



HAL
open science

RECHERCHES SUR LA FERMENTATION SECONDAIRE PUANTE OU POURRITURE GRISE DU FROMAGE DE GRUYÈRE ET D'EMMENTAL

W. Dorner, Marg. Thoeni

► **To cite this version:**

W. Dorner, Marg. Thoeni. RECHERCHES SUR LA FERMENTATION SECONDAIRE PUANTE OU POURRITURE GRISE DU FROMAGE DE GRUYÈRE ET D'EMMENTAL. *Le Lait*, 1937, 17 (166), pp.561-569. hal-00895283

HAL Id: hal-00895283

<https://hal.science/hal-00895283>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- W. DORNER et Marg. THOENI.
— Recherches sur la fermentation secondaire puante ou pourriture grise du fromage de Gruyère et d'Emmental 561
- J. PIEN. — Le contrôle industriel de la richesse en matière grasse des fromages 569
- J. VIELLY et J. HARDER. — Actinisation du lait (*A suivre*) 576
- BEN DAVIES. — L'approvisionnement en lait de la Nation. Production hygiénique et contrôle (*Fin*) 591

Revue :

- G. GÉNIN. — La production mondiale de caséine 605

Bibliographie analytique :

- 1^o Les livres 608
2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 613

Bulletin bibliographique :

- 1^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 659

Documents et informations :

- X. DE BORSSAT. — De l'opportunité de la répression internationale des fraudes 661
- Conditions de la vente du beurre en Angleterre 666
- Le Congrès de Paris de l'Hygiène et de la Science du lait 668
- Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers 672

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

RECHERCHES SUR LA FERMENTATION SECONDAIRE PUANTE OU POURRITURE GRISE DU FROMAGE DE GRUYÈRE ET D'EMMENTAL

par

W. DORNER et MARG. THOENI

Etablissement fédéral d'industrie laitière et de bactériologie Liebefeld-Berne.

Travail dédié respectueusement à M. Robert BURRI, ancien professeur de bactériologie à l'École polytechnique fédérale à Zurich, Docteur honoris causa des Universités de Syracuse N. Y. et de Berne, directeur de l'Etablissement fédéral d'industrie laitière et de bactériologie à Liebefeld-Berne, notre Maître, à l'occasion de son soixante-dixième anniversaire, le 13 juillet 1937.

Voulant honorer le grand savant et l'homme infiniment bon qu'est M. BURRI, nous avons cru agir en son esprit en lui dédiant simplement quelques pages vouées à la recherche de la Vérité.

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

I. Description du défaut.

La fermentation secondaire puante ou pourriture grise est une maladie qui se déclanche ordinairement 4 ou 5 mois et même davantage après la fabrication sur du fromage qui est dans la règle de premier choix jusqu'à ce moment. Suivant l'espèce de fromage qu'elle atteint, ses caractères apparents varient quelque peu, ce qui motive les deux désignations que nous lui avons données. Voici les symptômes de la maladie : Elle commence par une augmentation du pH progressant peu à peu, accompagnée par une altération peu marquée d'abord, puis de plus en plus sensible du goût et de l'odeur du fromage. Au bout de quelques semaines, l'odeur est franchement fécale. En même temps, le Gruyère fait une violente fermentation secondaire. Les meules deviennent bombées et présentent une lainure intense. Simultanément, on remarque que la pâte prend une coloration grisâtre ou qu'elle présente des points foncés de 0 mm. 2 à 1 mm. 5 de diamètre, constitués par des colonies de l'agent. La coloration grisâtre et les points sont plus intenses, respectivement plus nombreux dans une zone de quelques centimètres à partir de 1 ou 2 cm. sous la croûte. Sur une coupe, la coloration grisâtre disparaît dans la règle en 24 heures. Environ trois mois après les premiers symptômes, le goût du fromage devient moins putride et rappelle un peu la ciboulette ou l'ail. Dans le fromage d'Emmental, la maladie est souvent localisée près du talon et ne touche qu'exceptionnellement le centre du fromage. La fermentation secondaire manque dans la règle sur ce type de fromage.

La maladie se produit en toute saison, elle est cependant plus rare en automne. Elle peut atteindre la production entière d'une fromagerie de Gruyère pendant plusieurs mois sans que le fromager ne se doute de rien. Le fromage d'Emmental est moins souvent atteint. La maladie ne touche que de temps à autre une pièce.

La fermentation secondaire puante ou pourriture grise ne doit pas être confondue avec une maladie beaucoup moins grave caractérisée seulement par la présence de points noirâtres sans que le goût et l'odeur soient défectueux et sans fermentation secondaire. Ce défaut a été étudié par BURRI (1) en 1898 et attribué à une variété de *Str. lactis*. En 1911, ALLEMAN et KÜRSTEINER (2) ont étudié à nouveau ce défaut et sont arrivés à provoquer une couleur grisâtre de la pâte en ensemençant le lait de chaudière à raison de 15.000 germes spécifiques par centimètre cube.

La pourriture grise ou fermentation secondaire puante n'a rien de commun avec la pourriture blanche ou pourriture en cave causée par le *Bac. putrificus*. Les points bruns clairs qui sont constitués par

(1) R. BURRI. *Centralblatt für Bakt.*, II., Abt. 1898, vol. IV, p. 608.

(2) O. ALLEMAN et J. KÜRSTEINER. *Schweiz. Milchzeitung*, 1911, n° 60, 62, 64.

des colonies de bactéries propioniques sont également un phénomène bien distinct de la maladie qui nous occupe.

II. Recherche de l'agent de la maladie.

Depuis quelques années, nous avons reçu de temps en temps pour examen au laboratoire des échantillons de fromage atteint de fermentation secondaire puante. L'analyse bactériologique par ensemencement sur les milieux usuels ne nous a jamais permis de déceler autre chose que les microbes usuels du fromage. Jamais nous n'avons trouvé de microbe spécial. Nous avons alors essayé de résoudre la question par microscopie directe sans obtenir de résultats satisfaisants. Nous avons cependant pu constater, que les points noirâtres dans la pâte du fromage étaient constitués par des colonies d'une espèce de bâtonnets. Ce n'est qu'en octobre 1935 que nous avons réussi à isoler le microbe qui forme les points en faisant l'ensemencement en couche profonde sur un milieu gélosé contenant 2 % de peptone, 1 % d'extrait de levure et 1 % de lactate de soude que nous avons utilisé précédemment comme milieu électif pour les bactéries propioniques et en tenant les cultures pendant 15 jours à l'étuve à 30°. Plus tard, nous avons encore amélioré ce milieu en supprimant le lactate. Dans la suite, ce procédé nous a permis d'isoler le même microbe de tous les fromages atteints de la maladie.

III. Le microbe isolé des points est-il l'agent de la maladie ?

Cette question a été résolue en ensemençant du lait de chaudière normal avec une culture pure des microbes à raison de 108.000 bactéries par centimètre cube de lait. Cet essai a été fait le 6 décembre 1935. Au bout de 6 semaines, le fromage en question présentait beaucoup d'ouverture et le très mauvais goût des fromages atteints de fermentation secondaire puante. La couleur de la pâte était normale. Au bout de 4 mois et demi le goût était encore plus mauvais. Le fromage était lainé et sa pâte présentait la couleur grisâtre caractéristique du fromage malade.

Il découle de cet essai que le microbe isolé des points noirâtres est bien l'agent de la fermentation secondaire puante, mais que la quantitéensemencée est probablement bien plus grande que l'infection naturelle, puisque au bout de 6 semaines déjà le fromage était fortement atteint, tandis que, dans la pratique, le défaut se présente au plus tôt 3 mois après la fabrication.

IV. Combien faut-il de germes spécifiques pour provoquer la maladie sous sa forme usuelle ?

Cette question a été résolue par une série d'essais effectués en mai 1936 en ensemençant des quantités décroissantes de culture dans du lait de chaudière normal. L'ensemencement ainsi opéré et le pH des fromages à différentes époques est indiqué au tableau I.

TABLEAU I
NOMBRE DE BACTÉRIES ENSEMENCÉES ET pH DES FROMAGES D'ESSAI.

Date : mai 1936	4	5	6	7	8	9	10	11
Nombre de germes spécifiques par centimètre cube de lait de chaudière	0,1	0,01	0,001	10	1	350	0	0,4
le 24.8.36	5,46	5,40	5,47	5,59	5,73	5,93	5,54	5,52
le 17.9.36	—	5,51	5,50	5,73	5,78	6,03	—	5,51
pH le 21.1.37, 2 cm.								
sous la croûte	—	5,70	5,85	6,48	6,09	6,57	—	5,69
au centre	—	5,62	5,79	6,36	5,92	6,46	—	5,69

Au bout de 100 jours environ, les fromages d'essais ont été examinés. Trois d'entre eux présentent un pH plus élevé. L'ouverture est rare et la pâte est normale. Rien à observer pour le goût excepté pour la pièce du 9 mai qui présente faiblement le goût et l'odeur de la fermentation secondaire puante. Nous n'avons jamais rencontré la maladie en pratique sur du fromage aussi jeune. Il en découle que l'ensemencement à raison de 350 germes spécifiques par centimètre cube est encore supérieur à l'infection naturelle.

Les fromages ont été examinés à nouveau environ 4, 6 et 8 mois après la fabrication. A 4 mois, le fromage du 9 mai est gonflé, puant, entièrement impropre à la consommation, Son pH est de 6,04 et sa pâte grisâtre, parsemée de très nombreux petits points bruns foncés. Le fromage du 7 mai est très ouvert, il présente nettement, mais encore faiblement le goût et l'odeur caractéristique de la fermentation secondaire puante. Le fromage du 8 mai présente passablement d'ouverture, son goût est normal ainsi que celui des autres pièces.

A 6 mois, le fromage du 7 mai était très mauvais. Il présentait des points foncés de 0 mm. 5 à 1 mm. de diamètre à raison d'environ 7 par centimètre cube de fromage. Les autres pièces se présentaient à peu près comme au bout de 4 mois. Nous avons cependant découvert un point foncé sur une sonde du fromage du 8 mai.

A 8 mois, le fromage du 9 mai (ensemencement 350 par centimètre cube) est très fortement ouvert (plusieurs trous de 15-20 mm. par sonde), il présente un peu de lainure, sa pâte est grisâtre, parsemée de petits points noirâtres souvent arrangés en auréoles autour des trous. L'odeur est très mauvaise, cependant moins fécale qu'auparavant et rappelant en partie la ciboulette. Le pH au milieu a atteint 6,46.

Le fromage du 7 mai (ensemencement 10 par centimètre cube) est très ouvert. Sa pâte est légèrement griâtre, les points visibles au bout de 6 mois ont disparu. L'odeur et le goût sont très mauvais.

Le fromage du 8 mai (ensemencement 1 par centimètre cube) est passablement ouvert (5-7 trous par sonde), sans lainure. La pâte est de couleur normale. Il présente de rares points foncés (environ 1 pour 2 cm³ de fromage). Il a un goût fort ressemblant à celui du fromage atteint de fermentation secondaire ordinaire. Cette pièce pourrait faire présumer que la différence entre fermentation secondaire puante et fermentation secondaire ordinaire du Gruyère est une question de quantité et non de qualité de l'agent.

Nous avons pu retrouver aisément le microbe ensemencé dans les fromages du 7, 8 et 9 mai 1936. Le 17 septembre 1936, ce dernier en contenait 32.000.000 par gramme.

Les conclusions que l'on peut tirer de cette série d'essais sont les suivantes :

1° 10 germes spécifiques de la fermentation secondaire puante par centimètre cube de lait de chaudière suffisent pour provoquer la maladie sous sa forme usuelle.

2° La formation de points bruns noirâtres dans la pâte du fromage est fonction de la quantité de microbes ensemencés. Lorsque l'ensemencement est abondant les colonies restent petites et invisibles à l'œil nu.

3° L'agent de la fermentation secondaire puante ou pourriture grise doit être considéré comme un organisme absolument nuisible en fromagerie.

Nous avons réussi plus tard à prouver encore plus simplement que notre bactérie était l'agent de la fermentation secondaire puante en l'ensemencant en piqûre sur du fromage mûr. A cet effet, des morceaux de fromage cylindriques de 15 mm. de diamètre et de 10 cm. de long environ ont été découpés avec un perce-bouchon et placés dans des tubes à essais appropriés. Après l'ensemencement en piqûre à l'aide d'un fil rigide de métal, le fromage a été enrobé de paraffine fondue à 50-60°, puis placé à l'étuve de 30° pendant 5 semaines. A ce moment, nous avons enregistré nettement le mauvais goût et l'odeur caractéristique de la pourriture grise. Plus tard, l'odeur et le goût sont devenus encore beaucoup plus forts. En même temps, le fromage prenait la couleur grise caractéristique de la maladie. Il découle de cette expérience, que la coloration grise provient soit d'un colorant soluble produit par les bactéries, soit de la dégradation de la caséine. Il nous semble que la seconde hypothèse est la plus probable.

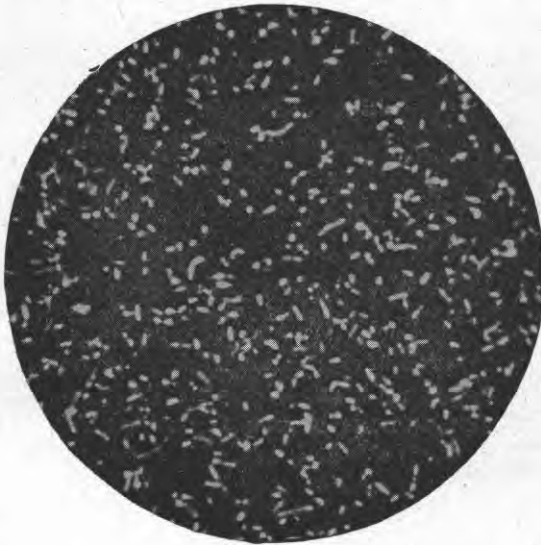
Ce procédé permet aussi de reconnaître plus simplement, et à moins de frais que par l'expérience en fromagerie, si un microbe donné est susceptible de causer la pourriture grise ou la fermentation secondaire puante.

V. Description du *Bact. proteolyticum* n. sp. l'agent de la maladie.

L'agent de la maladie est une bactérie nouvelle que les auteurs ont nommé *Bact. proteolyticum* n. sp. Ils ont étudié 22 souches de ce microbe provenant de 18 fromageries. C'est un groupe très homogène, qui présente les caractères suivants :

a) *Morphologie*. — Bâtonnet court, très polymorphe, soit droit, soit courbe, soit coccoïde, souvent par paire, d'environ 1, 2 à 2,8 μ sur 0,7 à 1,2 μ . Il prend irrégulièrement le Gram, est immobile et non sporulé.

b) *Développement sur les milieux de culture*. — Sa température optimale est d'environ 30°. Son pH optimum d'environ 7,0. Le *Bact.*



(Microphoto Staub)

Bact. proteolyticum n. sp.

proteolyticum se développe très lentement sur tous les milieux usuels de laboratoire. Il forme de toutes petites colonies circulaires presque transparentes, bleuâtres ou laiteuses sur gélose inclinée. Il se développe le mieux sous un bouchon anaérobie ; mais peut aussi pousser en présence de l'air. Il coagule le lait en 4-8 semaines et le dégrade assez fortement. Il produit en couche profonde des colonies très petites, lenticulaires jusqu'à 1 cm. 5 à 1 cm. de la surface. Sur des milieux contenant de l'extrait de levure, les colonies se colorent en brun foncé ou en noir au bout de quelques semaines. En piqûre, il se développe d'une manière filiforme tout le long du passage du fil de platine. Il trouble à peine les milieux liquides. Tous les milieux

contenant de l'extrait de levure sur lesquels le microbe se développe prennent une odeur putride très désagréable.

c) *Physiologie*. — Le *Bact. proteolyticum* ne produit jamais de gaz et n'attaque pas les lactates. Il acidifie régulièrement la xylose, l'arabinose, le lévulose, le mannose et le galactose. En outre, la plupart des souches attaquent également le lactose et le glucose. La moitié des souches fermentent le saccharose et la salicine. Rares sont celles qui touchent au maltose. Les substances suivantes n'ont été attaquées par aucune souche : rhamnose, glycérine, sorbite, mannite, dulcité, érythrite, inosite, adonite, raffinose, inuline, glycogène, dextrine et amidon. Le *Bact. proteolyticum* ne produit pas d'indol ni de catalase, il réduit rarement des nitrates. De rares souches donnent une réaction de Voges-Proskauer positive. Il produit de l'hydrogène sulfuré, ne liquéfie ni la gélatine, ni le sérum sanguin ou le blanc d'œuf coagulé. Il n'est pas pathogène pour le lapin et le cobaye. Il ne supporte pas un chauffage de 10 minutes à 63°5. La caléfaction 10 minutes à 55° C. détruit le 98 % des cellules du *Bact. proteolyticum* dans du lait.

d) *Classification du nouveau microbe*. — Le *Bact. proteolyticum* présente des caractères qui ne permettent pas de le classer dans aucun genre reconnu. Sa faculté de putréfaction le met en dehors du groupe des lactobacilles. Il ne peut faire partie du genre *propionibacterium* parce qu'il ne forme pas d'acides volatils. De même, il n'est pas strictement anaérobie et ne peut pour cette raison être classé dans le genre bactéroïdes de Castellani et Chalmers, bien qu'il présente des analogies certaines avec des microbes de ce groupe. Dans ces conditions nous avons classé notre microorganisme dans le genre provisoire *Bacterium* proposé récemment par BREED et CONN (3).

VI. Comment l'agent de la maladie agit-il dans le fromage ?

Les propriétés les plus frappantes du fromage atteint sont le pH élevé, la mauvaise odeur, la couleur grisâtre ou les points noirâtres et le dégagement de gaz. Les trois premières de ces propriétés s'expliquent sans autres par les particularités de l'agent, à savoir : le pH élevé, la mauvaise odeur et peut-être aussi la coloration grise par la dégradation des protéines du fromage, les points par le colorant que le *Bact. proteolyticum* peut former dans certains milieux. Le dégagement de gaz qui se produit à la suite de la maladie sur le Gruyère par contre ne s'explique pas directement puisque son agent ne produit pas de gaz dans les milieux de culture. Il s'agit donc d'une action indirecte pour laquelle nous proposons l'explication suivante :

(3) R. S. BREED et H. J. CONN. *Journal of Bacteriology*, 1936, 31, p. 517.

L'un de nous (4) a démontré que le fromage faisait d'autant plus d'ouverture qu'il était moins acide, en diminuant sa teneur en lactose par un lavage du caillé. Il est clair qu'une diminution de l'acidité (augmentation du pH) obtenue d'autre manière doit avoir le même effet : à savoir, favoriser le développement des bactéries propioniques qui produisent alors davantage de gaz.

La preuve de la dépendance de l'apparition de points foncés dans la pâte du fromage du nombre de bactériesensemencées jette également quelque lumière sur la genèse des points bruns clairs provoqués par des bactéries propioniques dans le fromage. Etant donné que les microbes isolés de ces points ne diffèrent en rien des bactéries propioniques normales du fromage, il nous semble très probable que l'apparition de ces points est simplement due à un nombre insuffisant de bactéries propioniques dans le lait de chaudière. Les indices suivants ont la même signification :

1° Les points se produisent dans la règle sur du fromage qui a de la peine à faire son ouverture et

2° on peut empêcher la formation de ces points en ensemençant le lait d'une culture normale de bactéries propioniques.

VII. Moyens de lutter contre la fermentation secondaire puante.

Les moyens de lutte directe contre l'infection du lait par l'agent de la fermentation secondaire puante sont actuellement bien précaires, étant donné qu'on ne sait pas d'où il provient. Le petit nombre de bactéries qui suffit pour déclencher la maladie rend la recherche de la source de l'agent très difficile. Nous l'avons entreprise sans résultat jusqu'ici. Il faut donc se contenter pour le moment de mesures non spécifiques, telles que la propreté dans tout ce qui touche à la production et la manutention du lait.

La destruction de l'agent, quand il s'est introduit dans le lait, semble par contre avoir plus de chances de succès, car le *Bact. proteolyticum* résiste très mal à la caléfaction. Il est probable qu'en réchauffant le fromage immédiatement avant de le sortir de la chaudière à des températures de 55-57° C., on arrive à combattre le défaut. Nous n'avons pas encore eu l'occasion d'effectuer ces essais, mais nous comptons y arriver prochainement. Il est fort possible que la rareté de la maladie sur l'Emmental soit due simplement au fait que ce fromage est d'ordinaire chauffé à 1 ou 2 degrés de plus en chaudière que le Gruyère et que, vu sa masse plus considérable, il reste chaud plus longtemps sous presse. C'est en tous cas significatif

(4) W. DORNER. *Nouveaux progrès de la Science fromagère. Industrie laitière suisse*, 1934.

que la maladie, lorsqu'elle se présente sur le fromage d'Emmental, ne l'atteigne dans la règle qu'en talon, la région du fromage qui se refroidit le plus vite sous presse.

LE CONTROLE INDUSTRIEL DE LA RICHESSE EN MATIÈRE GRASSE DES FROMAGES

par

JEAN PIEN

Ingénieur chimiste (I. C. R.), Docteur ès Sciences, Directeur des Laboratoires
des « Fermiers Réunis ».

Le décret du 20 octobre 1936, qui précise la composition des fromages définis et rend obligatoire l'indication du taux de matière grasse, a créé la nécessité pour les fabricants de bien connaître à tout moment la composition exacte de leurs produits.

De ce fait, le dosage de la matière grasse des fromages a repris de l'intérêt, non pas sur le plan du laboratoire d'analyses ou de recherches où la question est tranchée depuis longtemps, mais sur le plan des laboratoires industriels qui se voient maintenant dans l'obligation d'exécuter en série des dosages de matière grasse relativement précis à l'aide de méthodes simples et rapides.

La question qui se pose pour eux est la suivante : *quelle méthode doit-on employer pour satisfaire à la fois aux exigences du décret du 20 octobre 1936 et aux conditions du travail et du contrôle industriels ?*

Cette courte note a pour but d'essayer de répondre à cette question.

* * *

I. LES MÉTHODES SUSCEPTIBLES D'UNE APPLICATION INDUSTRIELLE.

Il existe de nombreuses méthodes pour le dosage de la matière grasse des fromages. Nous les classerons en trois catégories :

1^o Méthodes où le fromage est mis en solution (acide ou alcaline) et où la matière grasse est extraite par l'éther (éther sulfurique et éther de pétrole) à partir de cette solution.

2^o Méthodes où le fromage est broyé en présence d'une matière minérale inerte et soumis à l'épuisement direct par l'éther sulfurique.

3^o Méthodes du type Gerber.

Il a déjà été prouvé que l'on peut parvenir à des chiffres pratiquement concordants en utilisant avec soin une méthode bien choisie dans chacun de ces trois groupes. Nous n'avons pas l'intention d'apporter une nouvelle démonstration de cette donnée. Il s'agit simplement ici de choisir *une méthode industrielle* de contrôle.