LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- G. GUITTONNEAU, G. MOCQUOT et E. EYRARD. — Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation. — Deuxième Mémoire : Sur la colimétrie appliquée aux contrôles de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés . . . 113
- J. M. ROSELL. — Le lait dans quelques-unes de ses formes d'utilisation (*A suivre*) . . . 139
- H. SCHARER. — Une méthode rapide de la phosphomono-estérase pour le contrôle de la pasteurisation du lait . . . 154

Bibliographie analytique :

- 1^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 172
- 2^o Brevets 179

Bulletin bibliographique :

- 1^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 182
- 2^o Brevets 186

XI^e Congrès international de laiterie (Berlin, 21-28 août 1937) :

- KIEFERLE. — L'utilisation du lait écrémé, du babeurre et du petit-lait 188

Documents et informations :

- Législation étrangère. — L'hygiène du lait au Portugal. Loi sur la production du lait alimentaire 205
- Importance de la production mondiale du beurre 221
- Manifeste de la Ligue du Lait 223
- Ecole d'industrie laitière de Mamirrolle 224

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

RECHERCHES SUR LA PASTEURISATION DES LAITS DE CONSOMMATION (2)

2^e MÉMOIRE ;

Sur la Colimétrie appliquée aux contrôles de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés

par

G. GUITTONNEAU

Professeur à l'Institut Agronomique.
Directeur du Laboratoire national
des Industries laitières.

G. MOCQUOT

Chef de Travaux
au Laboratoire national
des Industries laitières.

E. EYRARD

Chef de travaux au Laboratoire national des Industries laitières.

Sous certaines réserves et dans des conditions d'exécution que nous avons antérieurement précisées, les dénombrements de germes

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Travail publié dans les « Annales de Technologie » du Ministère de l'Agriculture (Premier fascicule).

banaux sur plaques gélosées permettent de fixer numériquement, à un moment donné, l'état de la microflore envahissante globale des laits de consommation. Ces dénombrements fournissent ainsi aux contrôles hygiéniques une donnée de base sur l'importance de laquelle nous avons insisté dans d'autres publications et notamment dans une récente communication à l'Académie de Médecine [15].

Or, parmi les représentants de la microflore envahissante ainsi dénombrés par la méthode des plaques gélosées, un ensemble microbien se distingue, tant en raison des facilités qu'offre sa caractérisation par voie physiologique que par la signification hygiénique qui s'attache à sa présence dans les laits de consommation : c'est le groupe des *bactéries coliformes* dont l'étude particulière servira de base à ce deuxième mémoire.

L'exposé en sera divisé en deux parties :

La *première* est réservée à des mises au point d'ordre général sur les *bactéries coliformes* et leur dénombrement dans le lait (colimétrie).

Dans la *seconde* nous rapporterons les résultats de nos propres recherches sur l'application de la colimétrie à la surveillance des pasteurisations industrielles et au contrôle des laits pasteurisés.

PREMIÈRE PARTIE

LES BACTÉRIES COLIFORMES DU LAIT ET LA QUESTION DE LEUR DÉNOMBREMENT

A. Les bactéries coliformes du lait

Délimitation du groupe et synonymie. — Suivant un usage déjà admis par plusieurs bactériologistes, notamment par CHALMERS (1928) [5], par WILSON (1935) [48] et qui se recommande par sa commodité, nous réserverons le nom de *bactéries coliformes* aux microorganismes que la classification des bactériologistes américains [3] fait aujourd'hui entrer dans les deux genres *Escherichia* et *Aerobacter* (famille des Bactériacées, tribu des Bactéries).

Les mêmes types microbiens ont fréquemment été réunis sous d'autres dénominations telles que « groupe du *B. Coli* » [40], « groupe du « *Coli aerogenes* » [41] ou encore « groupe des Bactéries du Colon » [39].

Si on s'en tient à ses caractéristiques microbiologiques essentielles, le groupe considéré se définit bien par l'ensemble de propriétés suivantes communes à tous ses représentants : ceux-ci sont Gram négatifs, non sporogènes et non chromogènes. Ils font fermenter le lactose avec production d'acides et dégagement gazeux. Facultativement aérobies ils donnent, sur milieux solides, des colonies en surface.

Les différents types de bactéries coliformes du lait. —

De nombreux travaux ont démontré que les bactéries coliformes trouvées dans les laits crus ou pasteurisés appartiennent à des types assez divers qui se rattachent plus ou moins nettement aux deux genres *Escherichia* et *Aerobacter*. Rappelons parmi ces travaux ceux de : ORR (1908) [34], ROGERS, CLARK et DAVIS (1914) [37], LEVINE (1921) [26], KLINE (1930) [23], MALCOLM (1933) [32], YALE (1933) [49], P. M. KON (1933) [24], ZAVAGLI (1933) [50], AICHELBURG (1934) [1], WILSON (1935) [45].

Sans aller jusqu'à nous astreindre à reproduire des essais aussi complets que ceux réalisés par certains des auteurs précités, nous avons tenu à nous documenter directement sur les types de bactéries coliformes présentes dans les laits couramment soumis à nos examens.

A cet effet, 56 souches de bactéries ont été isolées au cours de différents essais. Elles ont été caractérisées, par des méthodes classiques bien connues, comme appartenant au type « coliforme » antérieurement défini. Les 56 souches ont ensuite été réparties en groupes suivant leur comportement vis-à-vis des quatre épreuves de différenciation ci-après indiquées qui sont aujourd'hui couramment usitées dans les laboratoires de bactériologie.

En milieu peptoné glucosé de CLARK et LUBS [7] acidification, suffisante ou non, pour faire virer au rouge le rouge de méthyle (épreuve R. M.).

Dans le même milieu, aptitude ou inaptitude à la formation d'acétylméthylcarbinol révélée par la réaction de VOGES-PROSKAUER (épreuve V. P.).

Aptitude ou inaptitude à utiliser l'acide citrique comme source exclusive d'aliment carboné en milieu synthétique de KOSER [25] (épreuve K.).

Aptitude ou inaptitude à la production d'indol en eau peptonée (épreuve I.).

Le tableau I où sont rassemblés les résultats de ces épreuves montre que dans les laits que nous avons étudiés, la diversité des types de bactéries coliformes était comparable à celle qu'avaient déjà notée plusieurs des chercheurs antérieurement cités, et notamment WILSON.

Relations générales du groupe avec les laits de consommation. — Nous avons antérieurement défini [15] une contamination initiale pratiquement inévitable des laits crus, et une microflore thermorésistante des laits pasteurisés qui, dans des conditions données d'approvisionnement et de travail d'une usine, est, elle aussi, pratiquement inévitable. De cette contamination initiale et de cette microflore thermorésistante, nous avons soigneuse-

TABLEAU I
DIFFÉRENTS TYPES DE BACTÉRIES COLIFORMES RENCONTRÉS DANS NOS ÉTUDES

Nombre de souches à caractéristiques identiques	Réactions d'identification				Conclusions Nature des groupes de souches
	R. M.	I	V. P.	K	
32 souches	+	+	—	—	<i>Escherichia Coli</i> type
8 souches	+	—	—	—	Id. formes non indologènes
14 souches	—	—	+	+	<i>Aerobacter Aerogenes</i> type
2 souches	—	+	+	+	Id. formes indologènes

ment distingué les contaminations secondaires qui sont, elles, facilement réductibles et desquelles dérive toujours, dans la pratique, la microflore envahissante des laits crus aussi bien que des laits pasteurisés.

Précisons maintenant que les bactéries coliformes ne font normalement partie ni de la contamination initiale des laits crus, ni de la microflore thermorésistante des laits pasteurisés. Les cas pathologiques où elles figurent dans la flore mammaire sont, en effet, fort rares et le fait qu'elles sont asporogènes les laisse dans l'impossibilité de résister aux pasteurisations hautes, telles que nous les préconisons.

Apportées dans les laits par des contaminations secondaires, soit avant, soit après la pasteurisation, capables par ailleurs de proliférer dans le lait entier aussi bien que dans le lait dilué des ringures de la vaisselle laitière, ces bactéries coliformes peuvent donc, en principe, être considérées comme d'excellents prototypes parmi tous les germes banaux qui entrent dans la constitution de la microflore envahissante des laits de consommation. Ce point de vue étant adopté, la suite de ce mémoire précisera l'intérêt, qui, de ce fait, s'attache au dénombrement des bactéries coliformes dans les contrôles hygiéniques des laits.

En dehors de ces considérations, on a quelquefois pensé qu'à l'instar de ce qui a été fait avec tant de succès pour le contrôle hygiénique des eaux potables, on pourrait peut-être tenter de déceler dans le lait des contaminations d'origine fécale par la recherche de certaines souches de bactéries coliformes et notamment de celles qui appartiennent à l'espèce *Escherichia Coli*. Mais il faut reconnaître que les études entreprises sous cette incidence n'ont abouti qu'à des résultats décevants. Il ne pouvait d'ailleurs en être autrement car :

a) On a démontré que si les souches de bactéries coliformes appartenant au genre *Escherichia* sont de beaucoup les plus fréquentes dans les excréments des vaches laitières, ces excréments peuvent aussi renfermer des bactéries du genre *Aerobacter* : ROGERS, CLARK et EVANS (1914) [36], KON (1933) [24], WILSON (1935) [46], CRUICKSCHANK et CRUICKSCHANK (1931) [8], PAWAN (1931) [35], GRAY (1932) [12], BURKE GAFFNEY (1933) [4], BARDSLEY (1934) [2].

b) Les bactéries coliformes des différents types peuvent se multiplier dans les rinçures des ustensiles laitiers mal nettoyés et ces ustensiles représentent, ainsi que nous l'avons démontré ailleurs [14], une source de contamination des laits de consommation extrêmement importante. On n'a dès lors jamais la certitude que la présence dans le lait d'une souche de bactérie coliforme, quelle qu'elle soit, provient directement d'une contamination d'origine fécale immédiate.

c) Même dans le cas où l'origine fécale des bactéries coliformes serait mise hors de doute, la présence de ces bactéries dans le lait ne saurait entraîner la même interprétation que lorsqu'il s'agit des eaux. Dans le deuxième cas, l'origine humaine, c'est-à-dire franchement suspecte, est le plus souvent vraisemblable et admissible tandis qu'elle reste problématique et improbable dans le premier cas, en raison même de la fréquence des souillures du lait par les excréments des animaux.

Il nous a donc semblé inutile de revenir dans nos études sur cette question que nous considérons comme résolue.

B. Choix d'une méthode colimétrique de référence

Mentionnons tout d'abord que c'est uniquement pour la simplification de l'exposé que nous désignons par le terme « colimétrie », le dénombrement des bactéries coliformes telles que nous les avons définies plus haut.

Discussion de principe sur le choix d'une méthode. —

Parmi les méthodes auxquelles on peut penser pour effectuer le dénombrement des bactéries coliformes du lait, nous n'avons retenu que celles qui prennent directement appui sur la caractéristique physiologique la plus marquante des représentants du groupe, leur aptitude à faire fermenter le lactose avec dégagement gazeux.

L'adoption de ce point de vue nous a conduits à donner la préférence au dénombrement par la méthode des dilutions en bouillon lactosé, dans des conditions de cultures telles que les dégagements gazeux s'imposent à l'attention (tubes à fermentation d'Einhorn ou cloches de Durham).

Ce principe posé, il est par ailleurs évident que les indications qu'on recueille dans les contrôles sont d'autant plus sûres et plus claires que le milieu de culture utilisé se montre plus électif pour les bactéries coliformes.

La question des bouillons lactosés électifs utilisés antérieurement à nos travaux pour la recherche du *B. Coli* dans les eaux et dans le lait méritait donc de notre part un examen attentif. Cet examen fut d'abord purement bibliographique, les contrôles expérimentaux restent réservés pour plus tard. Il nous a vite laissé l'impression que les formules de tous les milieux qui ont été proposés peuvent, en fin de compte, se ramener à deux types :

1° Celles dans lesquelles, à la lumière des recherches déjà anciennes de JACKSON (1906-1907) [19 et 20], on a fait appel comme agents de sélectivité exclusifs soit à la bile de bœuf, soit aux sels biliaries. Tel est le cas du milieu de MACCONKEY [27, 28, 29, 30] au taurocholate de sodium qui est depuis longtemps en honneur dans les laboratoires anglais [47].

2° Celles dans lesquelles une meilleure sélectivité a été recherchée par addition simultanée au bouillon lactosé de bile de bœuf d'une part et, d'autre part, d'une faible dose d'un colorant dérivé de l'aniline agissant comme antiseptique léger.

Parmi les colorants proposés, deux surtout se sont imposés à l'attention :

a) *Le violet de gentiane* suivant les premières suggestions de CHURCHMAN (1912) [6], reprises par HALL et ELLEFSON (1918) [17 et 18] et retenues par KESSLER et SWENARTON (1927) [22] dans leur milieu aujourd'hui adopté par plusieurs bactériologistes, notamment par DEMETER (1934) [9].

b) *Le vert brillant* qui figurait déjà dans la formule de MUEER et HARRIS (1920) [33] et qui a été maintenu en proportion plus réduite dans celle de DUNHAM et SCHOENLEIN (1926) [10] aujourd'hui adoptée par l'école américaine.

Les bouillons lactosés biliés au violet de gentiane et au vert brillant, nous ont semblé les mieux adaptés au but poursuivi dans nos études. Nous pensons qu'ils sont, sans doute, de qualité équivalente. Pour une première étape de nos recherches, nous avons cependant donné la préférence au milieu de DUNHAM et SCHOENLEIN et cela pour deux raisons :

1° Les qualités de ce milieu ont été confirmées par de sérieux contrôles au cours des dernières années. Citons notamment ceux de : JORDAN (1927) [21], de MAC-CRADY et LANGEVIN (1936) [31] et ceux de STARK et CURTIS (1936) [43].

Peut-être aurions-nous dû suivre une récente suggestion de

STARK et ENGLAND (1935) [42] confirmée par STARK et CURTIS (1936) [43] et suivant laquelle il est indiqué de faciliter les dégagements gazeux par addition de 0,5% de formiate de sodium au milieu de DUNHAM et SCHOENLEIN. Nous ne l'avons pas fait pour faciliter les comparaisons des résultats que nous obtenions avec d'autres antérieurement acquis.

2° Le milieu de DUNHAM et SCHOENLEIN est à la base de la technique de dénombrement préconisée dans les « Standard methods of milk analysis » [39], technique que dans son ensemble nous avons finalement résolu de retenir.

Pour simplifier l'exposé, nous désignerons cette technique sous le nom de « technique américaine » bien qu'elle n'ait pas encore, à notre connaissance, reçu l'approbation officielle de l'Association américaine de la Santé publique.

Rappel de la méthode américaine sous sa double modalité.

— Rappelons tout d'abord que, suivant une règle dont l'intérêt pratique apparaît de lui-même, la recherche des bactéries coliformes porte toujours, dans cette méthode, sur des volumes de lait progressant ou décroissant dans l'ordre décimal. Mais une distinction est établie dans la constitution du milieu suivant qu'on opère sur des volumes inférieurs ou égaux à 1 cm³ ou sur un volume de 10 cm³. Dans le premier cas, on fait appel au milieu Dunham-Schoenlein (en abrégé D. S.) simple, dans le second on a recours au milieu D. S. concentré. Cette distinction entraîne deux modalités d'application de la méthode colimétrique :

a) *Colimétrie en milieu D. S. simple.* Rappelons que le milieu D. S. a la constitution suivante :

	%
Bile de bœuf.....	2,0
Peptone	1,0
Lactose.....	1,0
Vert brillant	0,00133

Il est distribué par portion de 10 cm³ dans des tubes munis d'une petite cloche renversée (tubes de Durham). On stérilise les tubes à l'autoclave à 120° pendant 15 minutes. Le pH du liquide après stérilisation doit être de 7,1 à 7,4.

Des séries de tubes sont inoculées avec des quantités de lait de 1 cm³, 0 cm³ 1, 0 cm³ 01, etc. On prépare au minimum deux séries parallèles et de préférence cinq. L'incubation dure 48 heures à 37°.

A l'examen des tubes, trois cas peuvent se présenter :

1. Absence de dégagement gazeux ; — absence de bactéries coliformes.

2. Dégagement gazeux correspondant à moins de 10% du volume de la cloche; — cas douteux.

3. Dégagement gazeux représentant au moins 10% du volume de la cloche; — présence de bactéries coliformes.

Dans les cas douteux on complète l'épreuve par ensemencement sur milieu gélosé d'ENDO [11] (à la fuchsine décolorée par le bisulfite de soude) ou plus commodément sur milieu de LÉVINE [26] (éosine, bleu de méthylène). Sur le milieu de LÉVINE les bactéries des genres *Escherichia* et *Aerobacter* donnent, comme on le sait, des colonies d'aspect assez caractéristique.

b) *Colimétrie en milieu D. S. concentré.* Les différents constituants sont employés en proportion 1,5 fois plus grande que dans le milieu D. S. simple et le milieu est réparti par portions de 20 cm³ dans les tubes de fermentation. Les 10 cm³ de lait ajoutés aux 20 cm³ de bouillon ramènent les 30 cm³ de mélange à la concentration du milieu simple.

Il est nécessaire dans ce cas d'assurer un mélange complet du lait et du milieu et l'expérience nous a montré que cette opération ne peut être réalisée aseptiquement dans les tubes de Durham. Le liquide contenu dans le petit tube retourné est alors trop concentré et inhibe les bactéries coliformes, tandis que le reste du liquide est insuffisamment concentré et perd de ce fait une partie de son pouvoir sélectif. Il est dès lors indiqué de remplacer les tubes de Durham par les tubes d'Einhorn qui ne présentent pas le même inconvénient.

Ces particularités mises à part, les essais colimétriques en milieu D. S. doivent être conduits, suivant les auteurs américains, comme ils le sont en milieu D. S. simple.

La colimétrie en milieu D. S. concentré est infidèle et à rejeter. — En contrôlant des pasteurisations hautes, nous avons rapidement été amenés à des constatations imprévues.

L'inoculation de laits pasteurisés à 80, 90 et même 95° dans le milieu D. S. concentré était très souvent suivie d'un dégagement gazeux qui débutait en général après 24 heures et s'accompagnait d'une réduction du colorant. Du lait bouilli, soumis à la même épreuve, conduisait aux mêmes résultats.

Comme on pouvait s'y attendre, les tentatives d'isolement des bactéries coliformes en partant de ces milieux en fermentation échouaient régulièrement.

L'inoculation d'un peu du contenu des tubes positifs en bouillon lactosé ou en bouillon lactosé bilié n'y déterminait pas de dégagement gazeux.

Aucune colonie caractéristique du groupe des bactéries coliformes n'apparaissait sur milieu de Lévine.

Les isoléments sur gélose nutritive inclinée conduisaient à des formes microbiennes incapables de faire fermenter le lactose avec dégagement gazeux.

Il fallait dès lors songer à l'action des anaérobies qu'on isolait facilement en gélose profonde et qui purent être rangés dans le groupe des ferments butyriques.

On a, d'autre part, réussi à déclencher des fermentations gazeuses semblables à celles qui avaient été observées au départ en inoculant les microbes anaérobies que nous avons isolés dans les tubes d'Einhorn renfermant 20 cm³ de milieu D. S. concentré additionnés de 10 cm³ de lait stérilisé, après avoir pris la précaution de priver le liquide d'air par ébullition.

Il est vraisemblable que les conditions d'anaérobiose obtenues artificiellement en milieu stérile par ébullition, étaient assurées dans les tubes d'épreuve colimétrique par le développement d'espèces aérobies thermorésistantes.

De nos propres essais sur lesquels nous aurons à revenir ultérieurement il résultait en tout cas que la colimétrie appliquée à 10 cm³ de lait, suivant la deuxième modalité de la technique américaine, *constitue une méthode infidèle qui est à rejeter.*

Pour expliquer ces résultats, on peut remarquer que la concentration du milieu en bile et en vert brillant est ramenée aux chiffres de DUNHAM et SCHOENLEIN, non pas par une addition d'eau mais par un enrichissement en lait. La constitution du milieu est ainsi profondément modifiée. Son pouvoir sélectif peut, de ce fait, se trouver réduit et c'est bien là la conclusion à laquelle aboutissent les récentes recherches de STARK et CURTIS [43].

La colimétrie en milieu D. S. simple est d'une fidélité satisfaisante et peut être retenue comme méthode de référence. — Pour contrôler la valeur des indications colimétriques fournies par cette méthode, on a tout naturellement pensé à la soumettre à des épreuves d'inspiration synthétique. Ces épreuves consistaient à mettre successivement en culture pure dans du lait stérilisé, différents types microbiens connus et à vérifier les réactions qu'ils donnent à l'essai colimétrique. Or, avant nos propres recherches, de telles épreuves avaient déjà été réalisées méthodiquement et d'une manière assez complète, ainsi qu'en témoigne notamment un récent mémoire de STARK et CURTIS (1936) [43] déjà cité. Il nous a donc semblé inutile de revenir sur la question.

Par contre, nous avons tenu à vérifier la fidélité de la méthode dans les conditions de nos essais en procédant par la voie analytique.

A cet effet, dans un très grand nombre de cas, souvent très différents les uns des autres, nous avons vérifié que les indications de la méthode étaient conformes à la réalité bactériologique. Nous entendons dire par là, qu'en isolant suivant les méthodes classiques les bactéries présentes dans les tubes comptés comme positifs, on obtenait, avec une régularité très satisfaisante, des souches microbiennes qui, par l'ensemble de leurs caractères, se classaient fort nettement dans les genres *Escherichia* ou *Aerobacter*.

Colimétrie en milieu D. S. et colimétrie en bouillon phéniqué. — Dans un certain nombre de laboratoires, en France notamment, on a encore recours pour la « détection du *Coli* » dans le lait à la méthode classique des cultures en bouillon peptoné phéniqué et à la recherche de l'indol dans ces cultures. Ce mode opératoire est évidemment illogique puisqu'il existe des espèces indologènes et des espèces non indologènes aussi bien dans le genre *Escherichia* que dans le genre *Aerobacter*. Dès le début de nos recherches, nous avons cependant tenu à mettre en parallèle les indications qu'il fournit avec celles que donne la colimétrie en milieu D. S. simple. Nous pensons qu'il n'est pas sans intérêt de rappeler ici les résultats de ces études.

Le bouillon phéniqué dont nous faisons usage avait la formule classique suivante :

Peptone	15 grammes
Nacl	5 grammes
Phénol	1 gramme
Eau distillée.....	QS pour 1.000 cm ³

Le bouillon étant réparti en tubes par fraction de 10 cm³, on inoculait une double série de ces tubes avec 1 cm³ de lait et des fractions décimales de 1 cm³ : 0 cm³ 1, 0 cm³ 01.

Après 48 heures d'incubation à 41°5, la recherche de l'indol était effectuée soit par la méthode de Salkowski (nitrite de soude en milieu sulfurique), soit par la réaction d'Ehrlich (paradiméthylaminobenzaldéhyde en milieu chlorhydrique).

Les épreuves colimétriques sur milieu D. S. étaient également conduites sur double série de tubes.

Dans le tableau II, qui se rapporte à une étude effectuée sur des laits de provenances diverses, on a inscrit en regard les chiffres qui, pour chacune des deux méthodes mises en comparaison, ont établi la limite des réactions positives, c'est-à-dire : a) le volume minimum de lait ensemencé dans les tubes donnant une réaction positive ; b) le nombre de tubes positifs pour l'ensemencement minimum.

TABEAU II
COLIMÉTRIE EN MILIEU D. S. ET EN EAU PEPTONÉE PHÉNIQUÉE.
LIMITE DES RÉACTIONS POSITIVES

Désignation des échan- tillons de lait	Méthode de référence en milieu D. S.		Production d'indol en bouillon peptoné phéniqué	
	Volumes de lait ensemencés en centimètres cubes	Tubes positifs pour 2 tubes ensemencés	Volumes de lait ensemencés en centimètres cubes	Tubes positifs pour 2 tubes ensemencés
1	1/1.000 ^e	1	1/10 ^e	1
2	1/1.000 ^e	1	«	
3	1/10 ^e	1	1 cm ³	1
«	1/100 ^e	1	«	
4	1/1.000 ^e	2	1/10 ^e	2
5	1/10.000 ^e	1	1/1.000 ^e	1
6	«	»	1/1.000 ^e	1
«	1/10.000 ^e	1	1/10.000 ^e	1
7	1/100.000 ^e	1	1/10.000 ^e	2
8	1/1.000.000 ^e	1	1/1.000 ^e	2
9	1/100.000 ^e	1	1/1.000 ^e	2
10	1/100.000 ^e	2	1/100.000 ^e	1
11	1/1.000.000 ^e	1	1/10.000	2

Un simple examen du tableau II suffit à confirmer l'insuffisance des résultats globaux fournis par la deuxième méthode, en comparaison, de ceux que donne la première.

Mais il y a plus. Dans un certain nombre d'essais du groupe précédent, on a isolé les souches de bactéries coliformes présentes

TABEAU III
COLIMÉTRIE EN MILIEU D. S. ET COLIMÉTRIE EN BOUILLON PHÉNIQUÉ
SENSIBILITÉ COMPARÉE DES DEUX MÉTHODES
VIS-A-VIS DE SOUCHES INDOLOGÈNES

Dates	Origine des laits étudiés	Limite des réactions positives dues à des germes indologènes	
		Milieu D. S. (centimètres cubes)	Milieu phéniqué (centimètres cubes)
19 novembre 1935.	Vacherie région parisienne	1/1.000	1/100
28 mars 1936	Id.	1/1.000	1
3 avril 1936	Id.	1/1.000	1/10

dans les derniers tubes positifs du milieu D. S. et du bouillon phéniqué. Or, il nous est arrivé de trouver des bactéries indologènes en milieu D. S. dans des volumes de lait bien inférieurs à ceux qui marquaient la limite des réactions positives en bouillon phéniqué. La colimétrie en milieu D. S. est donc nettement plus sensible que la colimétrie en bouillon phéniqué, même pour le dénombrement des souches indologènes. Le tableau III précise cette notion par quelques chiffres.

De cette étude, nous n'avions pas manqué de conclure que la colimétrie en bouillon phéniqué n'est pas à retenir comme méthode de contrôle bactériologique des laits de consommation.

DEUXIÈME PARTIE

NOS ESSAIS COLIMÉTRIQUES DANS L'ÉTUDE DES PROBLÈMES QUE SOULÈVE LE CONTRÔLE DES PASTEURISATIONS INDUSTRIELLES

Rappelons tout d'abord que le principe de ces essais consistait à déterminer dans quelles mesures on peut trouver un avantage à substituer la colimétrie (méthode de référence) au dénombrement global des germes banaux qui constituent la microflore envahissante des laits de consommation.

L'ensemble des recherches qu'a comporté l'étude du programme ainsi défini sera rapporté dans le cadre du plan ci-après.

A. La colimétrie dans l'étude des contaminations du lait avant la pasteurisation.

B. Sur le principe du contrôle des pasteurisations hautes par la voie colimétrique.

C. La colimétrie dans le redressement du travail des chantiers de pasteurisation.

D. La colimétrie dans le contrôle à l'arrivée à Paris des laits pasteurisés expédiés en bidons ou en citernes.

E. La colimétrie dans le contrôle des laits pasteurisés livrés en bouteilles aux consommateurs.

A. La colimétrie dans l'étude des contaminations du lait avant la pasteurisation

Le thème expérimental des études de cette série s'imposait de lui-même.

On prélevait en flacons stériles des échantillons de lait tel qu'il s'écoule des trayons au cours d'une traite proprement effectuée, dans les conditions de la pratique.

Ces échantillons permettaient d'étudier la contamination initiale, pratiquement inévitable, des laits crus, telle que nous l'avons antérieurement définie [14] et qu'on peut aussi, plus simplement, appeler

« contamination au pis ». Une série d'autres échantillons prélevés en flacons stériles également, à des stades convenablement choisis de la vie du lait cru, permettaient de suivre la progression de ses contaminations secondaires.

Sur ces divers échantillons on procédait :

a) A un dénombrement global des germes banaux de la microflore envahissante. Ces dénombrements étaient effectués sur notre milieu gélosé à base de lait écrémé digéré par la trypsine [16].

b) A une détermination colimétrique par la méthode de référence (D. S.).

Le tableau IV précise par quelques exemples le sens général des résultats que nous avons ainsi obtenus. Il fait, en outre, apparaître l'importance des contaminations qu'apportent dans le lait les ustensiles insuffisamment désinfectés.

En se reportant aux chiffres du tableau IV, on notera que la colimétrie donne au sujet des contaminations du lait cru à la ferme, des indications qui concordent bien avec celles que fournissent les dénombrements des germes banaux sur nos plaques gélosées.

Mais on notera aussi que la colimétrie ne donne qu'une idée bien imparfaite des charges microbiennes apportées dans le lait au cours des diverses manipulations qu'il subit avant son départ pour l'usine. Les renseignements qu'apportent à cet égard les numérations de germes sur plaques gélosées sont de beaucoup plus instructives et cette considération, jointe à beaucoup d'autres sur lesquelles

TABLEAU IV
CONTAMINATION DU LAIT A LA FERME
LE NOMBRE DES GERMES EST RAPPORTÉ A UN CENTIMÈTRE CUBE, CELUI DES BACTÉRIES COLIFORMES A DIX CENTIMÈTRES CUBES DE LAIT

Dates (1937)	Traitement des ustensiles laitiers	Prélèvement des échantillons							
		Au pis		Au seau à traire		Après le couloir		Au bidon	
		Germes banaux	Bactéries coliformes	Germes banaux	Bactéries coliformes	Germes banaux	Bactéries coliformes	Germes banaux	Bactéries coliformes
3 février .	Courant	690	0	30.000	900	»	»	»	»
20 février .	Id.	960	0	63.000	14	250.000	25	310.000	20
4 mai . . .	Id.	800	0	197.000	250	»	»	460.000	700
3 février .	Stérilisation	1.800	0	12.000	2	»	»	»	»
11 mai . . .	Id.	770	0	3.900	2	6.300	4	5.200	7
18 février .	Javellisation	550	0	11.800	2	11.000	2	12.500	5
25 mai . . .	Id.	9.500	2	6.000	0	15.500	13	9.500	8

nous ne pouvons insister ici, a finalement fortifié l'idée, déjà exprimée dans notre précédent mémoire [15], que la numération des germes sur nos plaques gélosées constitue, pour l'étude de la microflore envahissante des laits crus, une méthode de choix.

B. Sur le principe du contrôle des pasteurisations hautes par la voie colimétrique

La pasteurisation basse des laits de consommation n'est pratiquée qu'exceptionnellement dans le bassin parisien et elle a d'autre part été beaucoup plus étudiée que la pasteurisation haute notamment dans les pays où elle est officiellement recommandée.

Pour cette double raison, nous ne ferons pas figurer dans ce mémoire les résultats des quelques essais que nous avons dû entreprendre pour contrôler les pasteurisations basses. Par contre, nous nous arrêterons longuement sur les travaux relatifs aux pasteurisations hautes que nous avons réalisés depuis trois ans dans la région parisienne.

Ainsi que nous l'avons indiqué ailleurs, nos premières recherches conduites en liaison avec RINJARD [14] nous avaient amenés à fixer à 80° la température de sécurité requise pour la destruction certaine du *B. tuberculeux* dans nos chantiers de pasteurisation les moins parfaitement outillés. En collaboration avec SIMONNET [38] nous avons, d'autre part, établi que la pasteurisation des laits à cette température n'est nullement incompatible avec la conservation parfaite de leurs qualités nutritives essentielles, lorsque l'opération est effectuée à l'abri de l'air.

En principe, nous avons donc retenu le chiffre de 80° comme représentant la température de sécurité à atteindre dans nos chantiers de pasteurisation haute, le temps de chambrage à 80° étant lui-même fixé, suivant la coutume moderne, à 15 secondes au minimum.

Aucune bactérie coliforme ne saurait évidemment résister à un traitement thermique aussi énergique.

Nous avons souvent vérifié, en effet, que dans les conditions les moins favorables de nos essais, ces bactéries étaient déjà détruites à 75° et même nettement au-dessous de cette température. Mais une question restait posée : celle de savoir si la microflore thermorésistante des laits pasteurisés ne renfermait pas quelquefois des germes capables de donner en milieu D. S. des fermentations gazeuses du lactose et de fausser ainsi les indications de la méthode colimétrique de référence.

A cette question, on ne pouvait donner d'autres réponses probantes que celles qui résulteraient d'un très grand nombre d'obser-

vations relevées dans la pratique et dans les conditions de travail industriel aussi diverses que possible.

La documentation que nous avons aujourd'hui rassemblée sur ce point nous semble particulièrement édifiante. Elle nous a été fournie par plus de 600 essais effectués au cours des deux dernières années dans douze chantiers de pasteurisation qui avaient en service des pasteurisateurs de marques diverses et appartenant aux types dits paraboliques, tubulaires ou à plaques. Dans tous les cas, on effectuait les prises d'échantillons aseptiquement et en flacons stériles, directement à la sortie du chambrage. Après refroidissement, le lait des échantillons était réparti aseptiquement par fraction de 1 cm³ soit dans deux, soit dans cinq, soit même dans dix tubes de milieu D. S. Après 48 heures d'incubation à 37° aucun des tubesensemencés n'a jamais pu être classé comme positif suivant les règles antérieurement posées de la colimétrie (méthode de référence).

Du fait qu'un lait pasteurisé donne les résultats colimétriques négatifs que nous venons d'indiquer, on ne peut évidemment rien conclure quant à l'efficacité hygiénique réelle de la pasteurisation qu'il a subie. Pour faire disparaître à cet égard tout malentendu possible, rappelons encore ici qu'on sait parfaitement — et nos propres essais conduits en liaison avec RINJARD avaient confirmé le fait avec une netteté rarement égalée — que certains germes pathogènes comme le *B. tuberculeux*, sont beaucoup plus résistants au chauffage que les bactéries coliformes.

Mais, dans un autre ordre d'idée, la généralité sans défaillance des résultats colimétriques négatifs que nous venons de rappeler méritait amplement de retenir l'attention. Elle pouvait donner une base à de nouvelles études pleines d'intérêt sur les recontaminations des laits pasteurisés.

Il est en effet évident, a priori, que toute recontamination apportant des bactéries coliformes dans un lait pasteurisé doit tendre à modifier ses réactions colimétriques, les faisant passer du négatif au positif pour un volume minimum de lait contaminé qui ne doit dépendre que de l'état bactériologique du matériel contaminant.

Or, cette notion, a priori, se prête aisément à la vérification expérimentale si l'on tient compte du fait que le matériel contaminant de beaucoup le plus important dans la pratique est constitué soit par du lait cru, soit par le lait dilué des rinçures de la vaiselle laitière. Pour préciser l'allure que peut prendre une vérification de cet ordre, nous rappellerons à titre d'exemple le détail d'un de nos essais les plus significatifs.

Essai d'épreuve. — Le 23 août 1938, au chantier de pasteuri-

sation *Fl* que nous contrôlons depuis un mois déjà, on prélève en flacons stériles, avec toutes les précautions requises, deux échantillons :

a) Le premier A est constitué par du lait cru prélevé dans les tanks d'attente du chantier. Ce lait sera pasteurisé le jour même.

b) Le deuxième B est constitué par du lait pasteurisé prélevé à la sortie du chambreur, sur un appareil à plaques qui fonctionne à 82° avec chambrage de 15 secondes.

Sous réserve de vérification ultérieure, on admet par avance que le lait B, comme tous ceux qui ont été examinés dans les mêmes conditions les jours précédents, donnera à l'épreuve colimétrique des résultats négatifs.

On procède alors à une recontamination méthodique du lait B par le lait A, le second étant ajouté au premier dans la proportion de 1/200^e, 1/2.000^e, 1/20.000^e, 1/200.000^e, 1/2.000.000^e.

Les laits B ainsi contaminés sont soumis à l'épreuve colimétrique de référence en même temps que le lait B non contaminé dont on se propose de vérifier la réaction négative et que le lait A, dont on ignore encore la richesse en bactéries coliformes.

Le 25 août, après les 48 heures d'incubation réglementaire, on lit les résultats de l'épreuve qu'il serait fastidieux et inutile de reproduire ici intégralement. Bornons-nous à mettre en lumière les données fondamentales suivantes qui se dégagent des lectures :

Le lait B donne bien les réactions négatives prévues.

Le lait A donne des résultats positifs sous des volumes minima compris entre 1/100.000^e et 1/1.000.000^e de centimètre cube.

Le lait B contaminé, pris sous volume de 1 cm³, donne des résultats positifs pour des taux de contamination égaux et supérieurs à 1/200.000^e.

La concordance de ces indications est tout à fait satisfaisante.

Il est possible de la présenter sous une forme plus saisissante encore, en faisant appel aux indications fournies par des tables de MacCRADY qui permettent, comme on le sait, de traduire les lectures des échelles colimétriques en nombre de bactéries par centimètre cube de lait.

Effectuant ces traductions suivant les règles d'usage, nous avons trouvé que le lait A renfermait 600.000 bactéries coliformes par centimètre cube (tubes positifs à la dilution 10⁻⁵ : 2 sur 2. à la dilution 10⁻⁶ : 1 sur 2. à la dilution 10⁻⁷ : 0 sur 2). Avec 1/200.000 de centimètre cube de ce lait A, on aurait donc apporté dans 1 cm³ de

lait B, au cours des contaminations expérimentales, $\frac{600.000}{200.000}$, soit 3 bactéries coliformes. Or, la lecture de l'épreuve directe effectuée

sur le lait B contaminé au 1/200.000^e par le lait A conduit au chiffre de 2,5 bactéries coliformes par centimètre cube (2 tubes positifs pour 1 cm³, 2 tubes négatifs pour 1/10^e de centimètre cube).

Mais nous ne manquerons pas de faire remarquer que dans cette dernière interprétation l'impressionnante concordance relevée entre les « résultats calculés » et les « résultats trouvés » peut être attribuée en partie au hasard.

Pour simplifier nos recherches nous avons en effet réalisé nos essais sur deux séries parallèles de tubes seulement et il est tout à fait hors de doute que, dans de telles conditions, les données des tables de MACCRADY restent toujours sujettes à caution.

Nous nous en tiendrons donc de préférence aux seules indications que nous ont fournies les lectures colimétriques directes. Elles suffisent d'ailleurs à faire ressortir avec toute la netteté désirable la notion essentielle qui se dégage de notre essai : celle de l'importance du pouvoir contaminant immédiat du lait A par rapport au lait B. Précisons cette donnée dans le cadre de nos préoccupations actuelles.

Les projets d'une nouvelle réglementation française des laits pasteurisés, d'ores et déjà adopté, par le Comité central du lait et par le Conseil supérieur d'Hygiène publique de France, prévoient un « lait pasteurisé certifié » vendu en bouteilles cachetées à la marque du chantier de pasteurisation et qui devra répondre à un certain nombre de conditions hygiéniques parmi lesquelles figure celle de ne renfermer qu'un nombre de bactéries coliformes inférieur à 1 par centimètre cube. En supposant cette réglementation en vigueur, on voit que, dans les conditions de notre essai, il suffisait qu'une partie de lait cru se trouvât fortuitement introduite dans 200.000 parties de lait bien pasteurisé pour que, immédiatement et sans que soit intervenue encore la moindre multiplication microbienne, ces 200.000 parties de lait pasteurisé perdissent leur droit à la dénomination « lait pasteurisé certifié ».

Notre essai d'épreuve, confirmé par beaucoup d'autres analogues, laisse donc finalement l'impression que la colimétrie pourrait sans doute constituer une méthode extrêmement sensible, donc excellente, dans la recherche des contaminations des laits pasteurisés. Mais pour juger de l'intérêt réel que pouvait effectivement présenter cette remarque, la contre-épreuve des observations précédentes s'imposait, et elle devait être conduite sur le terrain même de la pratique industrielle.

C. La colimétrie dans le redressement du travail industriel des chantiers de pasteurisation

Le lait donnant régulièrement des réactions colimétriques

négatives après chauffage, chaque fois qu'à la sortie du réfrigérant il réagira positivement à l'épreuve de référence, on pourra en conclure qu'il a été recontaminé durant son passage dans l'échangeur de température et le réfrigérant. Si on soumet alors l'échangeur de température et le réfrigérant à une désinfection minutieuse et au besoin plusieurs fois répétée, les réactions colimétriques des laits pasteurisés et refroidis doivent redevenir négatives.

Le dénombrement des germes de la microflore envahissante, pratiqué suivant la méthode que nous avons préconisée, doit par ailleurs confirmer les indications de la colimétrie et l'interprétation qu'on leur a ainsi donnée.

Ce que nous venons de dire au sujet de l'échangeur de température et du réfrigérant s'applique également à tout le matériel avec lequel le lait pasteurisé entre en contact après la réfrigération et notamment aux bacs de garde, aux appareils de soutirage et aux récipients d'expédition (citernes ou bidons) ainsi qu'à la tuyauterie et à la robinetterie reliant entre eux ces divers appareils.

L'expérience nous a montré que ces prévisions se vérifient en tous points dans la pratique. Un exemple typique choisi parmi beaucoup d'autres semblables suffira à l'établir.

Exemple de redressement du travail par contrôle direct d'un chantier de pasteurisation. — Il s'agit en l'occurrence du chantier de pasteurisation D qui utilise un appareil Stassano fonctionnant à son régime thermique normal (75°). Le réfrigérant est à plaques.

Le 7 décembre 1937, sans avoir rien modifié aux conditions du travail courant, on effectue une première série de contrôles dont les résultats sont rassemblés dans les colonnes « avant intervention » du tableau V.

On voit que dans ce premier contrôle les résultats de la colimétrie et ceux des dénombrements sur plaques gélosées accusent, au niveau du réfrigérant une contamination massive à laquelle d'autres, moins importantes, se surajoutent par la suite et notamment dans les bidons d'expédition.

Les 8 et 9 décembre on désinfecte tout le matériel à l'eau javellisée.

Le 9 un nouveau contrôle effectué dans les mêmes conditions générales que celui du 7, conduit aux résultats qui figurent dans les colonnes « après intervention » du tableau V. Ces résultats montrent que l'efficacité de la désinfection est accusée aussi bien par la colimétrie que par les numérations sur plaques.

D. La colimétrie dans le contrôle à l'arrivée à Paris des laits pasteurisés expédiés en bidons ou en citernes

Dans une ville comme Paris dont l'approvisionnement en lait

TABLEAU V
CONTROLE ET REDRESSEMENT DU TRAVAIL DU CHANTIER DE PASTEURISATION D

Prélèvements effectués	Avant intervention		Après intervention	
	Nombre de germes banaux au centimètre cube	Nombre de bactéries coliformes probables au centimètre cube	Nombre de germes banaux au centimètre cube	Nombre de bactéries coliformes probables au centimètre cube
Lait après chauffage	36.000	0	36.000	0
Lait après réfrigération	140.000	250	37.000	0,5
Lait à la sortie de la soutireuse	150.000	250	»	»
Lait dans les bidons d'expédition	212.000	250	44.000	0

est encore presque exclusivement assuré par les envois de chantiers de pasteurisation situés dans les centres de production, le problème de la surveillance hygiénique des laits pasteurisés est complexe. Pour rendre cette surveillance possible, il est nécessaire d'établir une discrimination entre deux ordres de responsabilités : celles qui reviennent au chantier de pasteurisation d'une part, et celles qui restent imputables aux détaillants de l'autre. Dans de telles conditions, c'est à l'arrivée à Paris, dans les bidons ou citernes encore plombés à la marque du chantier de pasteurisation expéditeur, qu'un contrôle bactériologique offre le maximum d'intérêt. S'il conduit à des résultats satisfaisants, c'est que le travail du chantier de pasteurisation est correct et la surveillance des détaillants reste seule à l'ordre du jour. Dans le cas contraire, c'est le travail même du chantier de pasteurisation qu'il importe, avant tout, de redresser.

Suivant le thème général de nos recherches, nous avons déterminé ce que donnent respectivement la colimétrie et la numération des germes sur plaques gélosées dans le cas, si important pour nous, de ces contrôles des laits pasteurisés à leur arrivée à Paris.

Pour donner une idée précise des résultats de ces déterminations, nous rassemblerons dans le tableau VI les chiffres auxquels nous ont conduits nos examens dans un certain nombre de cas typiques. Ces chiffres se rapportent pour chaque chantier de pasteurisation :

a) à un contrôle antérieur à notre intervention; b) à un second contrôle pratiqué aussitôt après notre intervention, c'est-à-dire après une désinfection méthodique et soignée de tout le matériel et une amélioration aussi poussée que possible de la réfrigération des laits expédiés.

Dans la première colonne du tableau chaque chantier de pasteurisation est désigné par une lettre de A à F et caractérisé par des indications sommaires sur : a) le type de pasteurisateur utilisé (tubulaire, parabolique, Stassano, à plaques); b) la température de pasteurisation; c) le mode d'expédition du lait pasteurisé (bidons de 20 litres ou citernes de grande capacité).

L'examen du tableau VI permet de dégager deux importantes données :

1° Le redressement du travail défectueux d'un chantier de pasteurisation se traduit par une amélioration, et cette amélioration se manifeste à l'arrivée à Paris aussi bien par les résultats des épreuves colimétriques que par ceux des numérations sur plaques.

2° En dépit de toutes les précautions prises, des recontaminations du lait par les bactéries coliformes peuvent se produire dans les bidons et même dans les citernes. Or, dès que la température devient favorable, la prolifération de ces bactéries se montre si

TABLEAU VI

CONTROLE DES LAITS PASTEURISÉS A LEUR ARRIVÉE A PARIS AVANT ET APRÈS REDRESSEMENT
DU TRAVAIL DES CHANTIERS DE PASTEURISATION

Désignation du chantier et mode d'expédition utilisé	Date de l'interven- tion	Avant intervention			Après intervention		
		Tempé- rature à l'arri- vée à Paris	Nombre de bactéries au centimètre cube		Tempé- rature à l'arri- vée à Paris	Nombre de bactéries au centimètre cube	
			Colifor- mes	Banales		Colifor- mes	Banales
A, tubulaire, 80 à 85° C. Bidons	Septembre	17°	25.000	3.760.000	14°	0	51.000
B, plaques, 80° C. Bidons	Novembre	8°	250	223.000	5°	0,5	67.000
E, parabolique, 85 à 90° C. Bidons	Décembre	9°	2.500	540.000	6°	6	13.000
D, Stassano, 75° C. Bidons	Décembre	10°5	250	508.000	9°	0	44.000
E, tubulaire, 80 à 85° C. Bidons	Décembre	12°	250	1.100.000	9°	25	17.900
F, tubulaire, 80 à 85° C. Citerne	Septembre	15°	250	110.000	11°5	0	700

active qu'elles réenvahissent rapidement le lait chez le détaillant, alors même que celui-ci ne commettrait aucune autre faute technique que celle de débiter du lait pasteurisé qui s'est naturellement réchauffé.

Cette dernière considération limite singulièrement l'intérêt des contrôles colimétriques dans le cas envisagé ici. Aussi la nouvelle réglementation française ne prévoit-elle pour ce cas, en ce qui concerne la microflore envahissante, qu'un dénombrement global des germes banaux. A l'arrivée à Paris, on ne tolérera pas plus de 100.000 de ces germes par centimètre cube de lait pasteurisé tout venant. Ce lait pasteurisé n'aura droit par ailleurs à aucune dénomination impliquant l'idée d'une supériorité de qualité.

E. La colimétrie dans le contrôle des laits vendus aux consommateurs en bouteilles cachetées

Pour faire apparaître tout l'intérêt de cette catégorie de contrôles, il nous faut maintenant préciser la position que nous avons prise vis-à-vis du problème de l'amélioration hygiénique de nos laits de consommation.

Les impressions depuis longtemps recueillies par l'un de nous [13] sur les conditions générales de notre production et de nos ramassages de lait ayant trouvé une éclatante confirmation dans nos études sur la pasteurisation [14], nous avons pensé qu'il fallait susciter les améliorations nécessaires en orientant tout d'abord les efforts vers un objectif unique, effectivement accessible aux réalisations agricoles, industrielles et commerciales. L'objectif à choisir semblait devoir être, à notre avis, l'obtention d'un lait pasteurisé type, jugé de qualité hygiénique aussi satisfaisante que possible. Cette qualité serait garantie par quelques critères qu'on aurait fixés de telle manière qu'ils puissent être considérés comme décisifs. Et pour encourager les entreprises à la production de ce lait-type, on réserverait à celui-ci une dénomination et une marque spéciales témoignant de sa qualité particulière. Nous avons proposé de l'appeler « lait pasteurisé certifié ».

Suivant le nouveau projet de réglementation des laits pasteurisés français, les « laits pasteurisés certifiés » devront satisfaire aux conditions suivantes :

1° N'être vendus qu'en bouteilles de 1 litre au maximum, cachetées à la marque du chantier de pasteurisation et portant la date de la pasteurisation.

2° Ne pas être conservés plus de 48 heures avant la livraison au consommateur, la température du lait dans les bouteilles étant sans cesse maintenue au-dessous de $+ 10^{\circ}$ C.

3° Ne pas renfermer de germes pathogènes.

4° Ne renfermer qu'un nombre de germes microbiens banaux inférieur à 30.000 par centimètre cube. Dans notre pensée, ces germes doivent être dénombrés par cultures sur plaques gélosées de qualité nutritive au moins équivalente à celle qu'on obtient avec notre milieu : lait écrémé digéré par la trypsine [16].

5° Ne renfermer qu'un nombre de bactéries coliformes inférieur à 1 par centimètre cube. Nous pensons que ces bactéries doivent être dénombrées par culture en milieu D. S. simple, suivant la méthode de référence adoptée dans ce mémoire ou par toute autre méthode reposant sur le même principe et donnant des résultats au moins équivalents.

Satisfaction étant régulièrement donnée aux trois premières prescriptions ci-dessus énumérées, nous pensions que la quatrième et surtout la cinquième donneraient la meilleure garantie désirable au sujet de la non recontamination des laits pasteurisés. Nous présumons, en outre, que la quatrième prescription impliquait l'obligation de ne soumettre à la pasteurisation qu'un lait aussi peu chargé que possible en germes microbiens banaux, c'est-à-dire récolté et ramassé proprement.

Les minutieuses études que nous avons réalisées depuis la fin du mois de juillet dernier au chantier de pasteurisation *Fl.* ont eu pour objet propre de fixer par l'expérimentation industrielle ce qu'il fallait retenir de ces suggestions.

Etudes sur la préparation et le contrôle des laits pasteurisés du type certifiés au chantier *Fl.* — Avant notre intervention, une de nos grandes firmes laitières parisiennes (Société laitière Maggi) avait déjà réalisé au dépôt *Fl.* (dépôt des Flandres) une belle installation qui préparait un lait pasteurisé livré à la consommation en bouteilles cachetées. Au mois de juillet 1938, en complet accord avec la firme exploitante, nous avons pris en main le contrôle du chantier de pasteurisation *Fl.*, étant bien entendu que les modifications dont nos contrôles indiqueraient la nécessité seraient réalisées rapidement. Sans établir de distinction superflue entre ce qui avait été fait avant notre intervention et les améliorations que nous avons suggérées, caractérisons brièvement, du point de vue technique, le mode actuel d'exploitation du dépôt *Fl.*

Le chantier situé à Paris (gare de l'Est) pasteurise chaque jour de 30 à 50.000 litres de lait cru. Celui-ci, reçu en citernes isothermes, provient de deux centres de production où il a été réchauffé à 25°, épuré par centrifugation et refroidi à + 2 + 4. La pasteurisation pratiquée au moyen d'appareils à plaques est conduite un peu au-dessus de 80° avec chambrage de 15 secondes. Refroidi à + 4°,

le lait pasteurisé est immédiatement mis en bouteilles de verre transparent. Le nettoyage et le remplissage de ces bouteilles est effectué mécaniquement au moyen d'appareils modernes des meilleurs types.

Les températures de pasteurisation sont soigneusement enregistrées.

Les contrôles bactériologiques sont effectués :

a) Journallement à l'usine ; pour la recherche des contaminations par voie colimétrique.

b) Au laboratoire national des industries laitières pour les numérations de germes sur plaques.

c) Au laboratoire national des Industries laitières en liaison avec le laboratoire national de recherches sur les maladies du bétail (Directeur RINJARD) pour ce qui concerne les germes pathogènes. Les contrôles de cette catégorie conduisent régulièrement à des résultats négatifs, mais ils sont cependant effectués de temps en temps à titre de mesure de sécurité complémentaire.

Nous avons reproduit dans le tableau VII une série de résultats se rapportant à nos essais colimétriques et à nos numérations sur plaques.

Durant la période de mise au point (du 25 juillet au 8 août) on avait à effectuer chaque jour un nombre de contrôles variable sur des échantillons prélevés à différents moments au cours du travail. Les résultats de ces contrôles ont permis d'établir des moyennes (arithmétiques pour les bactéries coliformes, géométriques pour les germes banaux) et ce sont ces dernières qui figurent dans le tableau.

Au cours de la période de marche normale qui part du 9 août, un seul échantillon moyen a été examiné chaque jour et les moyennes enregistrées dans le tableau sont calculées sur les résultats de quatre contrôles journaliers consécutifs.

A partir du 29 août nous n'avons plus donné que quelques exemples des chiffres, toujours comparables les uns aux autres, qui figurent dans nos carnets de contrôle.

Il suffit de jeter un coup d'œil sur le tableau pour se rendre compte que la colimétrie nous a donné dans la période de mise au point les mêmes résultats satisfaisants que nous avions antérieurement enregistrés.

Durant la période de marche normale, les résultats des contrôles colimétriques restent satisfaisants, comme d'ailleurs ceux des dénombrements sur plaques. Mais nous devons ajouter que les premiers n'ont pu être maintenus dans les limites requises qu'au prix d'une désinfection journalière du matériel conduite avec les

TABLEAU VII
CONTROLE D'UN LAIT DU TYPE « PASTEURISÉ CERTIFIÉ »
CHANTIER DE PASTEURISATION Fl.

Dates	Nombre de bactéries coliformes au centimètre cube Moyennes arithmétiques	Nombre de germes banaux au centimètre cube Moyennes géométriques	Observations
25 juillet	3,7	41.800	Période de mise au point
26 juillet	58	33.600	
28 juillet	55	54.700	
30 juillet	13,7	21.500	
1 ^{er} août	3,3	70.000	
2 août	3,4	20.000	
3 août	0,5	21.700	
5 août	0,6	40.000	
6 août	3	18.100	
7 août	0	18.200	
8 août	0	22.500	
9 août	0	25.000	
Du 10 au 13 août	0,5	18.200	
Du 15 au 18 août	0,6	23.000	
Du 19 au 23 août	0,4	21.100	
Du 24 au 27 août	0,2	17.100	Marche normale du travail contrôlé
Du 29 août au 1 ^{er} septembre	0,3	19.100	
.....			
Du 7 au 10 septembre	0,3	19.300	
.....			
Du 21 au 24 septembre	0,2	27.800	
.....			
Du 3 au 7 octobre	0,1	24.100	
.....			
Du 12 au 15 octobre	0	27.700	
.....			
Du 25 au 28 octobre	0	29.300	

soins les plus minutieux par un opérateur compétent. Jusqu'à ce jour, la moindre défaillance dans les services de désinfection a toujours eu pour répercussion au dépôt Fl. une élévation très nette du taux colimétrique des laits pasteurisés. C'est pour cette raison que les essais colimétriques sont effectués à l'usine même, sous les yeux des chefs de service intéressés.

Si les conditions de température antérieurement indiquées

sont bien observées, le taux colimétrique des laits pasteurisés en bouteilles reste sensiblement constant jusqu'à la livraison au consommateur. On peut dire dès lors que sa détermination constituera sans doute l'épreuve essentielle du contrôle des « laits pasteurisés certifiés ».

Pour ce qui a trait au nombre de germes banaux, l'expérience nous a montré que, pour le régime de pasteurisation que nous avons adopté, la limite de 30.000 ne peut être maintenue qu'au prix du maintien d'une bonne discipline dans les ramassages de lait.

Les indications de la colimétrie et des numérations de germes banaux sur plaques gélosées se complètent donc ici très heureusement.

Conclusion de notre étude

Après une étude critique et quelques vérifications expérimentales qui s'imposaient, nous avons choisi comme méthode colimétrique de référence la méthode américaine en milieu Dunham-Schoenlein (D. S.) simple. Ce choix reste dans notre esprit sujet à révision et nous n'hésiterons pas à donner notre préférence à tout autre milieu, qui, par la suite, pourrait nous sembler d'un emploi plus avantageux. Des études sur cette question restent en cours à notre laboratoire.

Mais l'emploi du milieu D. S. nous a, d'ores et déjà, permis de préciser la part qui, à notre avis, doit revenir à la colimétrie dans le contrôle de la pasteurisation des laits.

Prenant appui sur les données qui figurent dans ce mémoire, nous pensons que :

1^o La colimétrie n'offre qu'un intérêt médiocre dans le contrôle des laits crus et des laits pasteurisés livrés en bidons aux détaillants.

2^o La colimétrie présente au contraire un réel intérêt dans la recherche des contaminations des laits pasteurisés à l'usine et elle offre une méthode de choix au contrôle des laits pasteurisés du type « certifié ».

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] U. DI. AICHELBURG (1934). *G. Batt. Immun.*, 12, p. 481.
- [2] D. A. BARDSLEY (1934). *Journal Hyg.*, Camb., p. 34-38.
- [3] BERGEY'S. *Manual of determinative Bacteriology*. Editeur : The Williams & Wilkins Co., Baltimore, M. D. U. S. A.
- [4] H. J. O'D. BURKE-GAFFNEY (1932). *Journal Hyg.*, Camb., p. 32-85.
- [5] C. H. CHALMERS (1928). *Journal Hyg.*, 27, 295.
- [6] JOHN W. CHURCHMAN (1912). *Journ. Exper. Med.*, 16, 221.
- [7] W. M. CLARK et W. A. LUBS (1915). *Journ. Infect. Dis.*, 17, 160.
- [8] J. CRUICKSHANK et R. CRUICKSHANK (1931). *A system of Bacteriology. Med. Res. Council*, London, vol. 8, p. 353.
- [9] K. J. DEMETER (1934). *Bacteriologische Untersuchungsmethoden von Milk*, 696.

- [10] H. G. DUNHAM et H. W. SCHOENLEIN (1926). *Stain. Tech.*, 1, 129.
- [11] S. ENDO (1903-1904). *Centrbl. f. Bakt.*, Abt. I, 35, p. 109.
- [12] J. D. A. GRAY (1932). *Journ. Hyg., Cam.*, 32, 132.
- [13] G. GUITTONNEAU (1923). Les principes d'une technique rationnelle en industrie laitière. *Le Lait*, p. 669-782.
- [14] — (1937). Le problème actuel de la pasteurisation obligatoire des laits de consommation. *Bull. Centre Econ. de l'Alimentation*, n° 11, juin, p. 80 à 112.
- [15] — G. MOCQUOT et A. EYRARD (1937). Sur la microflore envahissante des laits de consommation, son origine et sa signification dans les contrôles hygiéniques. *Bull. Acad. de Médecine*, t. CXVIII, n° 39, p. 754.
- [16] —, — et — (1938). Choix d'un milieu de culture pour la numération des germes microbiens. *Le Lait*, t. XVIII, p. 225 à 233.
- [17] Ivan C. HALL et L. J. ELLEFSON (1918a). *Journ. Bact.*, 3, 329.
- [18] — et — (1918b). *Journ. Bact.*, 3, 353.
- [19] Daniel D. JACKSON (1906). Biological studies by the pupils of W. T. Sedgwick.
- [20] — (1907). *Journ. Inf. Dis.*, supplément n° 3, 30.
- [21] H. E. JORDAN (1927). *Journ. Amer. Water works Assoc.*, 18, 337.
- [22] M. A. KESSLER et J. C. SWENARTON (1927). *Journ. of Bact.*, 14, 47bis à 53.
- [23] E. K. KLINE (1930). Intern. Ass. Dairy and Milk Inspector, 19th Ann. Rep., p. 68.
- [24] P. M. KON (1933). *Journ. Dairy Res.*, 4, 206.
- [25] S. A. KOSER (1923). *Journ. Bact.*, 8, 493.
- [26] M. LEVINE (1921). Iowa engng. Exp. Stat., Bull. 62.
- [27] A. T. MACCONKEY (1900). *Lancet* ii, 20.
- [28] — (1901). *Zbl. Bakt.*, 29, 740.
- [29] — (1905). *Journ. Hyg., Camb.*, 5, 333.
- [30] — (1908). *Journ. Hyg., Camb.*, 8, 322.
- [31] M. H. MACCRADY et E. LANGEVIN (1932). *Journ. Dairy Sci.*, 15, 321.
- [32] J. F. MALCOLM (1933). *Journ. Dairy Res.*, 4, 91.
- [33] T. C. MUEER et R. L. HARRIS (1920). *Amer. Journ. Pub. Heal.*, 10, 874.
- [34] T. ORR (1908). Lep. on « Investigation as to the contamination of milk » county Hall, Beverley, Yorks.
- [35] J. L. PAWAN (1931). *Journ. Trop. Med. (Hyg.)* : 34, 229, 267, 288, 310, 317, 345, 360, 380, 391, 413.
- [36] L. A. ROGERS, W. M. CLARK et A. C. EVANS (1914). *Journ. Infect. Dis.*, 15, 99.
- [37] — — et B. J. DAVIS (1914). *Journ. Infect. Dis.*, 14, 411.
- [38] H. SIMONNET, G. GUITTONNEAU, G. MOCQUOT et A. EYRARD (1936). De l'influence de la pasteurisation à l'abri de l'air sur la valeur nutritive du lait. *C. R. Acad. des Sciences*, p. 1690.
- [39] — (1934). « Standard methods of milk analysis ». American Public health association. New-York and Ass. of Official Agr. chemists, Washington, D. C., p. 49.
- [40] — « Standard methods of water analysis ». American

Public health Association, New-York (éditions antérieures à la sixième).

- [41] (1936). Même recueil que ci-dessus, 8^e édition, p. 210.
- [42] C. N. STARK et C. W. ENGLAND (1935). *Journ. Bact.*, 29, 26.
- [43] — et L. R. CURTIS (1936). *Journ. Bact.*, 32, 375.
- [44] VOGES PROSKAUER (1898). *Zeitschr. Hyg.*, 28, 20.
- [45] G. S. WILSON (1935). « The bacteriological grading of milk », p. 153.
- [46] — (1935). « The bacteriological grading of milk », p. 174.
- [47] — (1935). « The Bacteriological grading of milk », p. 181.
- [48] — (1935). « The Bacteriological grading of milk », p. 183.
- [49] M. W. YALE (1933). *Journ. Dairy Science*, 16, 481.
- [50] V. ZAVAGLI (1933). *Z. Infektkr.*, Haustièr, 45, 110.

LE LAIT DANS QUELQUES-UNES DE SES FORMES D'UTILISATION

par le Dr JOSÉ MARIA ROSELL

Bactériologiste du Ministère de l'Agriculture de Québec.
Ancien professeur de Pathologie digestive et de la Nutrition,
à Barcelone (Espagne).

INTRODUCTION

Il paraîtra paradoxal et, pour le moins exagéré, de vouloir affirmer, comme nous le faisons ici, que le lait, le produit alimentaire, peut-être le premier qu'ait utilisé et connu l'homme, et en tout cas le premier que l'homme et les mammifères doivent utiliser pour former l'organisme après la naissance, et l'aliment sur lequel tant de louanges ont été répandues par les médecins et les profanes de toutes les époques, est un aliment, dont la raison de sa profonde importance pour la nutrition commence à être bien comprise et bien connue, seulement depuis l'époque moderne de la médecine et de la science de la nutrition et plus spécialement encore au cours des six ou sept dernières années.

En suivant les traités volumineux sur l'alimentation et la diététique, qui ont été publiés au cours des âges de la médecine, faisant référence en de longs chapitres à l'importance du lait pour l'alimentation de l'homme en état de santé et de maladie, et en feuilletant parmi les centaines de publications spéciales étudiant la valeur du lait et des produits dérivés du lait comme agent curatif ou thérapeutique, on pourrait être porté à croire qu'on ne peut plus découvrir de nouveaux faits scientifiques, montrant davantage, chaque année, la valeur du lait comme aliment et comme médicament.

Dans une des nombreuses publications des dernières années