LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

E. PIRAUX. — Titration des <i>B. Coli aerogenes</i> dans les laits	257
C. AGENJO CECILIA. — Le contrôle hygiénique du « lait concentré sucré »	271
M. GUIGOZ. — Le taux de la vitamine C du lait de vache et son importance dans l'alimentation infantile	279
L. HOTON. — La réglementation du lait malpropre	287
G. GÉNIN. — Une méthode rapide pour l'estimation des propriétés élastiques et plastiques de la caséine à la présure	291

Revue :

G. GÉNIN. — L'industrie laitière à l'Etranger	296
---	-----

Bibliographie analytique :

1 ^o Les livres	306
-------------------------------------	-----

2 ^o Journaux, Revues, Sociétés savantes	313
3 ^o Brevets	351

Bulletin bibliographique :

1 ^o Les livres	355
2 ^o Journaux, Revues, Sociétés savantes	357
3 ^o Brevets	363

Documents et informations :

M. BEAU. — La situation laitière	364
Fédération internationale de Laiterie	367
Législation étrangère. Suède	375
Progrès dans la technique de l'écémage centrifuge	378
Distribution scolaire de lait	382
La valeur nutritive du lait de brebis	383
Fabrication de la margarine au Danemark en 1938	384
Exportations de fromage du Danemark en Allemagne	384

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

TITRATION DES *B. COLI AEROGENES* DANS LES LAITS

par

E. PIRAUX

Assistant à la Station laitière de l'Etat, à Gembloux (Belgique).

La titration des *B. Coli aerogenes* dans le lait offre pour l'industrie laitière une importance considérable, soit qu'on la considère comme test de propreté et d'hygiène du lait, soit qu'on l'envisage dans les laits pasteurisés comme test d'appréciation des conditions de la pasteurisation, soit que, d'une façon générale, on vise à dépister un des grands ennemis de la qualité des produits laitiers.

En ce qui concerne l'hygiène du lait, le test du *B. Coli* est certainement pour les laits crus un des mieux indiqués si l'on veut appré-

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

cier le degré de propreté apporté dans la récolte, même s'il s'agit d'un lait filtré : le *B. Coli* provient surtout de pollution fécale ou de contamination par des récipients mal nettoyés ou mal égouttés.

C'est ainsi que LERNER [1] considère que le lait courant doit contenir moins de 10.000 *B. Coli* par centimètre cube, et le lait modèle, moins de 100, de même que le lait pasteurisé. Pour KLIMMER, HAUPT et BORCHERS [2] une teneur de 1.000 *B. Coli aerogenes* par centimètre cube de lait dénote un lait récolté dans de mauvaises conditions ; un lait de choix ne devrait pas contenir plus de 10 *B. Coli aerogenes* par centimètre cube. L'Association américaine des Commissions médicales du lait recommande pour le lait certifié une teneur de moins de 10 *B. Coli* par centimètre cube. SHERMAN et UPTON WING [3] disent également que l'on peut admettre pour des laits de première qualité, contenant moins de 10.000 germes par centimètre cube, une teneur en *B. Coli* inférieure à 100 germes par centimètre cube. Ces derniers auteurs font cependant remarquer, à juste titre, qu'il ne faut plus guère attacher de signification à la teneur en *B. Coli* de laits courants gardés pendant un certain temps à une température de 10 à 15°, étant donné que ces germes ont pu se développer très rapidement dans cette zone de température.

Dans le lait et les produits laitiers pasteurisés, on recherche parfois également le *B. Coli* pour contrôler l'efficacité de la pasteurisation, compte tenu de la durée et de la température de chauffage : le *B. Coli* est un peu plus résistant à la chaleur que les germes pathogènes que l'on rencontre le plus communément dans les laits, de sorte que la destruction du *B. Coli* peut donner un certain degré de garantie quant à l'innocuité du lait. Certaines souches de *B. Coli* seraient d'ailleurs elles-mêmes susceptibles de déterminer des troubles dans l'organisme. Du reste, comme le disent très justement PIEN et BACHIMONT [4], le contrôle de la qualité du travail et du bon fonctionnement des appareils doit toujours se faire par la recherche dans le lait pasteurisé d'un germe que la pasteurisation doit normalement détruire, qui soit en permanence et en abondance dans le lait cru, et dont la recherche soit facile, rapide et non ambiguë : le *B. Coli* remplit toutes ces conditions.

Ce test du *B. Coli* pour l'appréciation des conditions de pasteurisation du lait n'est pas admis par tous les spécialistes ; certains le trouvent trop rigoureux, en ce sens que pour le *B. Coli*, tout comme pour les autres germes non sporulants, il existe certaines souches sensiblement plus « thermorésistantes » que la majorité des souches de l'espèce, et que les conditions de leur destruction dépasseraient sensiblement les conditions de température et de durée communément admises pour la pasteurisation. Du fait de cette

variation de résistance, à la chaleur, des diverses souches, la recherche du *B. Coli* dans les laits pasteurisés doit se faire sur un assez grand volume de lait, car l'absence dans un centimètre cube, n'exclut pas la présence dans 10 ou dans 100 cm³.

D'ailleurs, toute autre considération étant mise à part, la destruction du *B. Coli* dans les produits pasteurisés doit être contrôlée si l'on veut éviter des mécomptes dans la qualité et la faculté de conservation des produits laitiers. Les *B. Coli aerogenes* sont à redouter en beurrerie comme agents de fermentations secondaires portant tant sur les produits hydrocarbonés (fermentations gazeuses), que sur les protéines (protéolyse due au *B. Coli*) et même sur les matières grasses d'après HENNEBERG [5]. Ils produisent dans le beurre les défauts bien connus du goût de navet, goût de betterave, goût de chlore, goût d'étable, etc. D'après HAMMER et YALE [6], ce seraient les *Aerobacter* et non les *Escherichia* qui seraient particulièrement à redouter comme agents altérateurs de l'odeur et du goût du beurre. Enfin, les *B. Coli aerogenes* sont à redouter davantage encore en fromagerie, particulièrement dans la fabrication des pâtes dures, car ils sont les agents du gonflement sous presse.

B. Coli ou *B. Coli-Aerogenes* ?

Suivant le point de vue auquel on se place, il faudra rechercher dans la titration, uniquement les *B. Coli* ou les germes de l'ensemble du groupe *B. Coli aerogenes* (Coliformes).

Le *B. Coli* est d'origine fécale. Les *B. aerogenes* peuvent être d'origine fécale, mais sont souvent en provenance des aliments, car ils se rencontrent sur les plantes.

Pour apprécier les soins de propreté apportés à la récolte du lait, la titration pourrait consister en une titration du *B. Coli*, proprement dit.

Lorsqu'on recherche l'origine de certains défauts du lait, il faudra souvent considérer l'ensemble du groupe *B. Coli aerogenes* : c'est ainsi que, d'après CURTIS [7], le lait devient souvent visqueux sous l'action de *B. aerogenes*.

Pour le contrôle de la pasteurisation, le test qui pourrait, à la rigueur, pour le lait de consommation, se concevoir comme une titration du seul genre *B. Coli*, deviendra nécessairement la titration des *B. Coli aerogenes* lorsque les produits pasteurisés doivent subir des fermentations ultérieures comme en beurrerie ou en fromagerie où le genre *Aerogenes* peut être aussi redoutable que le *B. Coli* proprement dit.

Pour la même raison, en beurrerie et surtout en fromagerie, la valeur du lait cru s'appréciera du point de vue microbiologique surtout d'après le titre en *B. Coli aerogenes*.

Ce qui précède nous conduit donc à synthétiser rapidement les éléments de différenciation permettant éventuellement de subdiviser le groupe *Coli aerogenes*.

Caractères différentiels des genres *Coli* et *Aerogenes*

BERGEY [8] prend comme principal élément de différenciation entre les genres *Escherichia (Coli)* et *Aerobacter (Aerogenes)*, la production par ces derniers d'acétylméthylcarbinol.

CHALMERS [9] dresse le tableau sommaire, suivant, des caractères différentiels de quelques types courants de ces deux genres :

Genres et espèces	Fermentation en						Réactions de		
	Lac-tose	Sac-charose	Salicine	Adonite	Dulcité	Milieu de Koser	Indol	Voges-Proskauer	Méthyl rouge
<i>Escherichia (Coli)</i> :									
<i>B. Coli</i>	a. g.	—	a. g.	—	a. g.	—	+	—	+
<i>B. acidilactici</i> .	a. g.	—	—	a. g.	a. g.	—	+	—	+
<i>B. communior</i> .	a. g.	a. g.	a. g.	—	a. g.	—	+	—	+
<i>B. symbiotica</i> .	a. g.	a. g.	a. g.	—	a. g.	—	—	—	+
<i>B. neopolitanus</i>	a. g.	a. g.	a. g.	—	a. g.		+	—	+
<i>Aerobacter</i> :									
<i>B. aerogenes</i> . .	a. g.	a. g.		a. g.	—	+	—	+	—
<i>B. oxytocum</i> . . .	a. g.	a. g.		a. g.	a. g.		+	+	—
<i>B. cloacae</i>	a. g.	a. g.	—	—	—		+	+	—

Le signe + indique une réaction positive. Le signe — indique une réaction négative — a. g. indique production d'acide et de gaz.

Comme caractères différentiels assez marqués entre le genre *Coli* et le genre *Aerogenes*, il importe donc surtout de retenir les tests de Voges-Proskauer (production d'acétylméthylcarbinol), du méthyl rouge (réaction acide au rouge de méthyle après 3 à 5 jours de fermentation en milieu glucosé tamponné par un phosphate alcalin), le développement en milieu de Koser (milieu minéral où il n'y a comme élément hydrocarboné qu'un citrate) et la réaction de l'indol.

A l'aide de ces quatre tests dans l'ordre ci-après : indol, méthyl rouge, Voges-Proskauer, Koser, on peut avec DEMETER et SAUER [10] caractériser les *B. Coli* typiques d'une façon générale par les signes ++—, et les *B. aerogenes* typiques par les signes ——++.

Malheureusement, ce processus de différenciation exige l'isole-

ment sur plaque à l'état de culture pure, ce qui ne peut s'envisager dans un contrôle et reste même alors assez aléatoire, car, à côté des *B. Coli* et des *B. aerogenes* typiques, il existe des espèces atypiques, se comportant d'une façon variable à l'épreuve des quatre réactions.

Si l'on désire, pour la rapidité du contrôle, n'avoir recours qu'à un test, il semble à première vue que le test du méthyl rouge pourrait donner une présomption suffisante. Malheureusement, le test de méthyl rouge devrait se faire également sur une culture pure : pour peu que les ferments lactiques soient parvenus à se multiplier, l'acidification peut être due à leur intervention. Le test de Voges-Proskauer serait assez risqué également s'il n'y a pas eu isolement préalable.

La production de l'indol en eau peptonée ou en bouillon trypsiné est encore considérée comme le critère le plus pratique permettant de différencier *B. Coli* et *B. aerogenes*. Seuls quelques germes banaux, comme le *Proteus vulgaris* et quelques germes pathogènes (Vibrien cholérique) sont également susceptibles de produire de l'indol. Cependant ces pathogènes sont extrêmement rares dans le lait et l'intervention du *Proteus vulgaris* peut être évitée par l'addition au milieu de culture, d'une dose de 1 à 1,2 pour mille d'acide phénique.

Sans doute, quelques types d'*Aerobacter* donnent également la réaction de l'indol (*B. oxytocolum*, *B. cloacae*). Cependant, ces germes étant également souvent d'origine fécale, il n'y a pas d'inconvénients pratiques bien conséquents à les confondre avec le genre *B. Coli*.

Il serait à remarquer que l'on pourrait aussi trouver un élément de différenciation entre les genres *B. Coli* et *B. aerogenes* dans les proportions respectives d'hydrogène et d'anhydride carbonique produits au cours de la fermentation gazeuse. D'après DEMETER et SAUER [10], le rapport H_2/CO_2 est pour le *B. Coli communis* de 2/1 et pour l'*Aerogenes* de 1/1, voire même de 1/2 d'après BERGEY [8], et pour le *B. cloacae* de 1/2 à 1/3. Cependant, cette détermination ne peut être retenue non plus comme pouvant constituer une pratique du contrôle courant.

Difficultés auxquelles on se heurte dans la recherche des *B. Coli-Aerogenes* dans le lait

Pour composer un milieu assez sélectif pour les *B. Coli aerogenes*, on peut, d'une part, tenir compte du peu d'exigence des individus de ce groupe quant à la source de leur alimentation azotée, ou, plus souvent, on se basera sur leur remarquable résistance à l'action de divers antiseptiques susceptibles d'entraver, ou, du moins, de

10 en 10, un tableau récapitulatif permettant de conclure à la présence ou à l'absence du *B. Coli* dans l'une des dilutions suivant le pourcentage total de tubes accusant un développement, sans s'inquiéter de la catégorie de la dilution à laquelle ils appartiennent.

Certains auteurs, PIEN et BACHIMONT [4], de même que DEMETER [13] titrent le *B. Coli* par ensemencement en eau peptonée ou en bouillon trypsiné avec recherche de l'indol. La chose est peut-être assez rationnelle lorsqu'on envisage uniquement le *B. Coli*. Cependant, fréquemment, la titration du *B. Coli* devant se comprendre comme une titration de *B. Coli aerogenes*, le procédé n'est d'application que dans certains cas.

Cette méthode de recherche en eau peptonée est d'ailleurs assez dispendieuse, le volume de lait ensemencé ne devant représenter que 1 à 2% au maximum du volume de l'eau peptonée. Le lactose, par son pouvoir acidifiant, entrave en effet la formation d'indol, de sorte que pour un ensemencement de 1 cm³ seulement, cas courant dans les laits très propres ou dans les laits pasteurisés, il faudrait 100 centimètres cubes d'eau peptonée : il faudrait donc renoncer pratiquement à ensemencer des volumes plus grands de lait, chose nécessaire pourtant dans le cas de laits pasteurisés. C'est pour parer à ce grave défaut de la méthode, que PIEN et BACHIMONT [4] recommandent une incubation préalable du lait pendant 8 heures à 37°.

Nos essais de colimétrie. — Milieux liquides essayés sans succès

Parmi les milieux liquides sucrés, les milieux additionnés de cristal violet et surtout les milieux additionnés de bile ou de sels biliaires et de cristal violet, de violet de gentiane ou de vert brillant donnent d'excellents résultats, bien que ces antiseptiques puissent éventuellement paralyser le développement de certaines souches co iformes.

J'ai essayé de substituer à l'action de ces antiseptiques, la phénolphthaléine, l'Entozon (dérivé de l'acridine) employé en thérapeutique vétérinaire dans le traitement des mammites streptococciques et l'acide phénique. Des essais ont également été faits avec des milieux à base de matières fécales d'origine chevaline ou bovine. Aucun résultat ne mérite d'être retenu.

La fermentation en lait additionné d'antiseptique comme technique d'enrichissement et test présomptif du *B. Coli*

Puisqu'il s'agit de contrôle en laiterie, le milieu le plus pratique et le plus courant est encore le lait lui-même. Le *B. Coli* n'est d'ailleurs le plus souvent à redouter que dans la mesure où il peut y manifester rapidement et fortement son activité.

Pensant à l'essai de fermentation, essai courant en fromagerie, je me suis demandé s'il n'y avait pas moyen d'en tirer parti pour effectuer en colimétrie un test présomptif.

Dans le lait, le dégagement de gaz se marque très bien par la production de bulles de gaz dans le caillé (trous, déchirures, caillé spongieux) ou bulles de gaz en surface (mousse). Cet essai pourrait se faire sur des volumes très importants de lait, ce que l'on recherche parfois dans le contrôle de la pasteurisation.

Dans ce dernier cas, tout particulièrement, l'ensemencement, en milieux liquides sucrés, de grandes quantités de lait, offre de sérieuses difficultés de réalisation pratique et devient assez coûteux du fait que le volume du milieu doit représenter, en tous cas, 6 à 10 fois le volume d'ensemencement, à moins d'employer un milieu plus concentré, comme le milieu Dunham et Schoenlein concentré où il ne faut qu'une quantité de bouillon double de la quantité de lait, mais encore faut-il recourir alors aux tubes d'Einhorn.

On peut tourner la difficulté par une incubation préalable du lait à 37° pendant 8 heures, comme l'ont proposé PIEN et BACHMONT [4], ou par une incubation à la température ordinaire pendant 24 à 48 heures, comme l'ont fait GUITTONNEAU, MOCQUOT et EYARD [16].

Je propose à mon tour de poursuivre cette incubation à 37° et d'en faire un test présomptif du *B. Coli*, ce qui est de nature à simplifier sensiblement la technique.

Evidemment, il paraît à première vue assez téméraire d'employer le lait comme milieu de développement du *B. Coli* : le lait se prête à la multiplication du *B. Coli*, mais il se prête encore mieux à la multiplication des ferments lactiques, grands antagonistes du *B. Coli*.

Pour freiner la multiplication des ferments lactiques et leur activité, j'ajoute au lait un antiseptique. La dose d'antiseptique sera telle qu'elle permette de ralentir l'acidification du milieu, sans que l'on vise à inhiber tout développement de ferments lactiques, car, dans le lait, une dose d'antiseptique de nature à entraver complètement la multiplication des ferments lactiques risquerait fort d'agir également sur certaines souches de *B. Coli aerogenes*, ou, du moins, de paralyser leur action et de ralentir la marche du contrôle. D'ailleurs, certains ferments lactiques, surtout parmi les thermorésistants (laits pasteurisés) parviennent même à traverser les milieux artificiels les plus sélectifs. En général cependant, l'action des antiseptiques dans le lait est moins marquée que leur action dans les milieux liquides sucrés artificiels (action antitoxique du lait).

J'ai employé successivement comme antiseptiques : l'Entozon

précédemment cité, le cristal violet, la trypaflavine (chlorure de 3-6-diamino 10 méthylacridine), les sels biliaires additionnés de trypaflavine et le formiate de soude additionné de trypaflavine.

D'après les multiples essais que j'ai effectués tantôt sur des laits stérilisés ensemencés de doses massives de ferments lactiques susceptibles de se développer rapidement à 37° (100.000 par centimètre cube) et de faibles doses de *B. Coli* (1 à 2 par centimètre cube), tantôt sur des laits pasteurisés ou sur des laits crus, je puis proposer pour l'essai d'incubation du lait à 37°, comme épreuve présomptive de colimétrie, les concentrations ci-après de divers antiseptiques :

Trypaflavine : 1/200.000 à 1/100.000, soit 5 à 10 cm³ de solution aqueuse à 1 pour mille, par litre de lait.

Cristal violet : 1/20.000 à 1/10.000, soit 25 à 50 cm³ de solution aqueuse à 0,2 %, par litre de lait.

Entozon : 1/10.000 à 3/10.000, soit 10 à 30 cm³ de solution aqueuse à 1 %, par litre de lait.

Trypaflavine : 1/200.000 + sel biliaire (taurocholate ou glycocholate de soude) 1/1.000.

Cristal violet : 1/10.000 + sel biliaire 1/1.000.

Formiate de soude : 0,5 % + trypaflavine 1/200.000.

Parmi ces divers antiseptiques, l'Entozon offre le moins d'intérêt parce qu'il est le moins actif vis-à-vis des ferments lactiques. Le cristal violet donne, en général, de bons résultats, mais, d'après nos essais, c'est la trypaflavine qui mérite particulièrement de retenir l'attention. La concentration du lait en trypaflavine sera de l'ordre de 1/200.000 dans le cas de lait frais, et de 1/100.000 dans le cas de laits âgés, riches en germes, surtout s'ils sont déjà sensiblement acidifiés.

L'addition à ces antiseptiques, de sel biliaire, retarde quelque peu le développement de la fermentation, sans présenter aucun avantage bien marqué.

L'addition de formiate, grand élément tampon, peut exalter la production de gaz, mais retarde souvent de 24 heures la coagulation du lait et le développement gazeux, et, partant, ne paraît pas à conseiller.

Pratiquement, nous nous bornerons donc à l'emploi de la trypaflavine, à l'une des concentrations indiquées précédemment, suivant l'état du lait.

Dans la suite, nous avons également ajouté au lait à la trypaflavine, 10 cm³ par litre d'une solution aqueuse de rouge neutre à 0,5 %. Les *B. Coli aerogenes* réduisent le rouge neutre (virage au jaune canari). Il ne faut pas, cependant, se contenter d'une simple réduction du rouge neutre, mais il faut, en même temps, la fermenta-

1

2

3

4

5

6

La réaction dans ses diverses phases :

1. Etat initial.
2. Dégagement de gaz.
- 3 et 4. Phases de la décoloration.
- 5 et 6. Terme de la réaction.

3. Recouvrir d'une couche de 2 à 3 millimètres de paraffine stérile.

4. Réchauffer à 37° C. et mettre en incubation à cette température.

5. Vérifier s'il y a coagulation (1), développement gazeux et réduction du rouge neutre (virage au jaune partant du fond et se produisant généralement après la coagulation), après 24 et 48 heures.

Un essai donnant coagulation et développement de gaz en 48 heures, peut être continué jusqu'au lendemain, pour vérifier la réduction du rouge neutre. (Les fermentations gazeuses se développant dans la suite sont généralement dues à des sporulants.)

Pour les quantités de lait égales ou inférieures à 1 cm³, opérer des dilutions successives en eau physiologique, à raison de 1 cm³ de lait dans 9 cm³ d'eau physiologique ; 1 cm³ de la solution précédente dans 9 cm³ d'eau physiologique, etc. Ensemencer, du lait et de chaque dilution, 1 cm³ représentant donc 1 cm³, 0 cm³ 1, 0 cm³ 01, 0 cm³ 001, dans des tubes contenant 10 cm³ de lait stérile (2), additionné, avant stérilisation, de 0,5 % ou de 1 à 2 % (3) de solution aqueuse de trypaflavine à 1 pour mille, de rouge neutre et d'extrait de levure, aux doses précitées. Recouvrir d'une couche de paraffine stérile. Réchauffer et mettre en incubation à 37°, etc.

Si l'on veut procéder à une détermination assez rigoureuse, il faut ensemencer pour chaque quantité de lait ou pour chaque dilution, 2, 3 et même 5 tubes, afin d'éviter les erreurs dues à une mauvaise répartition des germes dans le liquide ensemencé.

Test de confirmation.

Dans le cas d'un contrôle courant, reprendre les tubes donnant un résultat positif et examiner au microscope, après coloration de Gram : on doit observer la présence de germes Gram négatifs, non sporulants, soit de petites bactéries de 0,5 μ . sur 1 à 3 μ . (*B. Coli*), soit de bactéries de 0,5 à 1 μ sur 1 à 2 μ . (*B. aerogenes*). Si l'on observe en même temps la présence de levures ou de sporulants, l'isolement sur plaque s'impose.

Au cas où l'on voudrait différencier les germes non indologènes (*B. aerogenes*) et les indologènes (*B. Coli*), il suffit d'ensemencer en eau peptonée phéniquée. Après 24 ou 48 heures d'incubation à 37°, rechercher l'indol à l'aide du réactif d'Ehrlich-Kovacs [4].

(1) Certaines souches de *B. Coli* ne coagulent cependant pas le lait ou le coagulent lentement. La coagulation n'est donc pas essentielle.

(2) Lait stérilisé à 110° pendant 12 à 15 minutes ou tyndallisé, ou chauffé à la vapeur à 100° pendant 30 minutes.

(3) 0,5 % pour les laits fraîchement pasteurisés, 1 % pour les laits en voie d'acidification et 2 % pour les laits fortement acides. Pour des doses d'ensemencement inférieures à 0 cm³ 01, on peut toujours se contenter de 0,5 % ou 1 %.

Une recherche rigoureuse des bactéries coliformes demanderait l'isolement sur plaque, à partir de l'essai en lait à la trypaflavine. Employer dans ce cas un milieu sélectif : milieu aux sels biliaires (Lacto-Violet Red Bile Agar de Difco), milieu d'Endo ou milieu de Lévine.

Résultats obtenus

Des laits pasteurisés, exempts de *B. Coli*, ont été ensemencés faiblement dans la proportion de 1 à 5 germes pour 10 cm³. L'application de la technique, préconisée pour la titration du *B. Coli*, nous a permis chaque fois de déceler la présence de celui-ci dans 10 cm³.

La technique a également été appliquée à la recherche des bactéries coliformes dans des échantillons, soit de laits pasteurisés (laits écrémés ou laits entiers), soit de crèmes pasteurisées. Il ne s'agit pas, il importe de le remarquer, d'échantillons de laits ou de crèmes destinés directement à la consommation, mais d'échantillons provenant du travail en buanderie.

Les recherches ont porté sur 77 échantillons de laits et sur 48 échantillons de crèmes. Nous avons trouvé dans les laits pasteurisés des bactéries coliformes dans 38 cas sur 77. Sur 36 cas, nous avons relevé 18 fois la présence d'indologènes, ce qui montre quelle proportion de bactéries coliformes on néglige en titrant le *B. Coli* dans le lait par la recherche de l'indol.

Dans les crèmes, nous avons relevé, dans 9 cas sur 48, la présence de bactéries coliformes. Dans 6 cas sur 6, nous avons affaire à des indologènes. Dans la plupart des cas, il y avait concordance avec les résultats fournis par les divers milieux de comparaison.

L'examen des résultats obtenus nous permet de déduire qu'il y a, en général, pour les crèmes et les laits pasteurisés prélevés à la sortie du pasteurisateur, une réelle concordance entre la présence de bactéries coliformes et la teneur en germes, concordance soulignée déjà par GUITTONNEAU, MOCQUOT et EYRARD [18]. Cela confirme l'intérêt offert par la colimétrie pour le contrôle de la pasteurisation pour autant que les échantillons sont pris à la sortie du pasteurisateur, en flacons stériles, donc en excluant toute possibilité de réinfection ultérieure.

La méthode de recherche des *B. Coli aerogenes* que nous préconisons permet également de fournir indirectement un autre élément d'appréciation sur l'efficacité de la pasteurisation.

Pour les produits dont la pasteurisation a été vraiment efficace, nous n'avons pas, en général, coagulation, du lait à la trypaflavine, dans les 48 heures.

Résumé

Nous soulignons l'intérêt qu'offre la colimétrie dans le lait

comme test de propreté du lait, comme test de la valeur industrielle du lait et surtout comme méthode de contrôle de la pasteurisation. Nous avons examiné, pour chaque cas, s'il importait de déterminer le *B. Coli* proprement dit ou les *B. Coli aerogenes*.

Après avoir apprécié la valeur respective des diverses méthodes en usage, nous proposons, pour la colimétrie dans le contrôle courant de la pasteurisation, une méthode basée sur le développement de fermentations gazeuses à 37°, en 48 heures, dans le lait pasteurisé, additionné de 1/200.000, ou de 1/100.000 de tryptaflavine, de rouge neutre et d'extrait de levure stériles, et recouvert d'une légère couche de paraffine stérile.

Pour les volumes égaux ou inférieurs à 1 cm³, la titration s'opère par ensemencement en lait additionné de tryptaflavine, de rouge neutre et d'extrait de levure, et stérilisé au préalable.

Le test de présomption sera suivi d'une coloration de Gram ; éventuellement, si on recherche les bactéries indologènes, d'un ensemencement en eau peptonée phéniquée, ou, dans le cas de déterminations rigoureuses, d'un ensemencement sur plaque.

La méthode a été appliquée en comparaison avec d'autres, pour la titration des *B. Coli aerogenes*, dans des laits pasteurisés, et pour la recherche des *B. Coli aerogenes*, dans des laits pasteurisés et dans des crèmes pasteurisées.

Les résultats confirment l'intérêt que peut offrir la technique préconisée pour la recherche des bactéries coliformes dans des volumes assez importants de lait et l'intérêt que présente la colimétrie dans le contrôle de la pasteurisation.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] LERNER. Méthode de titrage du *Coli* dans le lait, le babeurre et le fromage. *Le Lait*, 1935, p. 833.
- [2] KLIMMER, HAUPT, BORCHERS. Über das Vorkommen und die Bestimmung der *Coli*-und *Aerogenes*bakterien in der Milch. *Milchwirtschaftliche Forschungen*, 1930, n° 9, p. 236.
- [3] SHERMAN et Helen UPTON WING. The significance of colon bacteria in milk with special reference to standards. *Journal of Dairy Science*, 1933, XVI, p. 165.
- [4] PIEN et BACHIMONT. Sur la recherche du *Bacterium Coli* dans le lait. *Le Lait*, 1932, p. 903 et 1058 ; 1933, p. 346, 548 et 817.
- [5] HENNEBERG. Handbuch der Milchwirtschaft (Winkler), II : 2, p. 410.
- [6] HAMMER et YALE. Development of the *Escherichia aerobacter* Group of Bacteria in butter. *Journal of Dairy Science*, XV, 1932, p. 199.
- [7] CURTIS. The use of formiate ricinoleate broth in controlling and preventing ropy milk epidemics. *Journal of Dairy Science*, XX, 1937, p. 147.
- [8] BERGEY. Manual of determinative Bacteriology.
- [9] CHALMERS. Bacteria in relation to the milk supply, p. 63.

- [10] DEMETER et SAUER. Beiträge zur Kenntnis der *Coli aerogenes* Bakterien in Milch. *Milchwirtschaftliche Forschungen.*, 1934, 16, p. 236.
- [11] STARK et CURTIS. Critical study of some media used for detection of Colon-organisms in water and milk. *Journal Bact.*, 1935, 29, p. 27.
- [12] ZAPATERO. Le contrôle hygiénique du lait. *Le Lait*, 1936, p. 689.
- [13] DEMETER. Der Nachweis der *Coli aerogenes* Gruppe in Milch. *Milchwirtschaftliches Zentralblatt.*, 1929, p. 261-277-293.
- [14] MACCRADY. The numerical interpretation of fermentation tube results. *Journal Inf. Dis.*, 17, p. 183, 1915.
- [15] MATUSZEWSKI et SUPINSKA. Quantitative Auswertung des *Coli*-Titters. *Zentrbl. für Bakteriologie II*, 1937, 96, p. 369.
- [16] GUITONNEAU, MOCQUOT et EYRARD. Contrôle de la flore bactériologique des laits pendant la récolte, la pasteurisation, le transport et la vente. *Annales de l'Institut agronomique*, Paris, XXX, 1938, p. 5.
- [17] VASSILEFF. Recherche et numération du *Colibacille* dans le lait par la méthode du rouge neutre. *Le Lait*, 1932, 12, p. 181.
- [18] GUITONNEAU, MOCQUOT et 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. *Le Lait*, 1939, p. 113.
- [19] STARK et ENGLAND. Formate-ricinoleate broth, a new medium for the detection of colon organisms in water and milk. *Journal Bact.*, 1935, 29, p. 26.

LE CONTROLE HYGIENIQUE DU « LAIT CONCENTRÉ SUCRÉ »

par

C. AGENJO CECILIA,

Professeur agrégé à l'Ecole vétérinaire de Madrid.

Pendant la guerre d'Espagne, par suite de la disette du lait, on a consommé à Madrid de grosses quantités de lait concentré sucré, d'origine étrangère, présentant trop souvent des défauts et altérations ayant occasionné parfois des troubles gastro-intestinaux sur les adultes et surtout chez les enfants. Plus de 500 boîtes de ce lait ont été reconnues par moi et j'ai pu faire l'étude organoleptique, physique, chimique et microbiologique de 149 boîtes (1) dans les laboratoires de l'Ecole vétérinaire de Madrid.

I

Méthodes. — Toutes les boîtes ont été soumises à un contrôle en suivant le plan établi dans le tableau I. Les échantillons pour l'examen microbiologique ont été pris d'accord avec les indications

(1) Dans ce travail, j'ai seulement fait l'étude microbiologique et organoleptique de 121 boîtes.