

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :	Bibliographie analytique :
Ch. BARTHEL. — Influence des moisissures sur les ferments lactiques..... 725	1° Les Livres..... 753
R.-H. LEITCH. — De quelques progrès récents dans la fabrication du beurre..... 732	2° Journaux, Revues, Sociétés savantes..... 759
G. GUITTONNEAU. — Les maladies du gruyère considérées dans leurs rapports avec la technique des fabrications..... 739	Bulletin bibliographique.... 801
	Documents et Informations:
	M. BEAU. — I.a Situation laitière. 804
	Ch. PORCHER. — Le travail du « National Dairy Council).... 807

MÉMOIRES ORIGINAUX ⁽¹⁾

INFLUENCE DES MOISSURES SUR LES FERMENTS LACTIQUES,

par CHR. BARTHEL,

Professeur à la Station expérimentale agricole à Experimentalfältet (Suède).

C'est un fait bien connu que le développement de microorganismes dans les cultures peut être favorablement influencé par l'ensemencement simultané d'une culture d'un autre microorganisme, soit à l'état vivant, soit à l'état stérilisé.

En ce qui concerne l'influence, à ce point de vue, d'autres microorganismes sur les ferments lactiques, les données qu'on trouve dans la littérature bactériologique sont extrêmement rares. En 1920, Max S. MARSHALL [4] a publié un travail sur l'influence de *Bac. subtilis* sur le développement de *Streptococcus lactis* dans le lait. Il trouvait que le *Bac. subtilis* avait une action nettement favorable, ou stimulatrice, sur la fermentation lactique. ce qui était facile de prouver et par la titration de l'acide lactique formé et par la numération des colonies des ferments lactiques sur plaques.

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

J'ai eu l'occasion de constater une influence analogue exercée par des moisissures. En contrôlant de temps en temps de vieilles cultures de *Streptococcus lactis* sur terre stérilisée [2, 3], j'ai trouvé qu'une de ces cultures, qui avait été par hasard infectée d'un *Penicillium*, coagulait du lait stérilisé dans un temps moitié plus court que les cultures pures du même lacto-coque. Au moment où ce fait était observé, les cultures sur terre stérilisée étaient déjà vieilles de plusieurs années et desséchées; 10 cm³ de lait stérilisé, inoculés avec 0 gr.,1 d'une culture pure de ce ferment lactique sur terre stérilisée, ne coagulaient qu'après 7 à 8 jours à 23°. La culture infectée par le *Penicillium* coagulait par contre en 4 jours.

Il parut dès lors bien probable que la coagulation plus rapide était due à la présence de la moisissure. Afin de résoudre cette question, j'ai commencé par l'expérience suivante: Deux des vieilles cultures en terre stérilisée de la même souche de *Strept. lactis*, qui, depuis plusieurs années, n'avaient jamais été réensemencées, et qui étaient marquées respectivement M9 II et M9 V, furent choisies pour l'expérience. Une quantité de 0 gr.,1 d'une de ces cultures, inoculée dans 10 cm³ du lait écrémé stérilisé, coagulait celui-ci en 9 jours à 23°. De chacune de ces cultures, la quantité déjà mentionnée fut ensemencée dans de tubes de lait stérilisé, soit avec, soit sans inoculation simultanée d'une culture fraîche de *Penicillium Roqueforti*, isolée d'un fromage Roquefort français. De la culture de la moisissure on prenait un fragment avec l'aiguille de platine. Tous les tubes furent mis à l'étuve à 23°. Un certain nombre des tubes qui étaient ensemencés avec le *Strept. lactis* seul, furent munis de la fermeture anaérobique de STRIBOLL afin de voir si l'influence de la moisissure sur les ferments lactiques ne consistait pas tout simplement en ce que celle-ci protégeait les derniers de l'oxygène de l'air.

Les cultures qui étaient ensemencées à la fois de *Strept. lactis* et de *Penicillium Roqueforti* coagulaient en 4 jours, tandis que les cultures pures de *Strept. lactis* ne coagulaient qu'après 10 jours. Les cultures anaérobiques du ferment lactique coagulaient entre 10 à 11 jours.

Dans une seconde expérience, exécutée exactement dans les mêmes conditions, mais avec de l'*Oidium lactis* au lieu de *Penicillium Roqueforti*, les tubes ensemencés avec le *Strept. lactis* et l'*Oidium* coagulaient dans 6 jours, tandis que le *Strept. lactis* seul coagulait dans 7 jours.

A juger les deux expériences relatées ci-dessus, il paraît évident que les deux moisissures en question auraient eu réellement une influence favorable sur le développement des ferments lactiques. Dans le même ordre d'idées il est intéressant de noter que, déjà en 1899, GERDA TROLLI-PETERSSON [4] avait observé que des cultures en lait de

Strept. lactis, qui, en même temps, furentensemencées de *Oidium lactis*, se conservaient plus longtemps à l'état vivant que les cultures pures de *Strept. lactis*. Ainsi, dans une expérience, les ferments lactiques, en présence du *Oidium lactis*, étaient en vie encore après deux mois et demi, tandis que les cultures pures ne se conservaient guère que quelques semaines.

Une autre observation, faite dans notre laboratoire, mérite aussi d'être citée à ce propos. Si l'on fait des disséminations sur plaques de gélatine lactosée en même temps de *Strept. lactis* et de *Oidium lactis*, on remarquera, après quelques jours, que les colonies des ferments lactiques apparaissent presque exclusivement sous les colonies superficielles de la moisissure. Les autres parties des plaques ne montrent des colonies de *Strept. lactis* que bien plus tard. Ceci ne peut pas être expliqué autrement qu'en admettant une influence favorable de la moisissure sur les ferments lactiques.

Encouragé par les résultats antérieurs, j'ai continué les expériences sur une plus large échelle. Deux vieilles cultures de *Strept. lactis* sur terre stérilisée, marquées M9 II (celle de notre première expérience) et M9 VII, de la même souche, furent employées. Les moisissures, cultivées depuis 8 jours à la température de 22° sur la gélose CZAPEK, étaient les suivantes : *Oidium lactis*, *Penicillium glaucum*, *Mucor piriformis* et *Aspergillus niger*. Les tubes de lait écrémé stérilisé, de 10 cm³ chacun, étaientensemencés de 0 gr.,4 des cultures des ferments lactiques et d'un fragment de la culture de moisissure en question. Les fermetures anaérobiques étaient omises dans cette expérience ainsi que dans les suivantes à cause des résultats négatifs obtenus dans les expériences antérieures. Toutes les cultures étaient mises à l'étuve à 22°. Cette fois-ci on notait non seulement le temps de coagulation, mais l'acidité fut aussi titrée 10 jours après la coagulation dans tous les tubes d'après la méthode de THÖRNER. Les chiffres dans le tableau ci-après (Tableau I) sont les moyennes de deux titrations.

Il s'ensuit clairement de cette expérience que le *Mucor piriformis*, l'*Aspergillus niger* et le *Penicillium glaucum* ont eu une influence nettement favorable sur les ferments lactiques. Le *Mucor* s'est montré la plus puissante des moisissures employées, tandis que l'*Oidium* ne paraît, cette fois, avoir eu que peu d'influence.

Il est possible, évidemment, que la même culture puisse se comporter différemment dans les différentes occasions. Dans nos premières expériences l'*Oidium* avait eu une action très nette.

Pour voir si l'action des moisissures sur le développement des ferments lactiques est due directement à leur état d'organismes vivants, ou bien si elle est due à certains composés, secrétés par les moisissures et capables d'agir indépendamment de cet état, l'expérience pré-

cédente était répétée de la façon suivante : Les moisissures furent cultivées dans du lait écrémé stérilisé à 22°, et ces cultures étaient ensuite tuées après 6 jours par ébullition au bain-marie pendant une heure. On ajoutait ensuite 1 cm³ de ces cultures stérilisées aux tubes contenant les cultures des ferments lactiques. Toutes les cultures étaient mises à l'étuve à 22°.

Tableau 1.

Culture	Nombre de jours pour la coagulation	Acidité 10 jours après la coagulation Degrés THÖRNER
M9 II.....	12	68
+ <i>Oidium lactis</i>	13	76
+ <i>Penicillium glaucum</i>	6	78
+ <i>Mucor piriformis</i>	4	104
+ <i>Aspergillus niger</i>	5	96
M9 VII.....	12	80
+ <i>Oidium lactis</i>	10	86
+ <i>Penicillium glaucum</i>	6	80
+ <i>Mucor piriformis</i>	5	106
+ <i>Aspergillus niger</i>	6	96

Cette fois-ci le *Mucor* seul donnait un résultat positif. Les cultures M9 II et M9 VII, additionnées de cultures chauffées de cette moisissure, coagulaient après 6 jours tandis que toutes les autres cultures, y compris celles des ferments lactiques seuls, ne coagulaient qu'après 8 à 9 jours.

Une nouvelle expérience était exécutée pour voir si un chauffage à une température plus haute, ou à 120°, donnerait le même résultat. Cette expérience était arrangée exactement de la même façon que la précédente, avec la seule différence que l'*Oidium lactis* ne fût plus employé, à raison de son effet incertain. Les cultures en lait des moisissures étaient âgées de 10 jours quant elles furent tuées par le chauffage, qui se faisait à l'autoclave, à 120° pendant 15 minutes,

Cette fois, les cultures de ferments lactiques, qui étaient inoculés simultanément avec le *Mucor piriformis* et le *Penicillium glaucum* étaient coagulées dans 4 jours, tandis que la culture avec l'*Aspergillus niger* demanda 9 jours et la culture des ferments lactiques seuls, 10 jours pour la coagulation à 22°.

Des deux expériences de chauffage des cultures des moisissures, il s'ensuit que les substances produites par celles-ci, et qui exercent une action stimulatrice sur les ferments lactiques, sont extrêmement thermostables, mais il est aussi évident que l'action des moisissures est plus marquée si l'on se sert de cultures vivantes. Les résultats obtenus avec les cultures chauffées sont pourtant sans aucun doute bien positifs.

Dans un autre essai avec les mêmes moisissures, les cultures en lait écrémé étaient d'abord chauffées 15 minutes au bain-marie et ensuite filtrées au travers d'un petit filtre Berkefeld. Les filtrats clairs furent encore chauffés au bain-marie pendant quelques minutes et finalement ajoutés aux cultures de M9 II nouvellement inoculées. Toutes les cultures restaient à l'étuve à 22°. Les cultures additionnées du filtrat de l'*Aspergillus niger* coagulaient en 5 jours et celles du filtrat du *Mucor piriformis* en 7 jours, tandis que les cultures avec le filtrat du *Penicillium glaucum* et celles avec les ferments lactiques seuls étaient coagulés après 8 jours. Ainsi il est prouvé que les substances stimulatrices ne sont point arrêtées par le filtre Berkefeld.

Toutes les expériences citées jusqu'ici ont été exécutées avec de vieilles cultures en terre stérilisée de ferments lactiques. La raison en était évidemment que le temps demandé par ces cultures pour la coagulation du lait est très long et que, par conséquent, il était facile d'étudier l'influence des moisissures sur cette coagulation. Si l'on employait une culture de ferments lactiques douée d'une faculté de coagulation normale, c'est-à-dire une culture coagulante en moins de 24 heures à 22°-25°, l'action favorable des moisissures sur le développement des ferments lactiques devenait plus difficile de démontrer. Dans notre collection nous possédons pourtant une souche de ferments lactiques dont une anse de platine, ensemencée dans 10 cm³ de lait écrémé stérilisé, en amène la coagulation en 30 heures environ à 25° et en 3 jours à la température ordinaire. Deux tubes de lait stérilisé étaient ensemencés de cette culture, qui est marquée M 4. A l'un, on ajoutait 1 cm³ d'une culture de lait du *Mucor piriformis*, qui avait d'abord été chauffée à 120° pendant 15 minutes à l'autoclave. A l'autre tube il était ajouté 1 cm³ de lait stérilisé, afin d'obtenir le même volume total dans les deux tubes. Ces cultures furent ensuite mises à l'étuve à 25°. Deux autres cultures du M 4, traitées exactement de la même façon, étaient conservées à la température du laboratoire. Pour les résultats, voir le Tableau 2.

Tableau 2.

Culture	Temps de coagulation en heures	
	25°	Température ordinaire
M4 + lait stérilisé.....	30	72
+ <i>Mucor piriformis</i>	24	> 48 < 72

Cette fois encore, la présence de la culture (chauffée) d'une moisissure s'est montrée favorable au développement des ferments lactiques.

Dans les expériences relatées jusqu'ici, quand nous avons parlé de ferments lactiques, il a seulement été question de lactocoques.

On pouvait *a priori* attendre des résultats analogues en employant des cultures de *lactobacilles*. Nous avons donc fait un essai avec des cultures au lait d'un lactobacille que nous avons toujours à l'état frais dans notre collection, ou le *Thermobacterium helveticum*. C'est le nom proposé par Orla-JENSEN pour le *Bact. casei* de FREUDENREICH. Les cultures en lait de ce microbe sont généralement coagulées en moins de 24 heures à 37°, tandis que le temps de coagulation à la température de 25° est d'environ 7 jours. Les moisissures employées pour cette expérience étaient les mêmes qu'avant. Les cultures en lait de ces moisissures, âgées de 10 jours, étaient autoclavées à 120° pendant 15 minutes et ajoutées aux cultures fraîchementensemencées du *Thermobacterium helveticum*, à raison de 1 cm³ pour 10 cm³ de la culture du lactobacille. Une des cultures de celui-ci fut additionnée de 1 cm³ de lait stérilisé, comme contrôle. La température était 25°. Les résultats sont exposés dans le Tableau 3.

Tableau 3.

Culture	Temps de coagulation à 25° en jours
<i>Thermobacterium helveticum</i> :	
+ lait stérilisé.....	> 6 < 7
+ <i>Oidium lactis</i>	6
+ <i>Penicillium glaucum</i>	6
+ <i>Mucor piriformis</i>	5
+ <i>Aspergillus niger</i>	> 6 < 7

Ici encore, on trouve une influence favorable, exercée par la plupart des moisissures sur le développement des ferments lactiques, qui étaient, cette fois-ci, des lactobacilles.

Pendant que j'étais occupé avec ces recherches, mon attention a été attirée sur deux travaux de J. GOY [5, 6], dans lesquels ce savant a démontré que des filtrats stérilisés du *Mucor* exercent une influence nettement favorable sur certaines bactéries pathogènes. Il est extrêmement probable qu'on a affaire ici à la même espèce d'influence que dans nos expériences. En ce qui concerne l'explication du phénomène, nous n'osons pas, à l'heure actuelle, nous risquer à en avancer une. Pour le moment, nous nous contentons de constater le fait même et de continuer les recherches sur cette intéressante question.

On pouvait pourtant s'hasarder de faire la supposition que l'influence favorable qu'exercent indéniablement les moisissures sur les ferments lactiques peut être d'une certaine importance pratique dans les cas où les deux groupes de microorganismes se développent simultanément sur un milieu naturel. Tel est le cas, par exemple, dans la fabrication des fromages à pâte molle et aussi dans la fabrication du Roquefort, du Gorgonzola, etc. Il est bien possible qu'une étude plus détaillée de ces questions donnât des résultats de valeur pratique pour ces industries fromagères.

BIBLIOGRAPHIE.

1. MAX MARSHALL, 1920. — « An associative study of *Strept. lacticus* and *B. subtilis* in Milk », *Journ. of Dairy Science*, **3**, 406. An. en « *Le Lait* » t. 1, 1921, p. 41.
2. CHR. BARTHEL, 1919. — « Cultures de bactéries sur terre stérilisée » Meddel. fran Kgl. Vetenskaps akademien Nobel-Institut, **5**, n° 20 (Livre de jubilé de SVANTE ARRHENIUS).
3. — 1921. — « Mjölksyrebakteriernas livslängd i kritmjölk-och jordkulturer », Meddel. n° 267 fran Centralanst. för försöksväsendet pa jordbruksomradet.
4. GERDA TROILI-PETERSSON, 1889. — « Studien über saure Milch und Zähe-milch », *Zeitschr. für Hygiene*, etc., **32**, 361.
5. P. GOY, 1921. — « Les végétaux inférieurs et les facteurs accessoires de croissance », *Compt. Rend. de l'Acad. de Sc.*, **172**, 242.
6. — 1922. — « Action de filtrat de *Mucor* sur le développement des cultures microbiennes », *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.*, **87**, 1.007.