

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

MÉMOIRES ORIGINAUX :

J. HERMIER. — L'origine des spores de thermophiles dans le lait stérilisé en bouteilles 129

Problème d'actualité : Protéines - Matière grasse ? . 144

D. HUGOT, M. J. CAUSERET et M. G. MOCQUOT. — Valeurs biologiques comparées des protéines du lait, de la caséine acide et de deux échantillons de caséine lactique 150

REVUE :

G. GÉNIN. — L'industrie laitière dans le monde . . 155

BIBLIOGRAPHIE ANALYTIQUE :

1° Les livres 162
2° Journaux, Revues, Sociétés savantes 174

3° Brevets 217

BULLETIN BIBLIOGRAPHIQUE :

1° Les livres 222

2° Journaux, Revues, Sociétés savantes 223

3° Brevets 231

DOCUMENTS ET INFORMATIONS :

Panorama du lait à travers les âges 232

Commerce mondial des produits laitiers en 1959 . . . 238

Production mondiale du beurre en 1959 239

Contrôle des produits de la laiterie en Suède en 1959 . 240

L'industrie laitière autrichienne 240

Nouvelles de Grande-Bretagne 240

Bicentenaire de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon 240

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

L'ORIGINE DES SPORES DE THERMOPHILES DANS LE LAIT STÉRILISÉ EN BOUTEILLES

par

J. HERMIER

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

I. — INTRODUCTION

L'examen bactériologique des bouteilles de lait stérilisé comporte la recherche des germes sporulés mésophiles après une incubation à 30° C ainsi que des germes sporulés thermophiles après une incubation à 55° C. L'ensemble des contrôles bactériologiques effec-

(1) Reproduction interdite sans indication de source

tués pendant ces dernières années en France par les laboratoires officiels [14] et industriels [11] montre que le lait stérilisé en bouteilles est stérile après incubation à 30° C, mais ne l'est pas après incubation à 55° C ; la proportion des échantillons non-stériles dans ce dernier cas varie de moins de 1 p. 100 à plus de 50 p. 100 suivant l'origine et la date de fabrication. Cette proportion élevée de bouteilles non-stériles après incubation à 55° C s'explique par la thermorésistance exceptionnelle des spores de thermophiles (CLEGG [2], HERMIER et BERGERE [7], GALESLOOT et LABOTS [4]).

Quelle est l'origine de ces spores ?

Dans les procédés de fabrication actuellement en usage, le lait, avant d'être mis en bouteilles, subit un traitement thermique dit « prérépétition », qui consiste en un chauffage à 135-145° C pendant 5 à 20 secondes, suivi d'un refroidissement à la température d'embouteillage (65 à 70° C) dans un appareil de traitement du lait à ultra-haute-température (par abréviation UHT). Puisque le lait à la sortie de l'appareil de traitement UHT est stérile (FRANKLIN et al. [3], THIEL et AKAM [13], THIEULIN et al. [15]) il faut admettre que les spores ayant résisté à la stérilisation finale en bouteilles sont apportées dans le lait entre le moment où celui-ci sort de l'appareil UHT et le moment où la bouteille de lait est capsulée. Les bouteilles vides à la sortie de la laveuse à bouteilles et les bouchons-couronne contiennent un nombre très faible de spores de thermophiles et ne peuvent représenter la source principale de la contamination (GALESLOOT et LABOTS [14]). La possibilité que des spores soient apportées par l'air au moment de l'embouteillage n'a pas été étudiée.

En fait, l'hypothèse la plus généralement admise est celle d'une contamination résultant de la prolifération de sporulés thermophiles dans la section de la chaîne parcourue par le lait et comprise entre l'appareil de traitement UHT et la capsuleuse, section dans laquelle le lait est maintenu à une température de l'ordre de 65 à 70° C. C'est ainsi qu'en 1953, BURTON et al. [1], au cours de l'étude d'une chaîne industrielle de stérilisation du lait en bouteilles, ont montré que le nombre de spores de thermophiles semblait plus élevé en aval qu'en amont de la remplisseuse et ont suggéré que celle-ci représentait une source de contaminations en spores de thermophiles. Les observations effectuées par PEYLET en 1958 [11] indiquent que cette dernière hypothèse est la plus vraisemblable. La numération des spores de thermophiles dans le lait à la sortie de la remplisseuse a conduit GALESLOOT et LABOTS [14] à la même conclusion : les spores proviennent d'une infection du lait au

moment de l'embouteillage par des germes thermophiles qui se sont développés et ont sporulé dans le lait chaud, à l'intérieur de la remplisseuse.

Donc, pour élaborer des moyens de lutte efficaces contre cette contamination, il faut au préalable connaître dans quelles conditions les sporulés thermophiles sont capables de se multiplier et de former des spores dans la remplisseuse. Aussi, dans ce qui suit, nous avons étudié les caractéristiques du cycle de croissance (germination des spores, multiplication végétative, formation des spores) d'un certain nombre de souches de sporulés thermophiles isolés d'échantillons de lait stérilisé commercial, dans le double but

a) de voir si les caractéristiques du cycle de croissance sont compatibles avec l'hypothèse de la contamination par la remplisseuse ;

b) de définir des moyens de lutte contre cette contamination du lait par les spores de thermophiles.

Cette étude est précédée des résultats obtenus au cours d'un contrôle bactériologique de bouteilles de lait stérilisé commercial.

II. — TECHNIQUES

1. Contrôle bactériologique du lait stérilisé commercial.

Un jour par semaine, et ceci pendant 8 semaines consécutives, un lot de 15 bouteilles contenant chacune 0,85 litre de lait était prélevé à la sortie d'un stérilisateur industriel ; pour chaque lot, les bouteilles étaient prises au hasard, à raison d'une bouteille toutes les 5 minutes. Ces prélèvements, toujours effectués dans la même usine, ont porté sur un total de 120 bouteilles.

Les bouteilles étaient transportées au laboratoire où elles étaient débouchées aseptiquement, et rebouchées avec un bouchon de coton stérile. Après un séjour d'une heure au bain-marie à 55° C pour réchauffer le contenu des bouteilles, ces dernières étaient placées dans une étuve à 55° C.

Chaque jour et à partir de chaque bouteille, on a effectué à l'aide d'une anse de platine calibrée à 0,05 ml, d'une part un frottis, ensuite coloré avec une solution de bleu de méthylène alcoolique (0,5 g de bleu de méthylène dans 100 ml d'alcool à 95°), d'autre part un ensemencement en stries sur milieu de MOSSEL [9] en boîtes de Petri, ensuite incubées une nuit à 55° C. Ces prélèvements accompagnés d'un examen visuel du lait ont été poursuivis pendant les 11 jours d'incubation à 55° C. Les bouteilles non-coagulées à la fin des 11 jours d'incubation, ont été gardées à l'étuve pendant une période supplémentaire de 9 jours, à la fin de laquelle était effectué un double prélèvement comme plus haut.

2. Etude du cycle de croissance des sporulés thermophiles dans le lait UHT.

a) Lait « UHT ».

Le lait « UHT » est obtenu par traitement de lait cru de mélange (provenant du troupeau du C.N.R.Z.) écrémé dans un stérilisateur UHT de laboratoire, qui est un modèle réduit du stérilisateur industriel UHT Laguillarre (HERMIER et al. [8]). Le lait, après un chauffage à 140° C pendant 6 à 8 secondes, est recueilli aseptiquement en flacons de 500 ml stériles et conservé à 4° C jusqu'à l'emploi.

b) Souches de sporulés thermophiles.

A partir des bouteilles mises à incuber à 55° C, 77 souches ont été isolées et purifiées par trois passages successifs sur gélose nutritive « GN 6 » (Extrait de viande Lab-Lemco 10 g, gélose 25 g, eau 1 000 ml ; pH 6). L'ajustement du pH à 6 est important ; à pH 7, le repiquage de la souche devient impossible après un ou deux transferts. Les souches sont conservées à 4° C sur gélose nutritive GN 6. 16 d'entre elles ont été choisies au hasard pour une étude approfondie du cycle de croissance. En plus de ces 16 souches, nous avons étudié le comportement de *Bacillus stearothermophilus* NCA 1 518 (1).

c) Préparation des spores.

Une préculture est obtenue en ensemençant un tube de bouillon (de même composition que le milieu GN 6, mais sans gélose) à partir d'une culture-stock, et en l'incubant une nuit à 55° C. Cette préculture est étalée à la surface d'une couche de gélose GN 6 en boîte de Roux. Après 48 heures d'incubation à 55° C, la surface de la gélose est raclée et la culture transférée dans un flacon d'eau stérile. La suspension ainsi obtenue est lavée trois fois à l'eau distillée stérile et conservée à 4° C. Après 2 à 3 mois de séjour, à cette température les cellules végétatives non-sporulées sont lysées et la suspension ne renferme plus que des spores libres. Elle est alors à nouveau lavée 3 fois avec de l'eau distillée stérile et conservée à 4° C.

d) Températures de croissance.

Des tubes de 10 ml de lait UHT, préalablement portés à la température de croissance étudiée, sont inoculés avec 0,05 ml d'une préculture de cellules végétatives ou d'une suspension de

(1) Cette souche nous a été obligeamment fournie par le Dr Fuchs, Alpura, Berne (Suisse).

spores à 10^5 spores par ml. La préculture est obtenue en incubant à 55°C pendant 8 heures du lait UHT inoculé avec 10^4 spores par ml. Les incubations sont effectuées dans des bain-marie d'eau ou de glycérine dont la température est maintenue constante à $\pm 0,2^\circ\text{C}$ près.

e) *Germination des spores.*

Un certain volume de la suspension de spores est centrifugé et les spores sont mises en suspension dans du lait, de façon à obtenir une concentration de 5×10^7 spores par ml. Un ml de cette suspension est transvasé dans un tube de verre de 10 mm de diamètre intérieur, plongé dans un bain-marie de glycérine à 65°C . A partir de prélèvements périodiques à l'aide d'une pipette Pasteur, on effectue des frottis de lait qui sont colorés par une modification de la méthode de POWELL [12] : le frottis après fixation à l'alcool à 95° est recouvert avec la solution de bleu de méthylène alcoolique, après 2 minutes de contact, le frottis est flambé, lavé et séché. Les spores germées apparaissent colorées en bleu et les spores non germées restent blanches.

f) *Croissance et sporulation.*

Les cultures sont effectuées dans un thermostat comportant 12 cavités cylindriques permettant l'introduction de pots en verre pyrex de 70 mm de diamètre intérieur, fermés par un bouchon de caoutchouc. Le lait est vigoureusement agité dans chaque pot à l'aide d'un agitateur magnétique. La température est maintenue constante à $\pm 0,2^\circ\text{C}$ près.

Chaque pot contient 10 ml de lait UHT, additionné de 1/10 000 de pourpre de bromocrésol et ensemencé avec 10 000 spores. Toute variation de $p\text{H}$, décelée par le changement de teinte du pourpre de bromocrésol, est compensée par l'addition d'une solution de soude stérile N/l.

Pendant l'incubation, on effectue des prélèvements périodiques de 0,1 ml de lait, qui sont immédiatement dilués dans un tampon phosphate M/200 à 37°C suivant la technique de NÉLSON et al. [10], pour la numération des sporulés thermophiles. La numération des colonies est faite après une incubation de 20 h à 55°C ; une incubation de plus longue durée ne modifie pas le nombre de colonies.

La numération des spores s'effectue de la même façon, mais le prélèvement de 0,1 ml de lait est ajouté à 1,9 ml de lait UHT stérile et chauffé à 100°C pendant 2 minutes pour détruire les cellules végétatives.

III. — RÉSULTATS

1. **Contrôle bactériologique du lait stérilisé commercial.**

Au cours de l'incubation à 55° C, le contenu des bouteilles de lait s'altère très rapidement puisque 74 p. 100 des bouteilles altérées pendant la période d'incubation de 11 jours, le sont après 2 jours d'incubation, et 97 p. 100 après 5 jours. Les bouteilles non-altérées à la fin de l'incubation restent non-altérées quand l'incubation est poursuivie pendant 9 jours supplémentaires.

Les prélèvements journaliers effectués sur chaque bouteille ont permis de suivre l'évolution de la population microbienne au cours de l'incubation (fig. 1). En règle générale, la croissance est décelable (par ensemencement de 0,05 ml de lait), la veille du jour où se produira l'altération visible du lait ; à ce stade, le frottis effectué en même temps que l'ensemencement montre des cellules végétatives dans la grande majorité des cas. Dans 3 bouteilles seulement (une bouteille coagulée après 5 jours et 2 bouteilles coagulées après 7 jours d'incubation), la croissance a pu être décelée par ensemencement ou par examen microscopique 2 jours avant la date de coagulation du lait.

Dans les jours qui suivent la coagulation du lait, les cellules des microorganismes responsables de l'altération se lysent rapidement, au point que le frottis peut devenir négatif 24 heures après la coagulation du lait. En règle générale, le frottis, effectué à partir du contenu des bouteilles 3 jours après la coagulation du lait, est négatif dans plus de 50 p. 100 des cas. A la fin des 11 jours d'incubation, tous les frottis sont négatifs.

Le contrôle de la croissance par ensemencement de 0,05 ml de lait peut donner des résultats négatifs 2 jours après la coagulation du lait. A la fin des 11 jours d'incubation, 37 bouteilles, soit 48 p. 100 des bouteilles altérées, donnaient encore une sub-culture positive.

2. **Croissance dans le lait UHT des sporulés thermophiles.**a) *Température optimum de croissance.*

Quand l'inoculum est constitué par des cellules végétatives, les courbes indiquant le pH de la culture après 8 heures d'incubation en fonction de la température d'incubation, peuvent se classer en 3 groupes (fig. 2).

Groupe A : maximum bien défini à 65° C (cas de 12 souches) ;

Groupe B : maximum étalé entre 55 et 70° C (cas de 3 souches),

Groupe C : maximum à 60° C (cas de 1 souche).

Aux températures supérieures ou égales à 73° C, il n'y a pas de

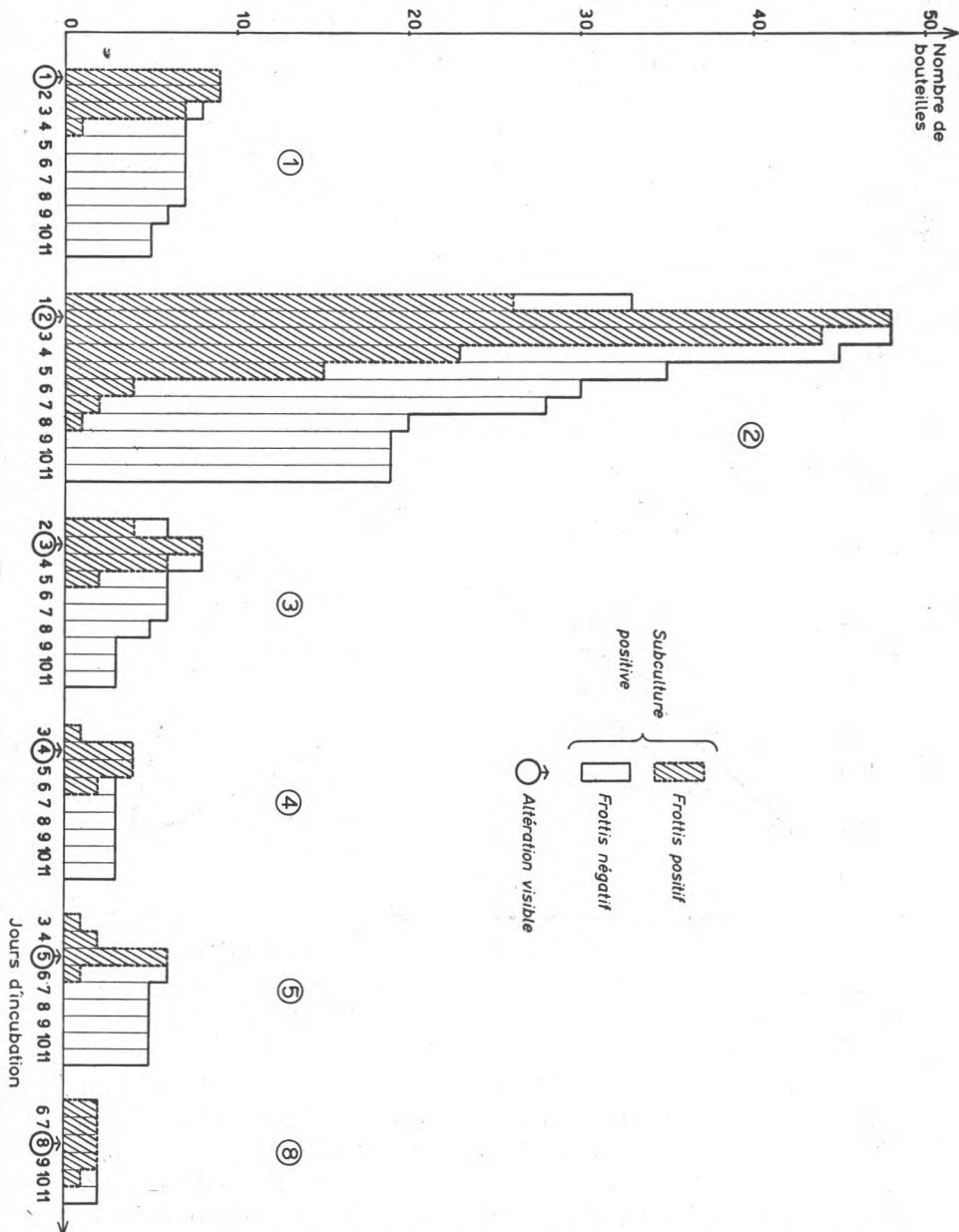


Fig. 1. — Evolution des sporulés thermophiles au cours de l'incubation à 55° C de bouteilles de lait stérilisé commercial. Chaque histogramme rassemble les données relatives à l'ensemble des bouteilles altérées après un nombre donné (figurant au-dessus de l'histogramme) de jours d'incubation.

En ordonnée, le nombre de bouteilles présentant une subculture positive.

variation de pH de la culture après une incubation de 24 heures ; il en est de même pour les températures inférieures ou égales à $45^{\circ} C$.

La croissance à $45^{\circ} C$ et à $37^{\circ} C$ a été reprise en utilisant un inoculum constitué par des spores ; on évite ainsi les difficultés éventuelles d'adaptation à une nouvelle température des cellules qui se sont multipliées à $65^{\circ} C$.

L'incubation est poursuivie pendant 35 jours. Dans de telles conditions, le lait coagule après 4 à 10 jours d'incubation à $45^{\circ} C$, mais ne présente pas d'altération après 35 jours d'incubation à $37^{\circ} C$. Il y a donc croissance à $45^{\circ} C$ et non à $37^{\circ} C$.

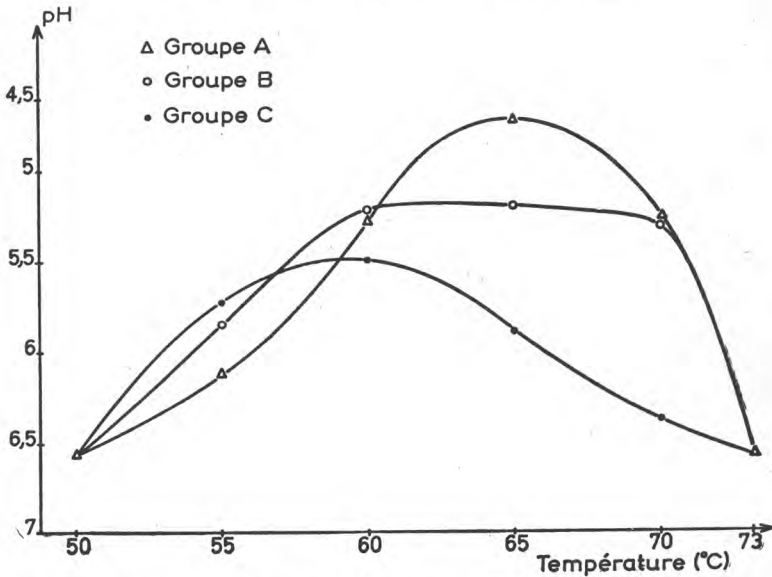


FIG. 2. — Courbe du pH de la culture des sporulés thermophiles après 8 heures d'incubation en lait UHT, en fonction de la température d'incubation.

Les souches étudiées ici appartiennent par conséquent au groupe 3 O de la classification de GALESLOOT et LABOTS [4], caractérisé par une coagulation acide du lait et l'absence de croissance à $37^{\circ} C$. Ces auteurs ont montré que les sporulés thermophiles isolés du lait stérilisé commercial appartiennent au groupe 3 O et au groupe 3 F (croissance à $37^{\circ} C$) et que l'on trouvait en général un seul type dans les échantillons altérés provenant d'une même usine, ce qui est confirmé dans le cas étudié ici. Les souches isolées par GRINSTED et CLEGG [5] ne présentent pas non plus de croissance à $37^{\circ} C$.

Puisque la température maximum est de 65° C, la suite des essais s'est déroulée à cette température. L'étude a porté sur 7 souches du groupe A et 1 souche du groupe B (n° 150).

b) *Vitesse de germination des spores* (tableau I).

La germination des spores, mesurée par leur aptitude à se colorer par le bleu de méthylène, commence dans les 30 premières minutes d'incubation à 65° C, sauf pour la souche n° 150 qui est caractérisée par une germination lente (10 p. 100 en 60 mn). La première division cellulaire, qui marque la fin de la germination, apparaît dans la première heure d'incubation. Dans les mêmes conditions, 30 p. 100 des spores de *B. stearothermophilus* NCA 1 518 germent en 15 minutes, et la première division se produit à la fin de la première heure d'incubation.

TABLEAU I
VITESSE DE GERMINATION A 65° C
DES SPORULÉS THERMOPHILES DANS LE LAIT UHT

Durée d'incubation (en mn) Numéro de la souche	% de germination				
	0	15	30	45	60
64	2	3	10	8	15*
128	0	3	17	13*	28*
148	0	15	16	43*	80*
150	2	2	2	2	10*
171	3	18	20	21*	36*
211	0	20	24	22	20*
275	5	22	20	25*	32*
<i>B. stearothermophilus</i> 1518	4	30	29	31	27*

* = Quelques cellules sont entrées en division.

c) *Vitesse de croissance et sporulation.*

Au cours d'essais préliminaires [7], nous avons montré que les cellules végétatives étaient capables de sporuler dans le lait UHT, à la seule condition que le lait soit fortement agité et qu'il y ait formation de mousse. Nous avons repris cette étude sur 7 souches en nous plaçant dans des conditions expérimentales reproduisant les conditions qui existent à l'intérieur de la remplisseuse : une forte aération et un pH du lait sensiblement constant puisque le lait est renouvelé à l'intérieur de la remplisseuse. La croissance

et la sporulation éventuelle ont donc été étudiées dans un lait UHT maintenu à une température constante (65° C), à un pH constant (6,6) et agité énergiquement (pour les détails techniques, voir page 133).

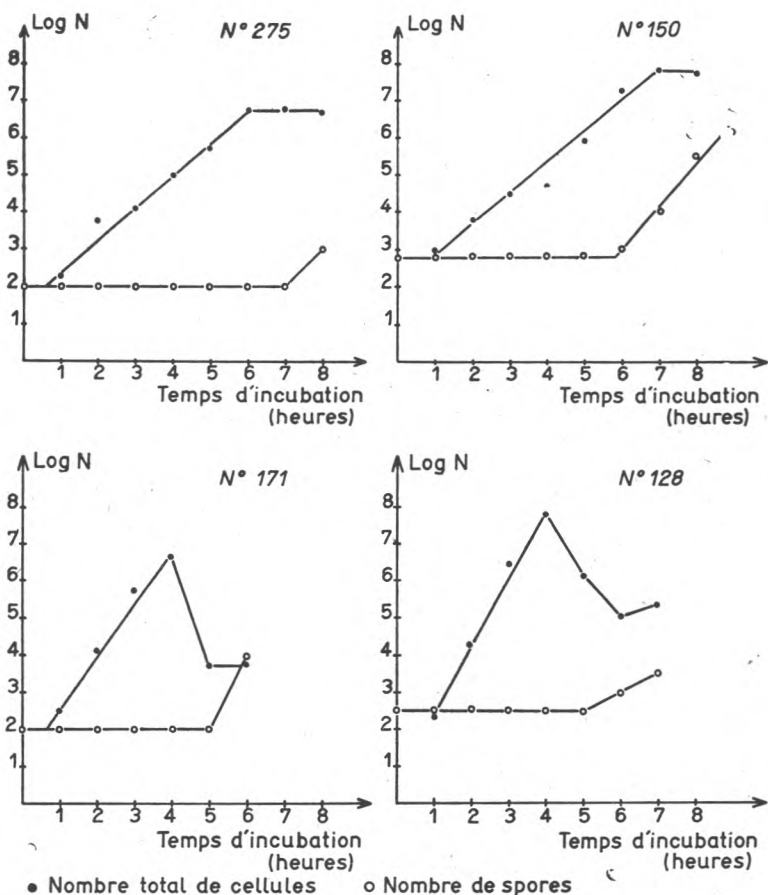


Fig. 3. — Courbes de croissance des sporulés thermophiles dans le lait UHT à 65° C.

Les courbes de croissance, dont on donne quatre exemples dans la figure 3, sont du même type. Après une période de latence, d'environ 1 heure, correspondant au temps nécessaire pour la germination, on entre immédiatement dans la phase exponentielle de croissance. Le temps moyen qui sépare deux divisions cellulaires est de 18,7 mn, les deux valeurs extrêmes étant de 9,7 et

31,2 mn (Tableau II). Dans les mêmes conditions de croissance, le temps qui sépare deux divisions cellulaires est pour *Bacillus stearothermophilus* NCA 1518, de 20,9 mn. A la fin de la phase de croissance exponentielle, la croissance s'arrête brutalement, et le nombre de cellules viables reste constant ou diminue : ceci correspond au début de la sporulation qui apparaît donc à la fin de la croissance exponentielle, c'est-à-dire 6 à 10 heures après le début de la culture (Tableau II).

TABLEAU II
CROISSANCE ET SPORULATION A 65° C
DES SPORULÉS THERMOPHILES DANS LE LAIT UHT

N° de la souche	Temps séparant deux divisions (mn)	Temps d'apparition des spores (h)
64	16,5	9
128	9,7	6
148	31,2	10
150	21,3	7
171	12,7	6
211	18,6	9
275	20,7	8
Moyenne	18,7	7,9
<i>B. stearothermophilus</i> 1518 ..	20,9	10

Ces valeurs sont à rapprocher des résultats obtenus par GRINSTED et CLEGG [5]. Ces auteurs mentionnent que les souches de sporulés thermophiles qu'ils ont isolées du lait stérilisé sporulent, dans des conditions qu'ils ne définissent pas, en 6-7 heures à 63° C.

IV. — DISCUSSION

Les résultats qui précèdent apportent des renseignements sur le mécanisme de contamination du lait stérilisé par les spores de thermophiles.

Sur 16 souches étudiées, 15 ont leur optimum de température de croissance à 65° C. Des mesures de la température du lait à la sortie de la remplisseuse pendant la période de prélèvement des échantillons à l'usine ont montré que la température du lait variait entre 63° C et 68° C. Cette coïncidence entre la température optimum

de croissance des souches isolées et la température du lait dans la remplisseuse est favorable à l'hypothèse d'une contamination résultant d'un développement des thermophiles dans la chaîne de stérilisation.

Le développement des thermophiles n'a de répercussion sur la stérilité du produit final que si les cellules végétatives ont la possibilité de former des spores. La sporulation n'est possible que dans du lait fortement aéré : ceci désigne la remplisseuse comme emplacement favorable pour la sporulation. En effet, les bouteilles sont remplies par dépression et l'air aspiré traverse le bac d'alimentation de la remplisseuse, y provoquant la formation de mousse. Toutefois cette sporulation, comme le montrent les courbes de croissance en lait UHT, à pH constant, ne se produit qu'à la fin de la croissance, entre la 6^e et la 10^e heure après le début de l'incubation. Autrement dit, le nombre de spores — et finalement le nombre de bouteilles non-stériles — doit augmenter après un certain nombre d'heures de fabrication : ceci concorde bien avec les observations de PEYLET [11] montrant que le nombre de bouteilles non-stériles augmente à partir de la 7^e heure de fabrication.

Le cycle de contamination par les spores de thermophiles est donc le suivant. Au début d'une fabrication, les spores qui ont échappé au nettoyage germent dans le lait UHT et la première division cellulaire se produit en 1 heure au maximum. Puis les thermophiles se multiplient dans toute la section de la chaîne comprise entre l'appareil de traitement UHT et la remplisseuse. Jusqu'à la 6^e heure de fabrication, il n'y a pas formation de nouvelles spores ; ce sont les spores formées au cours de la fabrication précédente qui, entraînées par le lait dans les bouteilles, sont responsables des cas de non-stérilité. Puis à partir de la 6^e heure de fabrication, des spores sont formées dans la remplisseuse, et à partir de ce moment le nombre des spores de thermophiles dans les bouteilles va sans cesse en augmentant. A la fin de la fabrication, la plus grande partie des spores nouvellement formées seront éliminées par les opérations de nettoyage, mais il en restera suffisamment pour assurer la recontamination du lait au début de la fabrication suivante.

Ces spores qui perpétuent la contamination de jour en jour peuvent provenir soit de l'air de la salle de conditionnement, soit de certains points du matériel difficiles à nettoyer. En utilisant un appareil spécialement construit pour la numération des micro-organismes de l'air et en particulier des spores (GROSCLAUDE et HERMIER [6]) nous avons trouvé dans l'air de 3 salles d'embouteillage, un nombre de spores atteignant au maximum 5 par mètre cube d'air. Ce faible nombre est vraisemblablement suffisant pour

assurer la recontamination du circuit au début d'une nouvelle fabrication, mais il ne suffit pas à entraîner la non-stérilité des bouteilles pendant les premières heures de marche.

Le cycle des contaminations étant déterminé, quatre moyens peuvent être envisagés pour empêcher la contamination par les spores.

1. Supprimer les recontaminations d'une fabrication à la suivante.

La recontamination est assurée par les spores, car les cellules végétatives ont été détruites au cours de l'opération de nettoyage. La résistance des spores, aussi bien à la chaleur qu'à des agents de nettoyage (CLEGG [2]), rend illusoire toute tentative de détruire les spores à moins de pouvoir passer tout le circuit à la vapeur sous pression, ce qui est impossible avec les remplisseuses actuelles, dont le nettoyage est souvent malaisé. Le lait se trouvant au contact de l'air, il est de toute façon impossible d'éviter les spores dispersées dans l'air.

2. Détruire les spores introduites dans les bouteilles.

Le traitement thermique n'étant pas suffisant, il faut envisager un adjuvant au traitement. Nous avons déjà montré (HERMIER et BERGERE [7]), que l'addition au lait de 10 Unités-Reading de nisine par ml de lait permettait de stériliser un laitensemencé avec des spores de thermophiles. Dans les conditions actuelles de la législation concernant le lait de consommation en France, cette solution ne peut être envisagée.

3. Empêcher la multiplication des thermophiles.

On peut empêcher la multiplication des thermophiles en modifiant leurs conditions de croissance et tout particulièrement la température. Sans vouloir discuter les aspects techniques et économiques du problème d'embouteillage du lait à plus de 75° C ou moins de 45° C, nous ferons simplement remarquer qu'à une nouvelle température correspondra une nouvelle flore de sporulés dont l'optimum de température coïncidera avec la nouvelle température choisie. Le seul avantage que l'on puisse attendre en diminuant la température est la production de spores moins thermorésistantes.

4. Empêcher la formation des spores.

Au cours de la fabrication, les spores apparaissent à partir de la 6^e heure, à la fin de la croissance au moment où la concentration en cellules atteint en certains points 10^7 à 10^8 / ml. En intervenant à ce moment, on peut empêcher la sporulation en diluant la suspension de cellules. Si on arrête la chaîne et que l'on rince soigneusement tout le circuit en aval de l'appareil de stérilisation UHT, on éliminera la plus grande partie des cellules. Les cellules restantes devront d'abord se multiplier à nouveau, avant de pouvoir sporuler. Il est important qu'aucun point de la chaîne et en particulier de la remplisseuse n'échappe au rinçage ; avec certains modèles de remplisseuse, un démontage au moins partiel peut être nécessaire. Cette rupture du cycle empêche la formation de nouvelles spores ou tout au moins réduit la sporulation à un niveau suffisamment bas pour que la qualité bactériologique du lait soit jugée satisfaisante.

Cette dernière solution comportant un arrêt et 6 heures de fonctionnement, semble la seule efficace, malgré la perte de temps qu'entraîne un arrêt complet de la chaîne de fabrication.

Nous exprimons notre reconnaissance à M. MOCQUOT, qui nous a guidé 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. BERGERE, GROSCLAUDE et PEAN, ainsi que MM. LAPIED et TAUPIN, en tant que stagiaires, et le Directeur de la Laiterie de la région parisienne où ont été effectués les prélèvements.

RÉSUMÉ

Une étude du cycle de croissance en lait UHT de 16 souches de sporulés thermophiles, isolées d'échantillons de lait stérilisé provenant d'une même usine, a permis de montrer que :

— La température optimale de croissance est de 65° C, ce qui correspond à la température du lait au moment de l'embouteillage ; la croissance est possible à 45° C et non à 37° C ;

— La germination des spores à 65° C se fait en moins d'une heure ;

— La croissance à 65° C est rapide : le temps moyen qui sépare deux divisions est de 18,7 mn, quand la croissance a lieu dans du lait UHT fortement agité et dont le pH est maintenu constant ;

— La sporulation apparaît à la fin de la croissance logarithmique, soit 6 à 10 heures après le début de la croissance.

La connaissance de ces propriétés permet d'en déduire que le moyen de lutter contre les thermophiles est d'interrompre le cycle des recontaminations en arrêtant la fabrication toutes les 6 heures.

L'étude de l'évolution des sporulés thermophiles au cours de l'incubation de laits stérilisés commerciaux montre que les cellules se lysent très rapidement après l'altération du lait.

SUMMARY

The study of the life cycle in UHT milk of 16 strains of spore-forming thermophiles isolated from samples of sterilized milk produced in the same factory showed that :

— Growth occurs at 45° C but not at 37° C, with an optimum at 65° C ; 65° C is the temperature at which the milk is held at the moment of bottling ;

— Germination of spores at 65° C takes place in less than an hour ;

— In UHT milk of constant pH that is continuously shaken, the average generation time is 18,7 mn. Sporulation only occurs at the end of the logarithmic phase of growth, i. e. under these conditions 6 to 10 hours after growth has started.

It may be seen from these characteristics that the best method of elimination thermophiles in the milk is to interrupt the cycle of recontaminating by stopping production and rinsing the equipment at 6-hour intervals.

A study of the evolution of thermophilic sporeformers in commercially sterilized milk during incubation has shown that there is a very rapid lysis of bacterial cells after spoilage of the milk.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] H. BURTON, D. N. AKAM, C. C. THIEL, E. GRINSTEAD et L. F. L. CLEGG. Some investigations into the batch process of milk sterilization. *J. Soc. Dairy Technol.*, **6**, 98 à 113. 1953.
- [2] L. F. L. CLEGG. Spore-forming thermophiles in sterilized milk. *J. Soc. Dairy Technol.*, **3**, 238 à 249. 1950.
- [3] J. G. FRANKLIN, D. J. WILLIAMS, H. R. CHAPMAN et L. F. L. CLEGG. Methods of assessing the sporicidal efficiency of an ultra-high-temperature milk sterilizing plant. II. Experiments with suspensions of spores in milk. *J. appl. Bact.*, **21**, 47 à 50. 1958.
- [4] T. E. GALESLOOT et H. LABOTS. Thermofiele sporevormers in melk, vooral met betrekking tot de bereiding van gesteriliseerde melk en chocolademelk. *Neth. Milk and Dairy J.*, **13**, 155 à 179. 1959.

- [5] E. GRINSTED et L. F. L. CLEGG. Spore-forming organisms in commercial sterilized milk. *J. Dairy Res.*, **22**, 178 à 190. 1955.
- [6] G. GROSCLAUDE et J. HERMIER. A sampler for enumeration of air-borne micro-organisms. *Lab. Pract.*, 1961 (sous presse).
- [7] J. HERMIER et J. L. BERGERE. Origine des spores de thermophiles et conditions de leur destruction dans la préparation du lait « stérilisé » commercial. *XV^e Cong. Intern. Laiterie*, Londres, **1**, 435 à 441. 1959.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] N. E. NEILSON, M. F. MAC QUILLAN et J. J. R. CAMPBELL. The enumeration of thermophilic bacteria by the plate count method. *Canad. J. Microbiol.*, **3**, 939 à 943. 1957.
- [11] C. PEYLET. Etudes et observations techniques sur la fabrication du lait stérilisé. *La Technique Laitière*, n° 261, 262, 264 et 266. 1958-1959.
- [12] J. F. POWELL. Factors affecting the germination of thick suspensions of *Bacillus subtilis* spores in L-alanine solutions. *J. gen. Microbiol.*, **4**, 330 à 338. 1950.
- [13] C. C. THIEL et D. N. AKAM. A device to assist in estimating small numbers of bacteria in liquids. *J. appl. Bact.*, **18**, 443 à 445. 1955.
- [14] 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.
- [15] G. THIEULIN, G. MOCQUOT et J. HERMIER. Rapport au Conseil National Supérieur d'Hygiène de France. 1956. (Non publié.)

PROBLÈME D'ACTUALITÉ :

PROTÉINES — MATIÈRE GRASSE ?

par

C. WOLF

Nos lecteurs ont été mis au courant, depuis quelque temps déjà, de l'importance de plus en plus grande accordée, aux Etats-Unis, aux protéines du lait. Un Symposium sur l'extrait sec dégraissé du lait s'est tenu lors de la 55^e Conférence annuelle de l'Association Américaine de la Science laitière du 19 au 22 juin 1960 (1).

Le Président du Symposium, C. W. TRIMBERGER, Président

(1) *Journal of Dairy Science*, 1960, **43**, 10, 1521.