux de culture bactériologiques.

— Gélose nutritive : extrait de viande (Lab-Lemco) 10 g, ClNa 5 g, gélose 28 g, eau 1.000 ml ; pH final 7,0.

— Milieu de MOSSEL [17] : tryptone (Difco) 5 g, extrait de levure (Yeastrel) 2,5 g, amidon soluble 1 g, glucose 1 g, gélose 15 g, eau 1.000 ml ; pH final 7,0.

— Bouillon peptoné : peptone (Evans) 10 g, extrait de viande (Lab-Lemco) 5 g, ClNa 5 g, eau 1.000 ml ; pH final 7,0.

2) Composition du supplément.

Des essais préliminaires ont montré que la concentration en pourpre de bromocrésol employée précédemment (concentration finale dans le lait : 25 mg/l) se révélait trop faible dans le cas du lait autoclavé. En effet, la couleur pâlit au cours de l'autoclavage et ne permet plus d'apprécier à l'œil une modification de la coloration du lait pour une diminution de 0,2 unité pH. La concentration dans le lait du pourpre de bromocrésol a donc été portée à 75 mg/l. On a observé alors qu'une variation de 0,2 unité pH ne produit pas le changement de teinte du bleu au vert caractéristique du pourpre de bromocrésol, mais une diminution de l'intensité de la coloration qui est facile à percevoir au simple examen visuel.

La composition du supplément est la suivante : glucose 100 g, extrait de levure (Yeastrel) 100 g, pourpre de bromocrésol 1,5 g, eau distillée 1.000 ml ; pH avant stérilisation 7,0.

On trouvera les détails de la préparation du supplément dans le paragraphe VI « Technique d'utilisation du supplément ».

3) Préparation des flacons de lait incomplètement stérilisés.

Des bouteilles, contenant 850 ml de lait, sont prélevées à la sortie de la capsuleuse sur une chaîne industrielle de stérilisation du lait en bouteilles, et après refroidissement à 20° C, transportées au laboratoire. Le lait ainsi prélevé est un lait entier, homogénéisé mais non-stérile, puisqu'il renferme les contaminations apportées par l'opération d'embouteillage.

On répartit le contenu de chaque bouteille, également, entre deux flacons à plasma stériles, de 500 ml de capacité, l'un vide, l'autre contenant 25 ml de supplément et 8 ml d'une solution de soude N, stérile.

Les flacons ainsi préparés, sont, après immersion pendant 10 minutes dans un bain-marie à 100° C, chauffés à 110° C, dans un autoclave, par séries de 8 flacons. Les temps de montée et de descente en température, dans l'intervalle 100-110° C, sont les mêmes pour toutes les séries de flacons. Le temps de maintien à 110° C sera considéré dans les résultats comme le « temps de chauffage ». Après l'autoclavage, les flacons sont refroidis par immersion dans l'eau à 20° C.

4) Préparation du lait stérile.

— *Lait stérilisé à ultra-haute-température.*

Du lait écrémé, non homogénéisé, est traité dans un stérilisateur à ultra-haute-température. Cet appareil est un modèle réduit, adapté aux besoins du laboratoire, du prétéristeur industriel Laguillharre (HERMIER et al. [14]). Le lait, après un chauffage à 140° C pendant 6 à 10 secondes, est recueilli aseptiquement en flacons de 500 ml et conservé à 4° C, jusqu'à l'emploi.

— *Lait autoclavé.*

Des flacons à plasma contenant 150 ml de lait stérilisé à ultra-haute-température sont autoclavés à 115° C pendant 15 minutes, dans un autoclave alimenté à la vapeur sous-pression et refroidi par air, permettant ainsi d'obtenir des conditions reproductibles de chauffage.

5) Incubation et examen bactériologique des laits après incubation.

Sauf indication contraire, l'incubation des échantillons de lait a lieu à 30° C pendant 15 jours pour le lait avec supplément et pendant 21 jours pour le lait sans supplément. Dans tous les essais, les échantillons de lait (flacons à plasma, tubes, ampoules) subissent

après incubation un examen bactériologique systématique, comportant l'examen d'un frottis de lait et un ensemencement :

— *Frottis* : après séchage du frottis de lait et fixation à l'alcool, la lame est recouverte pendant 5 minutes, d'une solution de bleu de méthylène alcoolique (0,5 g de bleu de méthylène dans 100 ml d'alcool à 95°), puis lavée à l'eau.

— *Ensemencement* : en stries sur milieu de MOSSEL en boîte de Pétri ; la lecture des boîtes est effectuée après une incubation de 72 heures, à 30° C.

6) Préparation des spores.

a) Origine des souches.

150 souches de *Bacillus* ont été isolées à partir des flacons de lait incomplètement stérilisés et reconnus non-stériles après incubation à 30° C. Des suspensions de spores préparées à partir de ces souches ont été testées pour leur thermorésistance par un chauffage dans le lait à 115° C pendant 15 minutes. On a retenu pour les essais exposés ci-dessous les souches, au nombre de 15, pour lesquelles, le pourcentage de spores survivantes était supérieur à 10⁻⁴.

b) Identification des souches.

Les 15 souches ont été identifiées en utilisant les méthodes préconisées par SMITH et al. [24]. Elles appartiennent à deux espèces :

— *Bacillus subtilis* : nos 60, 61, 79, 103, 105, 180, 182, 189, 190, 226, 290, 322, 343.

— *Bacillus licheniformis* : nos 179, 337.

c) Préparation des spores.

2 ml d'une culture de 18 heures en bouillon peptoné sont étalés à la surface d'une couche de gélose nutritive en boîte de Roux. Les boîtes de Roux sont placées à 30° C, pendant 8 jours, au bout desquels, la culture est constituée par des spores libres et quelques cellules végétatives non-sporulées. La culture est alors récoltée à l'aide d'une raclette en verre et transférée dans un flacon à plasma contenant 200 ml d'eau et une cinquantaine de billes de verre de 2,5 mm de diamètre. Après la récolte, les flacons sont agités sur un agitateur à secousses (100 coups à la minute) pendant 15 minutes ; cette agitation est suffisante pour disperser les amas de spores.

Les flacons de spores sont conservés à 4° C pendant un mois, pour permettre la lyse complète des cellules végétatives non-sporu-

lées ; puis les spores sont lavées cinq fois, par centrifugation à 4° C avec de l'eau stérile. Le culot de centrifugation, après sa remise en suspension dans de l'eau, est, avant une nouvelle centrifugation, soumis à une agitation en présence de billes de verre comme plus haut. Les suspensions de spores lavées sont conservées à 4° C, jusqu'à l'emploi. Avant tout prélèvement dans un flacon contenant la suspension de spores, ce dernier est agité comme il est dit plus haut, pour disperser les amas de spores.

7) Thermorésistance des spores.

a) Milieux de chauffage.

— *Lait (L)* : lait stérilisé à ultra-haute-température.

— *Lait à pH 7 (L7)* : le lait L est neutralisé à pH 7 à l'aide d'une solution de soude stérile N/2 ; le pH est contrôlé à l'électrode de verre.

— *Lait avec supplément (LS)* : on ajoute au lait L 5% du supplément.

— *Lait avec supplément à pH 7 (LS7)* : le lait, après addition du supplément, est neutralisé à pH 7, comme le lait L7.

— *Tampon phosphate M/15, pH 6,5 (T)*.

— *Tampon phosphate M/15, pH 7 (T7)*.

b) Chauffage des spores.

Les milieux de chauffage précédents, inoculés avec 10% en volume d'une suspension de spores, sont répartis en tubes de 100 × 10 mm en verre ordinaire, à raison de 1 ml par tube. Les tubes sont scellés à la flamme, de façon à former des ampoules de 50 mm de longueur, puis immergés dans un bain-marie de glycérine dont la température est de $115 \pm 0,15^\circ \text{C}$. Le temps de chauffage correspond au temps de maintien des ampoules dans le bain-marie, diminué de 2 minutes 30 secondes, temps qui correspond à la montée en température du contenu de l'ampoule. A la fin du chauffage, les ampoules sont retirées du bain-marie et immergées dans l'eau froide ; après complet refroidissement, elles sont essuyées, séchées, ouvertes aseptiquement avec une pince et leur contenu estensemencé avec ou sans dilution préalable.

c) Numération des spores après chauffage.

— *En milieu solide* : les dilutions sont effectuées en tampon phosphate M/15 pH 7 etensemencées en triple dans le milieu de

MOSSEL en boîte de Pétri. La numération des colonies est effectuée après trois jours d'incubation à 30° C.

— *En milieu liquide (lait)* : les dilutions sont effectuées dans le lait, et ensemencées (1 ml) dans des tubes vissés renfermant 9 millilitres de lait, à raison de 5 tubes par dilution. Après une incubation de 21 jours à 30° C, on procède à l'examen bactériologique du contenu de chaque tube. Le nombre de spores le plus probable est déterminé à l'aide des tables de HOSKINS [15], les tubes comptés comme positifs sont les tubes non-stériles.

III. — RÉSULTATS

A. Contrôle des flacons de lait incomplètement stérilisés.

Le but de cette série d'essais était de comparer, sur des fabrications de lait incomplètement stérilisé, la méthode du supplément à la méthode de contrôle habituel (incubation et ensemencement).

Pendant l'incubation à 30° C, les flacons étaient examinés journellement, de façon à noter le moment où apparaissait une altération visible pour les flacons de lait, ou un virage du pourpre de bromocrésol pour les flacons de lait avec supplément. A la fin de la première et de la deuxième semaine d'incubation, les flacons de lait altérés et les flacons de lait avec supplément virés, étaient retirés de l'étuve pour le contrôle bactériologique. A la fin de la troisième semaine, les flacons restants subissaient à leur tour le contrôle bactériologique.

Le tableau I indique la répartition des flacons suivant leur stérilité (déterminée par le contrôle bactériologique) et leur aspect physique (altération ou virage). L'étude statistique des résultats montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les pourcentages de flacons de lait L non-stériles et les pourcentages de flacons de lait LS virés.

En ce qui concerne les flacons de lait non-stériles, l'altération du lait s'est produite entre le quatrième et le seizième jour d'incubation ; à la fin des 21 jours d'incubation, la proportion de bouteilles non encore altérées (quoique non-stériles) était importante : 24,7 %. Dans le cas des flacons de lait avec supplément non-stériles, le virage s'est produit entre le troisième et le sixième jour d'incubation, à l'exception de 4 flacons sur 90 (soit 4,4 %) ; sur ces 4 flacons, 2 ont viré au dixième jour d'incubation, et les 2 autres n'étaient pas virés à la fin des 21 jours d'incubation.

Done, dans des conditions modérées de chauffage, l'introduction du supplément et la modification du pH du lait n'apportent pas de modification dans la proportion de flacons non-stériles, et la

TABEAU I
INFLUENCE DE L'ADDITION DU SUPPLÉMENT
ET DE LA NEUTRALISATION DU LAIT,
SUR LE NOMBRE DE FLAONS STÉRILES, APRÈS UN CHAUFFAGE A 110° C

Catégories de flacons	Nombre de flacons chauffés à 110° C pendant un temps (en mn) de :					Nombre total de flacons	% du nombre de flacons	
	4	6	8	10	12		Chauffés	Non stériles
<i>Lait :</i>								
non-stériles	21	16	19	14	7	77	50,3	100,0
— altérés (1) ...	16	13	12	12	5	58		75,3
— non-altérés (1)	5	3	7	2	2	19		24,7
stériles (1)	7	9	19	19	22	76	49,7	
Total	28	25	38	33	29	153	100,0	
<i>Lait avec supplé- ment à pH 7,0 :</i>								
non-stériles	23	18	22	20	7	90	58,9	100,0
— virés (2)	23	17	21	19	6	86		95,6
— non-virés (2) .	0	1	1	1	1	4		4,4
stériles (1)	5	7	16	13	22	63	41,1	
Total	28	25	38	33	29	153	100,0	

(1) Après 21 jours d'incubation à 30° C

(2) Après 6 jours d'incubation à 30° C

TABEAU II
INFLUENCE DU SUPPLÉMENT ET DE LA NEUTRALISATION DU LAIT
SUR LE TEMPS MINIMUM DE STÉRILISATION PAR UN CHAUFFAGE A 115° C

Numéro de souche	Temps minimum (en mn) pour stériliser des ampoules * de		Numéro de souche	Temps minimum (en mn) pour stériliser des ampoules * de	
	Lait L	Lait LS7		Lait L	Lait LS7
60	16	28	189	18	28
61	18	30	190	16	32
79	22	34	226	20	28
103	22	32	290	16	30
105	18	26	322	18	32
179	18	30	337	14	22
180	22	32	343	20	36
182	16	22			

* Les ampoules contiennent 10⁶ spores dans un millilitre de lait.

TABLEAU III
INFLUENCE DU SUPPLÉMENT ET DE LA NEUTRALISATION
SUR LA THERMORÉSISTANCE DES SPORES

Numéro de souche	Nombre de spores (1) après un chauffage de (en mn)				Numéro de souche	Nombre de spores après un chauffage, de (en mn)			
	10	15	20	25		10	15	20	25
60 ..	300*	60	15	2	189	450*	150	20	1
	200	18	1	0		250	52	1	0
61 ..	350	50	37	25	190	> 1.000	330	60	14
	300	11	20	1		> 1.000	150	4	1
79 ..	> 1.000	600	150	35	226	850	530	180	28
	> 1.000	280	65	4		> 1.000	165	35	9
103 ..	> 500	400	140	9	290	> 1.000	215	75	22
	> 500	200	9	4		500	51	0	0
105 ..	500	67	8	5	322	> 1.000	> 1.000	350	120
	163	22	2	0		> 1.000	900	33	14
179 ..	400	160	55	1	337	80	2	3	0
	250	80	5	1		37	1	0	0
180 ..	> 1.000	> 1.000	500	80	343	> 1.000	500	320	72
	> 1.000	560	50	10		> 1.000	130	93	5
182 ..	35	5	0	0					
	13	1	0	0					

(1) Nombre initial de spores ; 10⁶

* Première ligne. — Chauffage en lait LS7.

Deuxième ligne. — Chauffage en lait L.

période d'incubation de 6 jours est suffisante pour détecter la presque totalité (95,6%) des flacons non-stériles de lait avec supplément. Ces résultats confirment ceux déjà obtenus (HERMIER) [12].

B. Thermorésistance des spores dans le lait.

Dans cette deuxième série d'essais, on a étudié l'influence éventuelle de l'addition du supplément ou de la modification du *pH* sur la thermorésistance des spores de souches de *Bacillus subtilis* et de *Bacillus licheniformis*, inoculées dans le lait avant chauffage.

1. *Essais préliminaires.*

Des ampoules contenant chacune un million de spores en suspension dans 1 millilitre de lait L ou LS7, étaient chauffées à 115° C. A des intervalles de deux minutes, deux ampoules étaient retirées du bain-marie et, après refroidissement, incubées à 30° C. Comme on peut le constater dans le tableau II, le temps minimum de chauffage nécessaire pour stériliser les ampoules de lait est beaucoup plus long pour les ampoules de lait avec supplément LS7, que pour les ampoules de lait L.

Le même essai a été repris, avec une technique légèrement différente en ensemençant le contenu des ampoules en milieu de MOSSEL, immédiatement après le chauffage. On constate, dans le tableau III, que la différence entre les deux catégories de lait, L et LS7, persiste : le nombre de spores survivantes est plus élevé quand les spores sont chauffées dans le lait avec supplément LS7.

Ces essais préliminaires montrent que la thermorésistance des spores de *Bacillus* est augmentée par l'addition du supplément et la modification simultanée du pH. Parvenu à ce stade, nous avons décidé d'étudier l'influence respective du supplément et du pH en cherchant à préciser, si cette influence se manifestait au cours du chauffage ou au cours de la germination, ou pendant les deux à la fois.

Les conditions de chauffage ont été fixées à 115° C pendant 15 minutes.

2. *Influence du milieu de germination.*

Les spores ont été chauffées dans trois milieux différents : lait L, lait LS7 et lait LS. La numération des spores survivantes est effectuée par deux procédés distincts :

— *Numération par dilution en milieu liquide.* — Celui-ci a la même composition que le milieu de chauffage, c'est-à-dire respectivement : lait L, lait LS7 et lait LS, mais ici le lait est du lait autoclavé (15 minutes à 115° C). Avec cette technique, les conditions de chauffage et de germination correspondent aux conditions de contrôle du lait stérilisé, soit par la méthode usuelle (lait L), soit par l'utilisation du supplément avec (LS7) ou sans (LS) modification du pH.

— *Numération en milieu solide de MOSSEL.* — La concentration initiale en spores dans le lait est choisie de façon à n'amener dans le milieu de numération qu'au maximum 1% du lait contenu dans l'ampoule de chauffage.

Le tableau IV montre que le nombre de spores survivantes est le même dans le lait et dans le milieu solide de MOSSEL. On peut donc

TABLEAU IV
INFLUENCE DU MILIEU DE NUMÉRATION
SUR LE NOMBRE DE SPORES SURVIVANTES

Numéros des souches	Nombre initial de spores ($\times 10^6$)	Nombre de spores après chauffage dans					
		L		LS7		LS	
		Milieu de numération		Milieu de numération		Milieu de numération	
		L*	Mosssel	LS7*	Mosssel	LS*	Mosssel
60 ...	57,4	210	260	2.400	2.880	2.000	1.900
61 ...	36,9	1.700	2.100	20.000	16.400	11.000	13.700
79 ...	16,6	1.300	2.073	31.000	22.000	3.400	1.800
103 ...	5,9	130	163	700	1.080	980	320
105 ...	22,0	400	427	1.250	1.500	920	876
179 ...	22,0	2.300	2.261	17.000	19.000	23.000	19.700
180 ...	23,4	3.100	3.210	11.000	18.800	3.200	3.700
182 ...	60,0	2.200	2.610	700	1.130	1.200	4.600
189 ...	45,6	23	53	680	1.070	2.000	1.530
190 ...	41,4	170	145	11.600	12.200	23.000	24.300
226 ...	40,1	310	689	6.900	7.310	1.400	1.590
290 ...	52,0	400	480	4.400	2.500	680	762
322 ...	2,88	360	690	560	950	1.300	1.110
337 ...	22,7	210	210	13.000	15.600	2.200	2.500
343 ...	35,2	1.490	2.300	24.000	26.250	1.400	1.140

* Le lait a été autoclavé à 115° C pendant 15 minutes.

estimer que les constituants apportés par le supplément ne modifient pas, pour les souches étudiées, les conditions de germination des spores fortement chauffées. D'autre part le lait ordinaire L, constitue pour la germination de ces spores fortement chauffées un milieu au moins aussi favorable que le milieu de MOSSEL. C'est donc la modification du milieu de chauffage qui augmente la thermorésistance des spores, et il est possible d'étudier l'influence du milieu de chauffage en utilisant le milieu de MOSSEL pour toutes les numérations de spores survivantes.

L'examen journalier des tubes de lait LS et LS7, dans le cas de la numération en milieu liquide, a montré que 98% des tubes virés à la fin des 15 jours d'incubation viraient en fait entre le quatrième et le sixième jour d'incubation. Les tubes non virés à la fin de l'incubation étaient, à l'exception de 2,5% d'entre eux, tous stériles. Six jours d'incubation sont donc suffisants pour détecter un virage éventuel.

TABLEAU V
TABLE DES VALEURS D
EN FONCTION DE LA NATURE DU MILIEU DE CHAUFFAGE

Numéro de souche	D _T (1)	D _L	D _{LS}	D _{T7}	D _{L7}	D _{LS7}
60	3,23	2,81	3,35	3,55	3,08	3,49
61	4,11	3,53	4,37	5,02	3,90	1,47
79	4,34	3,84	5,06	5,86	4,06	5,21
103	4,50	3,29	3,52	6,25	4,45	4,14
105	3,50	3,18	3,41	4,29	3,79	3,60
179	3,46	3,76	4,92	3,80	4,04	4,90
180	5,22	3,89	3,95	4,57	4,64	4,85
182	3,19	2,80	3,64	3,53	3,19	3,17
189	2,67	2,59	3,35	2,93	2,82	3,24
190	3,35	2,75	4,64	3,78	2,86	4,25
226	3,40	3,15	3,37	4,04	4,12	4,01
290	2,97	2,98	3,98	2,99	3,77	4,52
322	4,44	4,14	4,39	5,48	5,01	4,31
337	3,37	3,06	5,07	3,26	3,82	4,38
343	3,45	2,79	3,32	3,80	4,22	3,76
Moyenne	3,65	3,28	4,02	4,21	3,85	4,15

(1) Les lettres figurant en indice des valeurs D correspondent aux symboles des milieux de chauffage.

3. Influence du milieu de chauffage.

Pour comparer les milieux de chauffage, nous utilisons la valeur D (BALL et OLSON) [3]. Rappelons que, dans le cas général, la courbe du nombre de spores survivantes en fonction du temps de chauffage à une température donnée est linéaire quand on porte en ordonnées le logarithme décimal du nombre de spores survivantes et en abscisses la durée du chauffage. Si N_0 est le nombre initial de spores, N le nombre de spores survivantes après un chauffage de t minutes, on a

$$\log \frac{N_0}{N} = \frac{t}{D}$$

D étant une constante appelée temps de réduction décimale (Decimal Reduction Time ou DRT dans la littérature anglo-saxonne).

Ainsi, à une augmentation de la valeur D correspond une augmentation du nombre de spores survivantes, donc une augmentation de la thermorésistance.

TABLEAU VI
COMPARAISON DES VALEURS D
EN FONCTION DU MILIEU DE CHAUFFAGE

Numéro de souche	D_{T7}/D_T	D_{L7}/D_L	D_{LS7}/D_{LS}	D_{LS}/D_L	D_{LS7}/D_{L7}	D_{LS7}/D_L	D_{T7}/D_L
	1	2	3	4	5	6	7
60	1,10	1,10	1,04	1,19	1,13	1,24	1,27
61	1,22	1,10	1,02	1,24	1,15	1,27	1,42
79	1,35	1,06	1,03	1,32	1,28	1,36	1,52
103	1,39	1,35	1,18	1,07	0,93	1,26	1,90
105	1,22	1,19	1,06	1,07	0,95	1,13	1,35
179	1,24	1,07	0,99	1,31	1,21	1,30	1,02
180	0,87	1,19	1,23	1,01	1,05	1,24	1,17
182	1,11	1,14	0,87	1,30	0,99	1,13	1,26
189	1,10	1,09	0,97	1,30	1,15	1,25	1,13
190	1,13	1,04	0,91	1,69	1,49	1,55	1,37
226	1,19	1,31	1,19	1,07	0,97	1,28	1,28
290	1,01	1,26	1,13	1,34	1,20	1,52	1,00
322	1,24	1,21	0,98	1,06	0,86	1,04	1,32
337	0,97	1,25	0,86	1,66	1,15	1,43	1,06
343	1,10	1,22	1,13	0,96	0,89	1,09	1,10
<i>Moyenne.</i>	1,15	1,17	1,04	1,24	1,09	1,27	1,28

Dans le tableau V, figurent les valeurs de D correspondant aux différents milieux de chauffage étudiés et, dans le tableau VI, figure la comparaison entre les milieux de chauffage exprimée par le rapport des valeurs D correspondant à chaque milieu (en indice figure le symbole du milieu de chauffage).

— *Comparaison entre le lait L et le lait LS7* (colonne 6 du tableau VI). — Le rapport D_{LS7}/D_L est toujours supérieur à 1. On retrouve donc bien l'augmentation de la thermorésistance due à l'addition du supplément et à la modification simultanée du pH.

— *Influence du pH* (colonnes 2 et 3 du tableau VI). — L'élévation du pH du lait entraîne une augmentation de D, qui est en moyenne de 17%, mais qui est inférieure à l'augmentation due à la fois au supplément et à l'augmentation du pH (27%). Quand le lait contient le supplément la valeur D n'augmente pratiquement pas.

— *Influence du supplément* (colonnes 4 et 5 du tableau VI). — L'addition au lait L du supplément entraîne une augmentation

moyenne de D de 24%. Cet effet considérable confirme les résultats des essais préliminaires. Mais l'addition du supplément au lait L7 modifie D de façon très variable, puisque D_{L7}/D_{L7} varie de 0,86 à 1,49. L'augmentation de D, qui est de 9%, ne reflète pas les variations d'une souche à l'autre.

— *Comparaison avec le tampon phosphate M/15* (colonnes 1 et 7 du tableau VI). — Depuis ESTY et MEYER [8], le tampon phosphate M/15 à pH 7 est utilisé comme milieu de chauffage de référence pour les études sur la thermorésistance des spores. Les valeurs D sont plus élevées quand les spores sont chauffées en tampon phosphate à pH 7 (T7) que lorsqu'elles sont chauffées dans le lait L : l'augmentation moyenne de D est de 28%. Les valeurs D augmentent quand le pH du tampon passe de 6,5 à 7 (augmentation de 15%).

IV. — DISCUSSION

Quand le lait est soumis à un chauffage modéré de 4 à 12 minutes à 110° C, l'introduction dans le lait du supplément et la modification simultanée du pH du lait n'ont pas d'influence sur le pourcentage de flacons non-stériles. Il n'en est plus de même quand le lait est chauffé à 115° C pendant 15 minutes : les modifications apportées au lait provoquent une augmentation de la thermorésistance des spores de *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis*. Cette influence se fait sentir pendant le chauffage et non pendant la germination.

La thermorésistance des spores des souches étudiées est difficile à comparer avec les données antérieures par suite de la grande diversité des techniques utilisées dans la détermination de la thermorésistance. Néanmoins, on trouve des valeurs de D, qui d'après les résultats publiés, peuvent être calculées pour les mêmes conditions de chauffage à 115° C :

D = 4,3 à 5,8 ; spores de *B. subtilis* chauffées dans du lait écrémé (NICHOLS) [21].

D = 2 à 3 : spores de *B. subtilis* chauffées dans du lait stérilisé à ultra-haute-température (BURTON et al. [5]).

D = 2,8 : spores de *B. licheniformis* chauffées dans du lait concentré non sucré (RUYLE et SOGNEFEST [23]).

Les valeurs trouvées ici sont comprises entre 2,59 et 4,14, donc assez comparables à celles des auteurs cités.

Quand le pH du milieu de chauffage passe de 6,5 à 7, la thermorésistance des spores, chauffées en tampon phosphate ou dans le lait, augmente. Cette influence du pH a été reconnue dès les premières recherches sur les conditions de stérilisation des conserves. En général, la thermorésistance des spores chauffées en tampon acide augmente quand le pH du tampon augmente ; c'est le cas pour les spores de *Cl. botulinum* (ESTY et MEYER [9]), *Welchia* (*Cl.*) *perfringens* (HEADLEE [11]), *Plectridium* (*Cl.*) *tetani* (MURRAY et HEADLEE [20]), *B. subtilis* (WILLIAMS [30]), *B. anthracis* (MURRAY [19]). Le même phénomène s'observe quand les spores sont chauffées dans un produit alimentaire : ainsi la stérilisation de produits alimentaires, dont le pH a été artificiellement augmenté et qui sont inoculés avec des spores de *Cl. botulinum* et de PA 3679, devient plus difficile quand le pH passe de 4,5 à 9 (SOGNEFEST et al. [25]).

L'addition du supplément au lait entraîne aussi une augmentation de la thermorésistance. Il est difficile de savoir quel constituant du supplément joue un rôle dans cette augmentation, car d'une part l'extrait de levure utilisé représente un mélange de composition complexe et d'autre part l'ensemble « extrait de levure-glucose » est stérilisé en solution concentrée ; il peut donc se former au cours du chauffage des produits susceptibles d'intervenir dans la thermorésistance. De plus, contrairement à ce qui se passe pour le pH , les données sur l'influence de produits complexes dans le milieu de chauffage sont le plus souvent contradictoires. Notons à titre d'exemple, que la thermorésistance peut être augmentée par l'addition de glucides (ANDERSON et al. [2], SUGIYAMA [26]), de chlorure de sodium (VILJOEN [29]), de protéines (AMAHARA et SAKAGUCHI [1]), etc.

Il est à remarquer que les influences du pH et du supplément ne sont pas additives et que la modification du pH du lait n'a pas ou peu d'influence, quand le lait contient déjà le supplément. Ceci peut s'expliquer de la manière suivante : comme l'a fait remarquer VON ANGERER [30], le pH du milieu de chauffage est toujours le pH à la température du laboratoire et non le pH à la température de chauffage, dont la valeur n'est pas connue. Il est donc possible que la variation du pH en fonction de la température ne soit pas la même quand le lait contient le supplément.

V. — APPLICATION AU CONTRÔLE DU LAIT STÉRILISÉ

La technique de contrôle du lait stérilisé par le supplément consiste en l'addition au lait avant sa stérilisation définitive d'un supplément constitué par du glucose, de l'extrait de levure et du

pourpre de bromocrésol. Comme l'addition d'une solution de soude pour amener à 7 le pH du lait avec supplément ne modifie pas la thermorésistance des spores, nous ne considérerons dans ce qui suit que l'emploi du supplément seul.

Les avantages de la méthode du supplément résident dans la brièveté du délai d'incubation (6 jours) et la facilité des opérations de contrôle, réduites à une incubation à 30° C et à un examen visuel de la bouteille. Mais cette méthode présente un inconvénient qui semble, à première vue, lui ôter tout intérêt : l'augmentation de la thermorésistance des spores due à l'addition du supplément qui se traduit par une augmentation du nombre de bouteilles non-stériles. A partir des valeurs du temps de réduction décimale D, nous pouvons calculer la proportion des spores survivantes obtenues par les deux méthodes de contrôle. Si N_{LS} et N_L sont respectivement le nombre de spores survivantes après un chauffage de 15 minutes dans le lait avec supplément (LS) et le lait sans supplément (L) on a :

$$\log \frac{N_0}{N_{LS}} = \frac{t}{D_{LS}} = \frac{15}{4,02}$$

$$\text{d'où : } \frac{N_0}{N_{LS}} = 5,380$$

$$\log \frac{N_0}{N_L} = \frac{t}{D_L} = \frac{15}{3,28}$$

$$\text{d'où : } \frac{N_0}{N_L} = 37,400$$

$$\text{et } K = \frac{N_{LS}}{N_L} = 6,94 \simeq 7.$$

Autrement dit, le nombre de bouteilles non-stériles sera multiplié par 7.

Cette valeur moyenne a été calculée sans faire intervenir la thermorésistance propre de chaque souche, car il n'y a pas de corrélation entre le rapport D_{LS}/D_L et D_L . Autrement dit, l'amplitude de la variation de thermorésistance due à l'addition du supplément au lait L, n'est pas liée à la valeur de cette thermorésistance dans le lait L.

Il est possible d'utiliser cette augmentation artificielle de la thermorésistance des spores par l'addition du supplément pour transformer le contrôle classique en un contrôle semi-quantitatif permettant une estimation du pourcentage de bouteilles non-stériles. Prenons deux cas, en supposant que le contrôle porte sur un échantillon de 10 bouteilles par journée de fabrication :

— Cas d'une fabrication comportant 1,5% de bouteilles non-stériles : le pourcentage de bouteilles de lait avec supplément non-stériles sera de $1,5 \times 7 \approx 10\%$. Donc dans ce cas, on constatera qu'une bouteille en moyenne par journée de fabrication n'est pas stérile.

— Cas d'une fabrication comportant 0,15% de bouteilles non-stériles : on détectera une bouteille non-stérile en moyenne pour dix journées de fabrication.

Donc, dans le cas d'une fabrication de qualité médiocre, la détection d'une bouteille non-stérile sera chose fréquente, alors que dans le cas d'une fabrication excellente, on ne décelera que très rarement une bouteille non-stérile. Autrement dit, le relevé journalier du nombre de bouteilles non-stériles permet de suivre dans le temps la fabrication. Supposons une fabrication correspondant au deuxième cas précédent : 0,15% de bouteilles non-stériles. L'attitude à suivre au contrôle est la suivante : quand se présente le cas d'une bouteille non-stérile, appartenant au lot prélevé correspondant à un jour donné de fabrication, il faut suivre avec attention les échantillons correspondant aux journées suivantes de fabrication. S'il apparaît d'autres bouteilles non-stériles, alors la fabrication s'est dérégulée pour tomber à un taux de bouteilles non-stériles de l'ordre de 1%. En général, le risque se présente sous forme d'un dérèglement progressif de la fabrication, et on constatera dans cette éventualité, que la fréquence d'apparition des bouteilles non-stériles augmente progressivement : il est donc possible de procéder à un contrôle aux diverses étapes de la fabrication, avant que le taux de bouteilles non-stériles ne devienne inacceptable.

Une remarque doit être faite : la non-stérilité d'une bouteille de lait avec supplément peut avoir deux causes : soit la présence de spores survivantes dans le lait, soit une micro-fuite au niveau de la capsule ou du col de la bouteille. Dans ce dernier cas, il est évident que le coefficient K de 7 ne peut être appliqué. Mais il faut d'abord faire remarquer que la fréquence de telles bouteilles doit être faible : 1% au maximum, soit une bouteille par dix journées de fabrication. D'autre part, une telle bouteille est facile à distinguer par l'examen du contenu de la bouteille (dégagement gazeux ou coagulation de type lactique, par exemple) ou par l'examen d'un frottis de lait. Si le doute persiste, il est alors recommandé d'effectuer un ensemencement en stries à la surface d'une boîte de Petri contenant de la gélose nutritive et un examen des colonies après incubation.

Il convient de faire remarquer, que la valeur du coefficient K a été déterminée pour des conditions de chauffage données (15 minutes

à 115° C) et que chaque traitement thermique possède un coefficient particulier, fonction des conditions de montée et de descente en température et de la température maximale de chauffage, puisque la valeur D est elle-même fonction de la température de chauffage. Des essais préliminaires en usine, comportant la stérilisation de bouteilles de lait avec ou sans supplément et inoculées avec des spores de *Bacillus*, ont montré que le coefficient K de la chaîne de stérilisation était du même ordre de grandeur que le coefficient K déterminé au laboratoire, c'est-à-dire, compris entre 5 et 7. Il est donc légitime d'admettre en première approximation la valeur de 7 pour le coefficient K à appliquer à une chaîne de stérilisation. Il est d'ailleurs possible de déterminer le coefficient réel en étudiant, pour une chaîne de stérilisation donnée, le nombre de spores survivantes de plusieurs souches de *Bacillus*, après chauffage dans du lait avec ou sans supplément.

VI. — TECHNIQUE D'UTILISATION DU SUPPLÉMENT

Nous résumons ici l'ensemble des techniques permettant l'utilisation pratique de la méthode du supplément.

1) Préparation du supplément.

— *Formule du supplément*: glucose 100 grammes, extrait de levure Yeastrel 100 grammes, pourpre de bromocrésol 1,5 gramme, eau distillée 1.000 millilitres, pH avant stérilisation 7,0. Stérilisation 30 minutes à 112° C.

— *Technique de préparation*: dissoudre dans 500 millilitres d'eau distillée chaude 1,5 gramme de pourpre de bromocrésol. Dissoudre d'autre part, dans une autre fraction de 500 millilitres d'eau distillée chaude, 100 grammes de glucose et 100 grammes d'extrait de levure. Après complète dissolution, amener à 7,0 le pH de cette deuxième solution à l'aide d'une solution de soude environ 2N (lessive de soude diluée au 1/5 dans de l'eau distillée). Le pH est contrôlé soit à l'électrode de verre, soit à l'aide d'un papier-réactif. Mélanger les deux solutions et répartir en flacons de verre à bouchon vissé, à raison de 50 millilitres par bouteille, dans le cas d'une fabrication de bouteilles de lait d'un litre, ou de 25 millilitres dans le cas d'une fabrication de bouteilles de lait d'un demi-litre. Stériliser les flacons à l'autoclave (30 minutes à 112° C).

2) Préparation des bouteilles à contrôler.

Chaque bouteille à contrôler est préparée de la façon suivante (cas de la bouteille d'un litre) :

Prélever une bouteille non-capsulée à la sortie de l'embouteilleuse. Oter 50 millilitres de lait, en les versant dans un récipient préalablement étalonné à 50 millilitres et verser dans la bouteille de lait le contenu de l'un des flacons de supplément préalablement réchauffé à 50-70° C. Remettre la bouteille sur la chaîne, à l'entrée de la capsuleuse ; reprendre la bouteille à la sortie de celle-ci, et retourner plusieurs fois la bouteille jusqu'à ce que la couleur soit bien homogène. Replacer la bouteille sur la chaîne entre la capsuleuse et le stérilisateur.

Les bouteilles sont facilement reconnaissables à la sortie du stérilisateur, grâce à leur couleur grise.

3) Analyse des bouteilles à contrôler.

Les bouteilles, au nombre de 10 par jour de fabrication, sont placées en incubation à 30° C pendant 6 jours. Quand une bouteille présente un développement bactérien, la couleur du lait pâlit. Une telle bouteille se distingue parfaitement au milieu des autres bouteilles dont la couleur ne s'est pas modifiée.

Nous exprimons notre reconnaissance à M. Mocquot, qui nous a guidés par ses conseils et ses critiques dans la réalisation de ce travail et la révision du manuscrit. Nous remercions également ceux qui ont participé à ce travail : MM. GROSCLAUDE, KOLLY, LAPIED, PEAN et ROY, en tant que stagiaires, et les directeurs des deux laiteries de la région parisienne où ont été effectués les essais industriels.

RÉSUMÉ

Une méthode de contrôle bactériologique d'une fabrication de lait stérilisé est exposée. Elle repose sur le principe suivant : on ajoute aux bouteilles de lait destinées au contrôle, avant leur stérilisation, un supplément constitué par du glucose, de l'extrait de levure et du pourpre de bromocrésol. Après la stérilisation, les bouteilles sont placées en incubation à 30° C pendant 6 jours. La couleur des bouteilles non-stériles pâlit au cours de l'incubation.

L'utilisation de ce supplément augmente artificiellement le pourcentage de bouteilles non-stériles, par suite de l'augmentation de la thermorésistance des spores contenues dans le lait, augmentation qui est due à la modification du milieu de chauffage des spores. Ce phénomène est mis à profit pour l'établissement d'un contrôle semi-quantitatif.

La thermorésistance des spores de *Bacillus subtilis* et de *Bacillus licheniformis* chauffées dans le lait est augmentée par l'addition au lait du supplément ou par une élévation du pH du lait de 6,5 à 7,0.

SUMMARY

A METHOD FOR THE CONTROL
OF THE BACTERIOLOGICAL QUALITY
IN THE INDUSTRIAL PROCESSING
OF BOTTLED STERILIZED MILK

The method is as follows : a supplement (glucose 10%, yeast extract 10%, bromocresol purple 0,15%) is poured (5% V/V) into the bottles for control, before their sterilization. After sterilization, the bottles are incubated for 6 days at 30° C. ; at the end of this period, the colour of non-sterile bottles is paler.

The spores of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* exhibit enhanced resistance when the heating medium, i. e. milk, contains the supplement. This increase is used for a semi-quantitative method of control.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. AMAHA et K. I. SAKAGUCHI. Effects of carbohydrates, proteins, and bacterial cells in the heating media on the heat resistance of *Clostridium sporogenes*. *J. Bact.*, **68**, 338 à 345. 1954.
- [2] E. E. ANDERSON, W. B. ESSELEN et C. R. FELLERS. Effect of acids, salt, sugar, and other food ingredients on thermal resistance of *Bacillus thermoacidurans*. *Food Res.*, **14**, 499 à 510. 1949.
- [3] C. O. BALL et F. C. W. OLSON. Sterilization in Food Technology. Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New-York, « Series in Food Technology ». 1957.
- [4] A. BRETON et B. GAUTIER. La qualité bactériologique des laits stérilisés. *Sem. Hôp. Paris (Path. Biol.)*, **6**, 925 à 930. 1958.
- [5] H. BURTON, J. G. FRANKLIN, D. J. WILLIAMS, H. R. CHAPMAN, A. J. W. HARRISON et L. F. L. CLEGG. An analysis of the performance of an ultra-high-temperature milk sterilizing plant. III. Comparison of experimental and calculated sporicidal effects for a strain of *Bacillus subtilis*. *J. Dairy Res.*, **25**, 338 à 343. 1958.
- [6] R. BUTTIAUX. Définitions et modalités d'examen bactériologique des diverses variétés de conserves alimentaires. *Ann. Inst. Pasteur de Lille*, **9**, 176 à 205. 1957.
- [7] R. BUTTIAUX, A. BRETON et B. GAUDIER. Sur la qualité bactériologique des laits stérilisés. *Arch. Franc. Pédiatrie.*, **13**, 543 à 550. 1956.
- [8] J. R. ESTY et K. F. MEYER. The heat resistance of the spores of *B. botulinus* and allied anaerobes. XI. *J. inf. Dis.*, **31**, 650 à 663. 1922.
- [9] J. W. FOSTER et E. S. WYNNE. The problem of « dormancy » in bacterial spores. *J. Bact.*, **55**, 623 à 625. 1948.
- [10] T. E. GALESLOOT et H. LABOTS. Over de bacteriologie van gesteriliseerde melk en melkprodukten. *Neth. Milk and Dairy J.*, **13**, 16 à 37. 1959.
- [11] M. R. HEADLEE. Thermal death point. III. Spores of *Clostridium welchii*. *J. inf. Dis.*, **66**, 468 à 483. 1931.

- [12] J. HERMIER. Une méthode rapide de détection de la non-stérilité éventuelle d'échantillons de lait chauffés au-dessus de 100° C. *Ann. Inst. Nat. Rech. Agron., Série E (Ann. Technol. Agric.)*, **6**, 377 à 390. 1957.
- [13] J. HERMIER. Résultats non publiés.
- [14] J. HERMIER, J. VERGE et G. GROSCLAUDE. Détermination de la durée de chauffage dans un appareil de stérilisation du lait à très haute température. *Le Lait*, **39**, 20 à 32. 1959.
- [15] J. K. HOSKINS. Most probable numbers for evaluation of Coli-aerogenes tests by fermentation tube method. *Publ. Health Rep.*, **49**, 393 à 405. 1934.
- [16] D. A. A. MOSSEL. Le rôle important du prélèvement approprié d'échantillons dans l'analyse bactériologique des conserves. 3^e Congrès Intern. de la Conserve, Rome-Parme, 257 à 262. 1956.
- [17] D. A. A. MOSSEL et E. F. DRION. Bacteriological requirements for and testing of sterilized milk and sterilized milk products. *Neth. Milk and Dairy J.*, **8**, 106 à 114. 1954.
- [18] D. A. A. MOSSEL et J. H. H. MOL. A typical case of delayed spoilage in a dairy product incubation test. *Appl. Microb.*, **4**, 69 à 70. 1956.
- [19] T. J. MURRAY. Thermal death point. II. Spores of *Bacillus anthracis*. *J. inf. Dis.*, **48**, 457 à 467. 1931.
- [20] T. J. MURRAY et M. R. HEADLEE. Thermal death point. I. Spores of *Clostridium tetani*. *J. inf. Dis.*, **48**, 436 à 456. 1931.
- [21] A. A. NICHOLS. The effect of variations in the fat percentage and in the reaction (pH) of milk media on the heat resistance of certain milk bacteria. *J. Dairy Res.*, **11**, 274 à 291. 1940.
- [22] C. PEYLET. Etudes et observations techniques sur la fabrication du lait stérilisé. *La Technique laitière*, n^{os} 261, 262, 264 et 266. 1958-1959.
- [23] E. H. RUYLE et P. SOGNEFEST. Thermal resistance of a facultative aerobic spore-forming bacterium in evaporated milk. *J. Milk and Food Technol.*, **14**, 173 à 175. 1951.
- [24] N. R. SMITH, R. E. GORDON et F. E. CLARK. Aerobic sporeforming bacteria. *Agriculture Monograph* N^o 16, U. S. Department of Agriculture. 1952.
- [25] P. SOGNEFEST, G. L. HAYS, E. WHEATON et H. A. BENJAMIN. Effect of pH on thermal process requirements of canned foods. *Food Res.*, **13**, 400 à 416. 1948.
- [26] R. SUGIYAMA. Studies on factors affecting the heat resistance of spores of *Clostridium botulinum*. *J. Bact.*, **62**, 81 à 96. 1951.
- [27] G. THIEULIN, D. BASILLE et R. ROSSET. Le contrôle sanitaire du lait. IV. Inspection du lait stérilisé. *Bull. Acad. Vét.*, **31**, 65 à 74. 1958.
- [28] G. THOMAS et H. CHEFTEL. Prélèvement d'échantillons en vue de l'appréciation de la qualité bactériologique de lots de conserves. *Ann. Fals. Fraud.*, **48**, 223 à 237, 283 à 288. 1955.
- [29] J. A. VILJOEN. Heat resistance studies. 2. The protective effect of sodium chloride on bacterial spores heated in pea liquor. *J. inf. Dis.*, **39**, 286 à 290. 1926.

- [30] R. VON ANGERER. Untersuchungen über die Ursachen der Resistenz von Bazillensporen. *Arch. Hyg. Bakteriol.*, **121**, 12 à 55. 1939.
- [31] O. B. WILLIAMS. The heat resistance of bacterial spores. *J. inf. Dis.*, **44**, 421 à 465. 1929.

**RECHERCHES SUR LA FABRICATION,
EN ROUMANIE, DU FROMAGE « TÉLÉMEA »,
DE LAIT DE BREBIS**

par

Ing. GHEORGHE CHINTESCO, Ing. CAROL TOMA
et Ing. IOAN IONESCO

Institut de Recherches Alimentaires, Bucarest. R. P. R.

Parmi les fromages fabriqués dans notre pays, le fromage « Télèmea » est le plus répandu et le plus apprécié par la masse des consommateurs.

La transformation de la petite production artisanale de ce fromage en une production industrielle a suscité une série de problèmes concernant la qualité de la matière première fournie aux centres de fabrication, ainsi que les différentes phases du processus technologique.

La quantité de lait de brebis produite dans notre pays augmente continuellement, d'où la nécessité d'outillages et d'installations appropriées. En ce cas, le processus technologique, obligé de s'adapter à la grande industrie, devra subir certaines modifications.

Tenant compte de cette situation, nous nous sommes efforcés, au cours de nos recherches, de connaître les conditions de production du fromage « Télèmea » fabriqué avec le lait de brebis dans la plaine et d'apprécier les facteurs ayant une influence défavorable sur la qualité du fromage, ainsi que sur les indices économiques.

Les caractéristiques physico-chimiques du lait de brebis servant à la fabrication du fromage « Télèmea », ont également été déterminées.

Tenant compte des résultats obtenus par cette étude préliminaire, nous avons expérimenté un nouveau procédé de fabrication du fromage « Télèmea », qui présente un certain nombre d'avantages.

Afin d'améliorer les conditions de travail existantes, nous nous sommes servis de l'expérience acquise et des ouvrages publiés en U.R.S.S. et en Bulgarie [1] [2].