- [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.

fournies par ESTY et STEVENSON [1] ; on a fait des dilutions au $1/5^e$ et j'ai suivi la technique de HUNZIKER [2] pour le comptage des germes vivants, et celle de SAVAGE et HUNWICKE [3] pour la recherche du sédiment.

La détermination de la nature des germes a été faite avec les méthodes qualitatives pour analyse bactériologique, conseillées

par HUNZIKER [4]. Pour l'étude des moisissures, nous avons utilisé comme milieux de culture l'eau de pomme de terre, la gélose dextrinée à 4%, la gélose à l'amidon soluble à 4% et surtout la gélose glucosée à 2% et la gélose au lacto-sérum, en ajoutant un centimètre cube d'une solution d'acide tartrique à 1% par plaque, et,

pour l'examen direct des moisissures, nous avons suivi la technique décrite par LANGERON [5].

II

Résultats sur la nature et l'origine des défauts du lait concentré sucré. — Tous ces résultats sont compris dans le tableau II, et c'est pour cela que je me bornerai à faire quelques commentaires sur les défauts étudiés.

La fermentation gazeuse du lait concentré sucré avec odeur de levure a été produite par des *torulas*, comme l'avaient démontré PETHYBRIDGE [6] et confirmé SÖNCKE KNUDSEN [7] et HISCOX [8]. Suivant nos recherches, le nombre de ces *torulas* peut atteindre un demi-million par gramme et appartenir aux deux types ovale et sphérique décrits par OLSON et HAMMER [9] comme *T. lactis condensii* et *T. globosa*. A l'égal de ces derniers auteurs, nous avons trouvé que *T. lactis condensii* était, de beaucoup, la plus nombreuse des *Torulas* cherchées. Nous ne sommes pas d'accord avec ORLA JENSEN [10] quand il dit : « It is more usual to find moulds on the surface of sweetened condensed milk than the two dangerous yeast », car nous avons trouvé la fermentation par des levures dans 43 cas.

L'épaississement et la solidification du lait concentré sucré peuvent être dus à des causes physiques, chimiques et bactériologiques, mais tous les cas étudiés ici présentaient aussi des anomalies dans la flore microbienne, et, souvent, un développement d'odeur et saveur de fromage. Dans ces boîtes, avec du lait condensé épaissi, j'ai trouvé de nombreux *cocci* qui ont atteint, dans deux cas, le chiffre de deux millions, et aussi bien des diplobacilles. Presque toujours, il s'agissait de coques isolés ou de diplocoques. Je n'ai eu, dans aucun cas, *B. subtilis* et *B. mesentericus* comme COOKSEY [11] et ANDREWS [12]. Assez fréquemment, j'ai pu rencontrer l'odeur de fromage sans épaississement du lait, mais alors, j'ai trouvé des grumeaux abondants dans sa masse. J'ai observé aussi à la surface du lait un épaississement et une odeur de fromage avec boursoufflement et de la fermentation gazeuse, mais, dans ce cas, j'ai trouvé toujours de nombreuses *torulas*.

Je pense que la coagulation d'origine bactérienne du lait condensé est due, tout simplement, à une augmentation du nombre des germes, car je n'ai trouvé aucune spécificité dans les microcoques étudiés et je n'ai pas pu, non plus, distinguer les variétés de microcoques décrites par DOWNS [13].

La fermentation avec odeur de fruits n'est pas toujours accompagnée d'épaississement, car j'ai trouvé que, dans 15 cas sur 20, le lait avec odeur de fruits avait une consistance normale ou même très fluide. Ce défaut du lait condensé peut être dû à des staphylo-

Nombre des boîtes	Examen externe		Examen des caractères internes					Acidité (1)	Sédiment	Examen bactériologique			Leuco-cytes	Observations
		Après 48 h. d'étuve	Odeur	Cou-leur	Goût	Visco-sité	Solubi-lité			Breed	Colonies	Nature des germes		
14	normales	bombage 5	rance	jaune brun	rance	épaississement		(6) 4'5-7% (8) 7-10%	très abondant	50-10.000	50-2.000	Oïdium Penicillium		<i>Pseudomonas fluorescens</i> dans 2 échantillons
5	normales	normales	huilage suiffage	normale	suiffeux	normale	variable	1-1'5%		500-2.000	50-100	Micro-coques		
43	21 bombage 12 succussion	bombage 43	levure alcoolique	plus pâle	levure	augmentée	variable	2-5%	très abondant	100.000 10 millions	10.000 2 millions	Torulas coques		
7	normales	bombage 3	aigrette	jaune brun	acide	très liquide	imparfaite	5'5-7'5%		250.000 500.000	50.000 200.000	Micro-coques Strepto-coques		Grumeaux (Lumps) trois boutons
20	6 bombage (7) succussion +	bombage 17	de fruits	plus pâle	de fruits	normale ou un peu augmentée	parfaite	5-6%	abondant	100.000 un million	500-100.000	Staphylo-coques Coques Levures	4 échantillons avec plus de 100000	4 échantillons très sucrés
29	3 bombage 12 succussion	bombage 25	de fromage	jaune ou brun	de fromage ou aigre	solide ou très épaisse	difficile	4-6%	très abondant dans 75% des échantil.	10.000 10 millions	5.000 2 millions	Diplo-bacilles Diplo-coques	2 échantillons avec plus de 500000	Grumeaux (Lumps)
5	2 succussion	Bombage 5	normale	chocolat	fari-neux	solide ou très épaisse	difficile	3-4%	très abondant	1.000 10.000	500 3.000	Bacilles sporulés		

(1) Pour avoir le pourcentage d'acidité, exprimée en acide lactique, par gramme du lait, il faut diviser par cinq les chiffres indiqués.

coques blancs que j'ai trouvés dans 4 cas, ou bien au staphylocoque *citréus* que j'ai déterminé dans un cas. Comme d'autres auteurs, j'ai observé des *cocci* isolés mais aussi des levures. Je ne partage pas les points de vue de DOWNS [14] et HUNZIKER [15] au sujet de l'influence décisive du taux de concentration du sucre sur la production de l'odeur de fruits, car j'ai trouvé ce défaut dans des laits très sucrés, et cela est sans doute dû à différentes espèces de germes et de levures qui sont capables de produire l'odeur de fruits.

Parmi les boîtes étudiées, j'ai remarqué 5 échantillons qui se sont bombés à l'étuve, et qui contenaient un lait de couleur chocolat, très épais, presque solide, et avec une flore très riche en bacilles sporulés, sans que j'aie pu déterminer leur spécificité. D'accord avec SAVAGE et HUNWICKE (3), je n'ai pas trouvé non plus de corrélation entre le nombre de germes et l'intensité de la coloration brune ou chocolat, du lait condensé.

Dans 7 boîtes de lait d'odeur et de saveur acide, même aigrette, et de consistance assez fluide, nous avons trouvé une forte quantité des germes « coques et bacilles », en nombre supérieur à cent mille, et avec une mauvaise distribution et séparation de la matière grasse du lait. Dans un échantillon de ces boîtes, nous avons eu trois beaux boutons gris parmi lesquels j'ai pu isoler un *aspergillus glaucus*. J'ai aussi trouvé cinq de ces boutons gris et deux de couleur terreuse dans des boîtes avec odeur de fromage. L'étude de ces boutons m'a permis de soupçonner que la cause en était les champignons du genre *Aspergillus*, en confirmant, une fois de plus, les recherches faites auparavant.

Quant à la rancissure du lait concentré sucré, je l'ai trouvée dans 14 échantillons qui accusaient une forte acidité et parmi lesquels j'ai pu isoler des champignons des genres *Penicillium* et *Oidium* et le *Bacterium fluorescens liquefaciens*. RICE [16] dit que les microbes ne sont pas la cause de ce défaut, mais il me semble que le défaut que cet auteur décrit comme « lait rance » est plutôt le « suiffage ».

J'ai étudié 5 cas de suiffage que je différencie nettement du rancissement, parce que, dans le premier, il n'y a pas d'augmentation de la viscosité, ni d'altération de la flore microbienne si riche en moisissures dans le lait rance, ni de la modification de la couleur et non plus de son acidité qui n'arrive pas à 3%. Mais, laissant ces données, l'analyse chimique (le dosage du cuivre est fondamental) peut aider au dépistage du suiffage. Les causes et le développement de ce défaut du lait concentré sont semblables à celles que j'ai étudiées largement dans le lait pasteurisé d'une grande coopérative laitière de Madrid en 1933-1935 [17].

III

Numération microbienne. — Au cours de mes recherches, je me suis efforcé de déterminer aussi exactement que possible le nombre des microbes, levures et moisissures du lait condensé. Parmi les boîtes étudiées, les dénombrements des organismes peuvent s'établir comme suit :

Plaques : 10 % des échantillons ont présenté moins de 100 colonies par gramme ; 13 % de 100 à 500 ; 20 % de 500 à 1.000 ; 22 % de 1.000 à 10.000 ; 19 % de 10.000 à 100.000 ; 9 % de 100.000 à 500.000 ; 5 % de 500.000 à 1.000.000 et 2 % de 1 million à 2 millions. Les chiffres maximum et minimum ont été ceux de 30 et 2.300.000 colonies par gramme.

Breed : 25 % ont présenté de 10.000 à 100.000 ; 40 % de 100.000 à 500.000 ; 28 % de 500.000 à 1 million ; et le reste plus de 1 million.

Comme il est facile de le constater, ces chiffres sont de beaucoup supérieurs à ceux établis par HAMMER [18], qui, en rappelant les travaux des chercheurs, dit que le nombre des organismes peut varier entre 100 et 1.000 par gramme. Pour HEGGS [19], le comptage sur gélatine oscille entre 230 et 70.940 ; pour HAARNAGEL [20], le taux microbien de 48 échantillons se trouve entre 0 et 24.200 germes, et, pour GEHRI [21], les variations du nombre des organismes ont été très minimes et elles ont atteint un maximum de 9.000 cellules par gramme. Plus récemment, PRELOMOW [22] a donné les chiffres suivants : 82 % des échantillons avec 100 à 1.000 microbes par gramme ; 15,8 % avec 1.000 à 10.000 ; et 2 % avec 10.000 à 50.000. Dans aucun cas, PRELOMOW n'a trouvé plus de 50.000 microbes par gramme.

Par contre, d'autres auteurs ont effectué des dénombrements beaucoup plus élevés ; c'est ainsi que SCHROEDER et BARTHOLOW [23] donnent les résultats de 85 échantillons dont le taux des organismes peut varier entre 5 et 8.000.000. Aussi, SAVAGE et HUNWICKEN [3] citent les chiffres de 400.000 et 460.000 par gramme.

Cependant, je fais remarquer que mes dénombrements ont été établis sur des échantillons defectueux ou altérés. Suivant SAVAGE et d'autres auteurs, je dois condamner ces comptages si élevés, qu'on ne peut pas justifier, puisque, quand on part d'un lait hygiénique et quand on fait sa concentration convenablement, on produit un lait presque stérile ou avec moins de 1.000 germes par gramme. Tout cela nous prouve que c'est une grosse erreur de se livrer exclusivement à l'analyse chimique lors du contrôle du lait condensé ; malheureusement, cela se produit dans beaucoup de pays, puisque, comme j'aurai l'occasion de le démontrer dans un autre travail, la composition du lait concentré sucré est beaucoup plus uniforme pour chaque marque que le taux microbien.

Mes recherches sur la colimétrie du lait condensé se sont limitées, comme je l'ai dit plus haut, à l'ensemencement des dilutions de lait en eau peptonée et à la recherche de l'indol après 24 heures par le procédé d'Ehrlich. J'ai ainsi étendu au lait condensé la méthode préconisée par LERNER [24] pour le lait, le beurre et le fromage, et, tout en suivant cette méthode, j'ai eu, dans trois cas sur cinquante, une réaction indol positive dans la dilution à 1/100.000^e. Je n'ignore pas que cette façon de faire puisse soulever certaines objections, mais elle me semble suffisante pour nous faire soupçonner la présence de colibacilles dans le lait concentré sucré.

L'examen du sédiment, obtenu après centrifugation des dilutions mères, m'a donné l'occasion d'étudier les leucocytes. Dans sept cas sur cent, j'ai pu compter plus de 10.000 leucocytes par centimètre cube et, dans deux cas, les chiffres dépassaient 500.000.

Le lait concentré sucré altéré peut provoquer des troubles gastro-intestinaux chez les personnes. A plusieurs reprises, des cas m'ont été signalés, et j'ai constaté que ces cas étaient presque toujours dus à des boîtes avec épaississement et odeur de fromage.

IV

Conclusions. — Les conclusions de mes études sur le lait concentré sucré m'ont permis d'établir les données suivantes pour l'inspecteur des denrées alimentaires :

1^o L'examen externe des boîtes de lait condensé doit être basé sur l'épreuve de l'agitation et sur l'appréciation du bombement avant et après les 48 heures à l'étuve. L'incubation à l'étuve m'a donné de très bons résultats et c'est un bon moyen pour le dépistage des boîtes anormales.

2^o La recherche de l'acidité est aussi très utile et doit être employée pour distinguer les laits défectueux (épaississement physique) des laits altérés (épaississement bactériologique), et toute acidité supérieure à 1% (1) doit être considérée comme suspecte.

3^o Le comptage des germes doit être pratiqué aussi par l'inspecteur qui doit rejeter de la consommation tout lait dont le taux microbien dépasse 10.000 germes par gramme, calculés par la méthode des plaques, ou 50.000 s'il suit le procédé de Breed. A cet égard, le lait condensé doit être considéré tout au moins comme du lait pasteurisé.

4^o L'examen du sédiment après dilution et centrifugation du lait condensé est aussi à conseiller pour dépister les leucocytes et les streptocoques.

(1) Par gramme du lait condensé.

Les conclusions de toutes les études que j'ai faites se réfèrent non seulement à l'éclaircissement des points relatifs aux causes, au développement et à la présentation des défauts du lait condensé, mais elles tendent surtout à faire remarquer que :

1° Il est fabriqué, dans la plupart des pays, d'énormes quantités de lait condensé en de mauvaises conditions hygiéniques, comme il peut être démontré par mes analyses qui ont porté sur dix-neuf marques.

2° Il faut insister sur la nécessité de faire, comme je l'ai dit, il y a quelque temps, dans l'ouvrage [25] « La inspeccion veterinaria debe recaer especialmente, sobre la leche empleada como primera materia la limpieza de los aparatos, las temperaturas de pasteurizacion y esterilizacion, los botes o envases y sobre la bacteriologia del azucar empleada. Hay que evitar en la preparacion de la leche condensada el empleo de primeras materias (leche, azúcar, etc.), alteradas o defectuosas » (1). Sur ces points, GILTNER [26] a insisté, plus récemment, en faisant remarquer : « There is evidence that milk of low grade, rejected by the more fastidious purchasers or excluded by legal restrictions, finds its way into some of the condenseries. There is need for more supervision of the milk supply of the condenseries. » (2)

3° Il convient d'établir une méthode standard internationale pour le contrôle hygiénique du lait concentré sucré.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *J. Inf. Dis.*, 1925, 36, p. 486-500.
- [2] *Condensed Milk*, 4^e éd., p. 584.
- [3] *Studies in Sweetened Condensed Milk. Food, Insp. Bd., Spec. Rept.*, 13.
- [4] *Loc. cit.* (2), p. 586.
- [5] *Précis de Microscopie*, 5^e éd.
- [6] *The Economic Proc. Roy. Dub. Societ.*, 1906, 1, p. 306-320.
- [7] Cit. HAMMER, *Dairy Bacteriology*, 2^e éd., p. 280.
- [8] *Ann. of Appl. Biol. (Le Lait*, 680; 1927).
- [9] *Journ. Dy. Sc.*, 1935, 18, p. 474-475.
- [10] *Dairy Bacteriology*, 2^e éd. (London), p. 95.
- [11] Cit. (2), p. 352.

(1) L'inspection vétérinaire doit porter spécialement sur le lait employé comme matière première, sur la propreté des appareils, sur les températures de pasteurisation et de stérilisation, sur les récipients et sur la bactériologie du sucre employé. Il faut éviter dans la préparation du lait condensé l'emploi de matières premières (lait, sucre, etc.) altérées ou défectueuses.

(2) Il est prouvé que le lait de basse qualité, refusé par les acheteurs plus difficiles ou exclu par des restrictions légales, trouve son emploi dans certaines condenseries. Il est nécessaire de surveiller davantage l'approvisionnement en lait des condenseries.

- [12] *Journ. Path. and Bact.*, 1913, 18, p. 169.
- [13] *Jour. Dy. Sc.*, 1925, 8, p. 344-369.
- [14] *Jour. Dy. Sc.*, 1923, 6, p. 532.
- [15] *Loc. cit.* (2), p. 356.
- [16] *Jour. Dy. Sc.*, 1926, 9, p. 459.
- [17] *Carne y Leche*, 1935, p. 462-469.
- [18] *Loc. cit.* (7), p. 278.
- [19] *Cit.* (3), 1906.
- [20] *Rev. in Abst. Bact.*, 1924, 8, p. 317.
- [21] *Mitt. Lebensm. Hyg.*, 1928, 19, p. 89-101.
- [22] *Ref. Zentralb. f. Bakt.*, 1936-37, 95.
- [23] *N.-Y. Med. J.*, 1915, 102, p. 1073-1083.
- [24] *Le Lait*, 1935, 15, p. 833.
- [25] *Inspeccion Veterinaria-Sanz Egana*, 1935, p. 756.
- [26] *XIII Internationaler Tierärztlicher Kongress*, 1938, p. 1144.

LE TAUX DE LA VITAMINE C DU LAIT DE VACHE ET SON IMPORTANCE DANS L'ALIMENTATION INFANTILE

par

MAURICE GUIGOZ

La question des vitamines en pratique alimentaire est depuis longtemps déjà, malheureusement, sortie du domaine purement médical. Le public s'en est emparé avec une précipitation qui n'est pas sans inconvénients. A la religion des microbes a succédé la religion des vitamines. De là sont venus bien des abus regrettables. Récemment, certains auteurs ont, avec raison, relevé les exagérations auxquelles on aboutissait. « Il existe déjà du pain vitaminé, du chocolat vitaminé, des pâtes dentifrices vitaminées, des farines vitaminées, des laits vitaminés, des lotions capillaires vitaminées, des bonbons vitaminés, des caramels vitaminés, des savons vitaminés, une religion des vitamines (HOTTINGER). »

Il est évident que ce problème devait prendre une importance plus grande encore en alimentation infantile. Car, si l'adulte peut, à tout moment, varier son alimentation pour remédier au déséquilibre qu'il constate (ou croit constater), l'enfant, jusqu'à six mois au moins, ne relève que d'une alimentation unique : le lait. L'on étudia donc très vite la richesse du lait en vitamines. Si l'on admit de suite que les quantités des facteurs B1, B2, B3, A, étaient largement suffisantes, le facteur D ne se trouvait que dans le lait d'été, et très peu. Restait le problème de la vitamine C, qui n'est pas encore résolu. Afin, cependant, de parer à tout danger, on conseilla l'adjonction au régime de l'enfant de quelques centimètres cubes de