

Indicateur de *pH*, par exemple :

Solution stérile de tournesol à 1 p. 150 50 gouttes
 ou Solution de bromothymol à 1,5 ‰ dans l'alcool à 60° .. 30 gouttes

Stériliser 20 minutes à 115°.

5. Gélose au rouge neutre.

Bouillon nutritif (formule précédente) 1.000 cm³
 Gélose 5 gr.

Stériliser 20 minutes à 120°. Filtrer. Ajouter :

Glucose 2 gr.

Solution de rouge neutre à 1 % : Q. S. pour obtention d'une teinte rouge-cerise.

Répartir en tubes à essais (culot) à raison de 5 cm³ par tube environ.

Stériliser 20 minutes à 115°.

6. Gélose au sous-acétate de plomb.

Bouillon nutritif (formule précédente) 1.000 cm³
 Gélose 20 gr.

Stériliser 20 minutes à 120°. Filtrer.

Répartir en tubes à raison de 5 cm³ par tube environ.

Stériliser 20 minutes à 115°. Ajouter aseptiquement, dans chaque tube de gélose fondue et ramenée à 60° environ : 0 cm³ 1 d'une suspension à 1 p. 10 de sous-acétate de plomb en eau distillée stérile.

Agiter fortement et refroidir rapidement.

(A suivre.)

ISOLEMENT DE FERMENTS LACTIQUES PARTICULIERS AU LAIT DE BREBIS ET AU FROMAGE DE ROQUEFORT

par

CHARLES ALAIS

Ingénieur chimiste E.C.I.L.

Nous avons isolé du fromage de Roquefort et du lait de brebis, qui est employé à sa fabrication, des souches de bactéries lactiques, qui ont montré d'étonnantes et profondes différences d'activité, selon qu'on les utilisait dans le lait de brebis ou dans le lait de vache, comme levain lactique.

Le but premier de notre travail était de rechercher sur les meilleurs produits de la fabrication de Roquefort des ferments lactiques vigoureux que nous voulions substituer aux ferments d'origines diverses utilisés jusque-là dans cette fabrication. Ces ferments, originaires de laits de vaches, donnaient des résultats irréguliers dans

la zone du Roquefort. En général, les levains de ces ferments nous ont paru être moins efficaces en lait de brebis qu'en lait de vache, pour corriger des fabrications défectueuses.

Nous avons un préjugé favorable à l'existence d'espèces microbiennes particulières au lait de brebis, fondé surtout sur la composition bien spéciale de ce lait et sur l'affinage caractéristique du Roquefort. Nous pensions qu'il serait plus logique et plus élégant, de n'introduire dans cette fabrication que des ferments lactiques originaires de ce lait, et non pas des ferments commerciaux ayant toujours vécu dans le lait de vache.

Au laboratoire, nous nous sommes limités à l'isolement des souches et à leur examen sommaire. Nous n'avons pas fait un travail systématique d'identification. Notre objectif était surtout pratique et c'est en expérimentant dans les fromageries que nous avons constaté les différences de comportement qui font l'objet de notre note.

Isolément

Nos recherches ont porté sur treize fromages et deux laits de brebis.

Les fromages sont d'origines variées, choisis parmi les fabrications les plus typiques de la région de Roquefort et représentant tous les stades de la fabrication et de l'affinage : en salle chaude, pendant l'égouttage, jusqu'au cinquième jour, en salle froide de laiterie, en cave de salage, en cave d'affinage jusqu'à deux mois.

Dans une première série d'isolement, nous avons suivi la technique classique : ensemencement de dilutions progressives du produit étudié dans des milieux gélosés : lactosérum peptoné, milieu à base de lait digéré par la trypsine selon GUITTONNEAU [2] et milieu au sérum de DEMONT et DORNER [1]. Pour les essais faits parallèlement sur tous ces milieux, nous avons relevé les plus fortes numérations sur le milieu de DEMONT et DORNER.

Dans une deuxième série, nous ne sommes pas passé par les milieux solides. Les produits à examiner étaient ensemencés, en dilutions variables, dans du lait de brebis stérile. On obtenait ainsi des cultures impures, en général ; mais en repiquant fréquemment celles qui coagulaient rapidement le lait, on s'approchait de la pureté de l'espèce dominante. Cette technique nous paraissait préférable, *a priori*, pour mettre en évidence des espèces très vigoureuses. Aussi nous avons été surpris de n'obtenir que peu de résultats intéressants, bien que nous soyons partis de fromages de très belle fabrication, présentant tous les signes d'une bonne fermentation lactique, avec forte acidification du sérum d'égouttage (il y avait donc dans ces fromages prédominance des ferments lactiques

vigoureux ; s'il y avait d'autres espèces présentes, elles ne se manifestaient pas). Or sur dix-neuf essais, deux seulement ont conduit à des cultures lactiques intéressantes ; les autres, après un temps plus ou moins long, donnèrent des coagulums défectueux, certains avec beaucoup de gaz, d'autres avec digestion et alcalinisation. Cette opposition entre ces deux ordres de fait : dans le fromage, d'une part et dans la culture, au laboratoire, d'autre part, nous semble intéressante. Il est probable que ce sont des facteurs physiques qui influent sur ces sélections divergentes. Nous les envisagerons dans notre discussion.

Nous ne retenons comme souches lactiques intéressantes que celles qui coagulent le lait entre 27 et 37° C., qui donnent constamment des coagulums homogènes, fermes, sans bulles de gaz, ni modification ultérieure et qui donnent une acidification notable. Nous n'avons conservé que sept souches qui semblent différentes les unes des autres par leur courbe d'acidification ou par l'examen microscopique. Dans le tableau I, nous reportons quelques caractéristiques de ces souches. Ces ferments se cultivent aussi bien en lait de vache qu'en lait de brebis stérile. Mais nous avons noté très régulièrement que l'acidification dans le lait de brebis est beaucoup plus importante, toutes conditions égales ; en moyenne 20° Dornic en plus.

TABLEAU I

Souche	Examen microscopique	Température de culture (Degrés C.)	Acidités (1)				
			Lait de vache			Lait de brebis	
			16 h.	1 jour	maxim.	1 jour	maxim.
R 1	Cocci	27	75	95	120	110	155
R 2	»	27	45	55	95	90	
R 3	»	37	48	70			
R 4	»	27	65	90	110	100	
R 5	»	27				120	160
R 6	»	27				125	160
R 7	Bacilles	37				130	220

Utilisation des ferments « R » en lait de vache

Dans notre programme, il ne devait s'agir ici que d'un bref essai pratique, préalable à la mise en application de nos ferments dans la fabrication en lait de brebis. Nous avons prolongé ces essais lorsque nous avons constaté les effets surprenants obtenus avec les levains de ces ferments.

(1) Degrés Dornic.

Nous avons opéré dans une fromagerie fabriquant le fromage « bleu », bien équipée pour la préparation des levains lactiques. A cette époque (automne), la fabrication était difficile : caillage lent, égouttage défectueux, fermentation gazeuse à petits trous (improprement appelé « persillage »). L'emploi de levains du ferment Hansen avait sensiblement amélioré cette fabrication. Nous avons alors substitué, pour une partie seulement du lait traité, nos ferments R au ferment Hansen, dans les conditions habituelles résumées ci-dessous.

Une partie du lait reçu (un seul ramassage quotidien le matin), est pasteurisée à 65°, refroidi à 17°, conservé dans une salle fraîche à 14-15°, puisensemencé à un moment déterminé avec le levain lactique à des doses voisines de 1 % ; c'est ce qu'on appelle la « maturation » qui correspond ici à un gros pied de cuve. La durée en était réglée de façon à obtenir en cuve, dans le mélange avec le lait frais, des valeurs d'acidité et du test de coagulation avec le « marshall-cup » qui étaient reconnues convenables pour une telle fabrication. On gagnait en moyenne dans le lait en maturation de 3 à 5 degrés Dornic.

Les levains étaient préparés à la laiterie à partir d'une souche envoyée chaque semaine par le laboratoire. Elle servait à préparer un premier petit levain d'un litre, qui n'était pas utilisé en cuve et ne servait qu'à préparer le deuxième levain, d'un volume adapté aux besoins de la maturation. On repiquait ainsi pendant huit jours en lait écrémé fortement pasteurisé. Dans ces conditions, les ferments utilisés habituellement se propageaient avec une grande régularité, purs et vigoureux, pendant huit jours.

Avec nos ferments R, nous avons tout de suite constaté qu'on ne pouvait obtenir une série de huit levains de bonne qualité ; l'acidité diminuait chaque jour, le temps de coagulation augmentait évidemment (à l'étuve à 27°), des contaminations apparaissaient souvent, bien que les précautions d'aseptie aient été renforcées, et que les levains du ferment Hansen préparés en même temps soient demeurés purs et vigoureux.

Les essais d'utilisation de nos ferments R ont duré sept semaines ; ils ont porté sur des quantités de lait variant de cent à quatre cents litres par opération, à côté de la fabrication normale avec le ferment Hansen et d'une petite fabrication témoin, sans levain. Nous résumons dans le tableau II les constatations relatives à la qualité des levains et des fromages ; nous ne reportons pas tous les chiffres caractéristiques des opérations (acidités, températures, durée des maturations) qui ne présentent pas d'intérêt immédiat.

TABLEAU II
ESSAIS EN LAIT DE VACHE (FROMAGE « BLEU »)

Ferment	Levains			Fromages			Témoins sans ferment
	Nombre de cultures	Normaux	Anormaux	A peu près normaux	Anormaux	Très mauvais	
R 4 1 ^{re} série	9	Les 7 premiers	2 faibles, sans contamination	5 premières fabrications	2 fabrications à égouttage lent	2 fabrications à petits trous	égouttage lent, quelques trous petits
4 2 ^e série	6	Les 4 premiers	2 faibles, sans contamination	0	4 fabrications à petits trous	2 forts gonflements	égouttage lent, quelques trous petits
R 4 3 ^e série	8	les 6 premiers	2 faibles, sans contamination	4 premières fabrications	fermentations à s'aggravant de jour en jour	trous moyens	égout. lent, qq. tr. petits, sauf une fab. sans tr.
R 4 4 ^e série	5	les 2 premiers	2 faibles 1 très contaminé	2 (médiocre)		3 fabrications désastreuses gros trous	Comme 1 ^{re} série
R 1 1 ^{re} série	7	les 7 premiers	0	5 premières fabrications	2 fabrications à petits trous	3 fabrications aggravées	Comme 1 ^{re} série
R 1 2 ^e série	6	les 4 premiers	2 faibles	2 premières fabrications	3 idem	1 idem	Comme 1 ^{re} série
R 6 1 ^{re} série	5	1 (premier)	4 de plus en plus faibles	1 (médiocre)		4 fab. égout. rap. mais tr. fort. gonf.	Comme 1 ^{re} série
R 7 1 ^{re} série	2	2	0	0		2 idem	Comme 1 ^{re} série, sauf une fabric. sans trous

Conclusion

Dans le lait de vache et dans les conditions pratiques de la laiterie, nos ferments R sont difficiles à propager purs et vigoureux ; alors qu'au laboratoire, dans le lait de vache stérile, nous n'avions pas fait de remarques.

Employés comme levains lactiques, ils ne paraissent pas capables d'améliorer une fabrication défectueuse ; au contraire, dans la moitié au moins des essais, il se produit une fermentation gazeuse sans rapport avec celle que présentent les témoins sans ferments.

Utilisation des ferments « R » en lait de brebis

(Fabrication Roquefort)

Après les résultats décevants obtenus en lait de vache, nous étions perplexes quant à l'emploi de nos ferments, sous forme de levain, dans la fabrication de Roquefort. Nous avons commencé par faire six essais prudents, avec chacune des souches, en variant les conditions de l'emploi.

Nous avons opéré sur des quantités de lait de brebis variant de vingt à quatre-vingt litres ; c'est-à-dire sur deux à sept pains de fromage (car le rendement en Roquefort est au moins le double du rendement en « bleu »). Nous avons suivi deux techniques : a) longue maturation d'une partie du lait pasteurisé et refroidi, avec le levain ; b) sans pasteurisation, tout le lait à cailler estensemencé avec le levain trente à quarante-cinq minutes avant l'emprésurage, à la température de 30°.

Nous avons constaté dès les premiers essais que les résultats aberrants obtenus dans le lait de vache ne se reproduisaient pas dans le lait de brebis. Nous avons obtenus de bons fromages, parfois nettement améliorés par rapport aux fromages témoins, sans ferment. Même dans les essais où nous avons employé des doses excessives de levains, pour en faire une épreuve sévère, nous avons obtenu des fromages durs, mais sans fermentation gazeuse.

Nous n'avons eu aucune difficulté dans la préparation des levains. Dans des séries de huit jours de préparations consécutives, nous avons obtenu dans chaque repiquage une vigueur normale et pas de contamination.

L'application a été faite dans une région où la fabrication était réputée difficile (caillage mou, petits trous de gaz). Aussitôt après les petits essais, nous avons entrepris une série de huit grands essais sur tout le lait d'une journée. Nous avons obtenu à nouveau les mêmes bons résultats que précédemment.

Dans les deux tableaux suivants, nous rassemblons et résumons les appréciations portées par cinq examinateurs sur les fromages fabriqués au cours de nos essais.

TABLEAU III
 PETITS ESSAIS EN LAIT DE BREBIS (FROMAGES DE ROQUEFORT)

Essais	Levain du ferment :	Observation en cours de fabrication	Observation sur les fromages	
			Frais	Affinés
1	R 4 Témoins	normale normale	les 2 lots sont semblables, petits trous peu nombreux	tous les fromages sont moyens
2	R 6 R 7 Témoins	normale caillage lent, mou normale un peu mou	les 3 lots sont à peu près sem- blables, pâte correcte, pe- tits trous peu nombreux	R 6 excellents fromages R 7 (non revus ?) Témoins fromages moyens (inférieurs au 1 ^{er} lot R 4)
3	R 4 R 7 Témoins	normale rapide, ferme, excès de matu- ration doux, lente	belle pâte homogène pâte dure, mais homogène humides, trous de gaz	excellents fromages fromages moyens un peu acides fromages médiocres, sérum persistant dans les trous
4	R 1 Témoins	normale caillage doux, égouttage lent	normaux mal égouttés, nombreux trous de gaz	bons fromages, beau bleu mauvais fromages, bleu rare, amers
5	R 7 Témoins	trop rapide, acide lente	très fermes, belle pâte serrée très médiocres	affinage lent, un peu sec mauvais fromages
6	R 4 R 4 Témoins	rapide maturation excessive, acidité 36° en cuve. normale	belle pâte très secs, acides très secs, acides mal égouttés	fromages moyens pâte courte, friable ; acides améliorés, normaux

TABLEAU IV
GRANDS ESSAIS EN LAIT DE BREBIS (FROMAGES DE ROQUEFORT)

Essais	Levain du ferment	Observations en cours de fabrication	Observations sur les fromages	
			Frais	Affinés
7	R 4	normale	pâte correcte, rares petits trou	très bons fromages
	R 7	normale	pâte ferme, quelques trous moyens	améliorés en cave, bons
	Témoins	normale	corrects, comme le 1 ^{er} lot	tardifs, secs, blancs
8	R 4	normale	pâte un peu acide, rares petit trous	améliorés, bons
	Témoins	normale	pâte gonflée	médiocre, trous persistants
9	R 7	un peu rapide	pâte ferme, quelques petits trous	bonne qualité
	R 6	normale	comme le 1 ^{er} lot	un peu en retard sur le 1 ^{er} lot
	Témoins	normale	comme le 1 ^{er} lot.	très en retard, secs, acides
10	R 1	normale	très belle pâte ferme	excellents, beau bleu
	Témoins	caillage lent	mal égouttés, trous	passables, mais acides
11	R 6	normale	moyens, quelques trous	(pas revus ?)
	R 7	normale	moyens, quelques trous	bonne qualité
	Témoins	lent, égouttage difficile	humides, mous, trous de gaz nombreux	en retard, médiocres
12	R 4	normale	un peu sec, belle pâte	bons, un peu tardifs
	R 6	normale	quelques petits trous	bons, beau bleu
	Témoins	très lente	mal égouttés	très en retard, pâte blanche

Discussion

Nous nous trouvons donc devant une indéniable différence de comportement, d'une même espèce de bactérie lactique, en passant du lait de vache au lait de brebis, dans les conditions pratiques de la fromagerie. Avec les ferments lactiques commerciaux, originaires du lait de vache, nous n'avons jamais constaté de variation.

Il y a deux ordres de faits :

1. Nos ferments « R » se propagent péniblement dans le lait de vache, pour la préparation des levains ; leur pouvoir acidifiant et leur résistance aux contaminations baissent rapidement ; alors que dans le lait de brebis la préparation de levains de ces ferments se fait régulièrement bien.

2. Nos ferments n'apportent aucune correction appréciable dans des fabrications défectueuses de fromage de lait de vache ; au contraire, ils paraissent être parfois la cause d'une aggravation des fermentations gazeuses. Dans le lait de brebis, nous n'avons constaté aucun effet anormal, mais au contraire, à plusieurs reprises, des améliorations nettes.

Il serait sans doute excessif de parler d'une véritable spécificité microbienne ; on peut cependant admettre que nos ferments « R » sont des espèces bien particulières, très adaptées au lait de brebis qui est le milieu originel.

Pour tenter d'éclairer cette question d'une autre manière, nous allons rapidement examiner quelques notions classiques :

1. *Les différences de composition* (chimiques) qui sont notables entre le lait de vache et le lait de brebis, doivent certainement intervenir. Ces différences ne sont pas seulement d'ordre quantitatif (teneurs en éléments principaux, approximativement doubles dans le lait de brebis). On connaît assez bien les différences qualitatives concernant les lipides ; il est permis d'en envisager pour les constituants secondaires, et qui peuvent être importantes pour le métabolisme des bactéries. On pourrait situer là une des causes des variations que nous avons constatées.

2. *Les facteurs physiques* peuvent jouer un grand rôle dans de tels phénomènes. Or ils varient sensiblement quand on passe de la fabrication fromagère en lait de vache à la fabrication en lait de brebis, bien que les fromages considérés soient de même type. Notamment dans la fabrication du Roquefort, la durée des diverses phases de la fabrication est bien plus longue ; les acidités et les températures sont un peu plus élevées.

On connaît des exemples de bactéries produisant abondamment du gaz dans un milieu et ne montrant pas de dégagement dans un autre milieu physiquement très différent. C'est le cas des bactéries

propioniques qui causent l'« ouverture » du gruyère, et qui ne donnent en général pas de dégagement gazeux apparent en cultures liquides. HASSOUNA et ALLEN [3] ont signalé le cas d'un *Streptococcus paracitrovorus* qui ne donne pas de gaz dans le lait (il est utilisé comme starter) et qui peut être la cause du gonflement des boîtes de lait condensé. Mais dans ces deux exemples, il y a des différences d'état physique plus considérables que dans le cas que nous avons étudié.

Ces auteurs [3] ont titré le gaz produit en quantités minimales par les bactéries lactiques courantes, et dissous dans le milieu de culture. Il semble bien que cette production de gaz soit une propriété assez générale des bactéries et que dans certains cas, elle se manifeste de façon irrégulière.

Dans un récent travail [5], MOCQUOT et SCOTT BLAIR ont constaté qu'il y a un rapport net entre l'élasticité de la pâte (caractère physique) et le nombre de trous de gaz dans le fromage de gruyère, sans que l'on puisse invoquer des différences dans l'ensemencement. C'est un exemple intéressant de l'influence d'un facteur physique sur la production de gaz.

On pourrait donc faire l'hypothèse, dans notre cas, que ce sont des différences dans la nature des pâtes de fromages qui sont la cause des variations que nous avons étudiées. Cependant une partie de nos observations échappe à cette explication ; la production de gaz est loin d'être constante dans le seul fromage de lait de vache, dans des conditions qui paraissent identiques ; de plus, il faut noter que les ferments ordinairement employés (ferments de Hansen) ne présentent aucune de ces variations, en passant d'un lait à l'autre.

3. Il est possible aussi d'envisager des *variations dans le métabolisme* d'une bactérie définie. Un cas intéressant a été signalé par J. G. DAVIS [4] ; il a trouvé dans les parties profondes du fromage de Cheddar des souches de *Sc. cremoris* d'un type anormal : elles produisent des gaz et une légère peptonisation, alors qu'habituellement cette espèce n'en produit pas. On peut relier cet exemple de variabilité avec celui que nous avons constaté ; cependant, il ne nous suggère pas une explication satisfaisante.

4. On peut encore penser *aux phénomènes d'inhibition*, qui sont maintenant bien connus pour les ferments lactiques (voir notamment la dernière publication de HOYLE et NICHOLS [6]). Nos ferments « R » pourraient ainsi être complètement inhibés dans les pieds de cuves par des ferments lactiques du lait de vache — qu'on ne rencontrerait jamais dans le lait de brebis — ; mais il faudrait admettre en même temps qu'il se produise une exaltation maximum des espèces gonflantes présentes dans le lait. Supposition fragile ! Nous avons constaté plusieurs fois que les fromages témoins ne

présentaient pas de trous de gaz alors que les fromages avec levain « R » montraient une fermentation gazeuse énorme.

Ces considérations qui n'apportent pas d'explication satisfaisante, nous conduisent à reprendre ce que nous avons admis en débutant : nos ferments « R » sont des espèces particulières au lait de brebis.

Cette étude fait partie d'un ensemble de travaux effectués au Laboratoire de la Société « l'Auvergne Laitière », sur l'instigation de M. R. CHAMP, Directeur. Nous lui exprimons notre gratitude.

Ce travail doit beaucoup aux conseils de M^{lle} J. BRIGANDO et à l'appui de M. J. BOSCH, que nous remercions vivement.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DEMONT et DORNER. *Le Lait*, 1931, 108, 801.
- [2] GUITTONNEAU, SAJOUS et DE PEET. *Le Lait*, 1930, 96, 614.
- [3] HASSOUNA et ALLEN. *Journal Dairy Res.*, 1939, X, 7.
- [4] J. G. DAVIS. *Journal Dairy Res.*, 1935, VI, 188.
- [5] MOCQUOT et SCOTT BLAIR. *Dairy Ind.*, 1947, oct.
- [6] HOYLE et NICHOLS. *Journal Dairy Res.*, 1948, XV, 998.

LE COLOSTRUM ET LE LAIT DANS LEURS RAPPORTS AVEC L'IMMUNITÉ DU JEUNE

par

E. LEMETAYER, L. NICOL, O. GIRARD, R. CORVAZIER
et M. CHEYROUD

I. INTRODUCTION

On sait depuis longtemps que l'immunité naturelle ou acquise des mères se transmet à leur progéniture et que cette immunité est de courte durée. Il en est ainsi pour la variole, chez l'homme (LEREBoullet, BUCHNER, BURCKHART) ; le charbon, chez le mouton (CHAUVEAU, ROSSIGNOL et CIENKOWSKY), la clavelée, le charbon symptomatique, la rage (ARLOING, CORNEVIN et THOMAS, KITASATO, KONRADI), etc.

Dès 1892, EHRLICH [1], le premier, met en évidence un des mécanismes de cette transmission de l'immunité de la mère au jeune. D'une part, il montre que les anticorps passent de la mère au fœtus par l'intermédiaire du placenta (études effectuées sur des animaux immunisés au moyens de poisons végétaux : ricine et abrine).

Ces recherches sont par la suite confirmées par de nombreux auteurs sur des femelles vaccinées au moyen de l'antigène téanique (EHRLICH et HÜBENER 1894, WERNICKE 1896, VAILLARD 1896, REMLINGER 1899) ou de l'antigène diphtérique (ABEL 1894, FISCHL et WUNSCHHEIM 1896).