LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

J. PIEN. — Sur l'utilisation de la chloropicrine en laiterie 1

R. BUTIAUX et Raymonde BROGNIART. — Techniques d'isolement des staphylocoques pathogènes. Identification des staphylocoques entérotoxiques 21

Jeanne BOISSELOT et J. CAUSERET. — Recherches expérimentales sur le lait actinisé. I. Influence de l'actinisation sur la teneur du lait en vitamine C antiscorbutique. 26

Bibliographie analytique :

1^o Les livres 33

2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 41

Bulletin bibliographique :

Journaux, Revues, Sociétés savantes 75

Supplément technique :

G. GÉNIN. — Les combinaisons de caséine et d'acides gras supérieurs. Leur emploi dans la poudre à souder 85

BULLETIN ANALYTIQUE :

1^o Revues 94

2^o Brevets 98

Documents et informations :

G. GÉNIN. — L'industrie laitière dans le monde . . . 102

Le procédé de vacréation . . 109

L'effectif du bétail au Royaume-Uni 111

Communiqués 11

Erratum 112

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

SUR L'UTILISATION DE LA CHLOROPICRINE EN LAITERIE

par

JEAN PIEN

Ingénieur Chimiste. Docteur ès Sciences

Directeur des Laboratoires de la Laiterie des Fermiers Réunis

L'emploi des antiseptiques pour la conservation du lait intéresse la santé publique et le ravitaillement général des populations ; il révèle, en même temps, d'importantes incidences commerciales.

Théoriquement, nous soutenons avec force que l'emploi officiel d'un antiseptique aurait pour effets de perpétuer et d'encourager une production défectueuse, de tromper le consommateur, et de nuire au progrès réel que les hygiénistes réclament et que de nombreux industriels poursuivent.

Néanmoins, l'étude scientifique et expérimentale d'un tel procédé de conservation du lait présentait objectivement un très grand intérêt.

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

C'est pourquoi nous avons jugé utile de publier ici, dans cette Revue impartiale uniquement dévouée au bien public, sans aucune considération pour divers intérêts privés, le remarquable Rapport de notre éminent collaborateur Jean PIEN.

Ce Rapport constitue, dans le domaine pratique, une mise au point de la question de la chloropierine (microlysine du Professeur Gabriel BERTRAND) vis-à-vis du lait de consommation en nature ; il apporte la condamnation de son emploi en aboutissant à la même conclusion que celle (1-2) à laquelle parvenait le Professeur LEMOIGNE après l'étude d'un procédé de conservation par l'oxygène (procédé Wiser) :

« Ce procédé serait parfois efficace quand il est inutile et toujours inefficace quand il pourrait devenir utile. »

G. THIEULIN.

* * *

L'idée d'utiliser le trichloronitrométhane, ou chloropierine, en vue d'assurer la conservation des liquides fermentescibles et notamment du lait, est due à M. le Professeur Gabriel BERTRAND qui l'a exposée dans une note à l'Académie des Sciences (séance du 28 août 1944, *C. R. A. S.*, t. CCXIX, page 230).

Cette idée, soumise à l'appréciation de l'Académie de Médecine, a fait l'objet d'un avis favorable au cours de la séance du 22 mai 1945 sur le rapport de M. TANON dont voici un extrait : « M. TANON, rapporteur, au nom des Commissions du Lait et de l'Alimentation, propose à l'Académie de donner un avis favorable à l'emploi d'un procédé décrit par M. G. BERTRAND et qui permet d'éviter la tourne du lait pendant les grandes chaleurs ; il consiste à ajouter au lait 1/10.000 de microlysine ou chloropierine ; le lait conserve ses propriétés nutritives et ses vitamines ; aucun effet nocif n'a été observé chez les animaux. Le lait ainsi traité ne sera donné qu'aux adultes et aux J. ; il est recommandé de le faire bouillir pour éliminer toute trace de produit. L'autorisation ne sera consentie qu'exceptionnellement et temporairement. » Au cours de la discussion qui a suivi la lecture de ce rapport, M. MARTEL a insisté « pour que cette addition, imposée par les circonstances qui ne permettent pas d'avoir du lait propre ne soit que temporaire ; des produits en apparence inoffensifs peuvent devenir dangereux à la longue ». Le compte rendu de la séance mentionne ensuite : « Les conclusions sont adoptées. »

L'Académie de Médecine ayant ainsi donné son accord pour une utilisation temporaire de la chloropierine (et le Conseil Supérieur d'Hygiène de France consulté, ayant également émis un avis favorable) il fut décidé de procéder à des essais de traitement du lait à l'échelle industrielle avec mise en vente dans le public.

C'est le compte rendu de ces essais qui fait l'objet de la présente note.

(1) Lemoigne. Sur la stabilisation des laits pasteurisés par insufflation d'oxygène *C. R. Académie Agr.*, séance du 17 octobre 1945.

(2) G. Thieulin. De l'emploi de l'oxygène pour la conservation du lait. *L'Hygiène sociale*, 1946, n° 6, 84.

Les conditions dans lesquelles notre intervention s'est manifestée dans cette étude lui confèrent son caractère particulier que certains regretteront peut-être : il ne s'agit pas d'un travail de science pure, mais d'essais à caractère industriel. Ce qui sera ainsi perdu en attrait théorique sera peut-être, du moins nous l'espérons, regagné en intérêt pratique et utilitaire.

* * *

PREMIÈRE PARTIE

MICROLYSATION (1) DES LAITS CRUS REÇUS DANS LES USINES

Avant toute autre question il s'agissait, suivant les instructions reçues, de traiter par simple addition de chloropicroïne le lait cru reçu dans les usines de province, de l'envoyer à Paris et de le mettre en vente dans les mêmes conditions que le lait pasteurisé ordinaire. Le lait cru microlysé ne devait subir aucun autre traitement qu'une simple filtration et ne devait, notamment, être ni pasteurisé, ni réfrigéré.

Le problème précis qu'il s'agissait de résoudre était donc le suivant : le lait cru microlysé se conserve-t-il mieux que le lait traité par les méthodes classiques ? Cette technique permet-elle de supprimer la « tourne » du lait ?

I. Conduite des essais

Selon M. le Professeur BERTRAND les quantités de chloropicroïne à utiliser devaient être de l'ordre de 50 à 100 mgr. par litre. Cette incorporation ne peut pas se faire par mélange pur et simple, la chloropicroïne n'étant pas miscible à l'eau où elle est peu et difficilement soluble (2). La dissolution exige une agitation violente et prolongée pendant plusieurs minutes. Pour éviter le recours à cette technique inapplicable industriellement, M. le Professeur BERTRAND nous a suggéré de préparer une solution relativement concentrée de chloropicroïne dans une partie du lait (solution vingt fois plus forte dans la vingtième partie du lait à traiter, soit ici, pour aboutir à 50 mgr. par litre : 1 gr. de chloropicroïne dissous d'abord dans un litre de lait, cette solution étant ensuite diluée dans 20 litres de lait).

Comme nous avons projeté de traiter 400 litres de lait par opé-

(1) Suivant la suggestion de M. le Professeur Bertrand nous désignons sous le nom de « microlysis » l'opération qui consiste à introduire de la chloropicroïne (microlysine) dans le lait.

(2) Nos essais systématiques nous ont permis de fixer à 2 gr. 4 la limite de solubilité de la chloropicroïne pure par litre d'eau distillée à 20°.

ration, notre « solution forte » de 20 litres devrait contenir 20 gr. de chloropierine (1) qu'il fallait y dissoudre au prix d'une agitation violente de 5 minutes. A cet effet M. le Professeur BERTRAND mit à notre disposition un malaxeur spécial construit sur ses données et constitué par un récipient cylindrique de 25 litres muni d'un agitateur à pales tournant à 170 tours minute. Ayant introduit 20 litres de lait dans l'appareil, on y incorporait peu à peu pendant l'agitation la quantité de chloropierine nécessaire (12 cm³). Cette opération était effectuée dans un local ouvert à l'air libre. En prenant les précautions classiques qu'exige la manipulation d'un produit de ce genre (gaz de combat) nous n'avons jamais eu à déplorer d'incidents ni même à recourir à l'emploi du masque.

La solution forte ainsi obtenue, il suffisait de la diluer dans un volume de lait dix-neuf fois plus grand (380 litres) pour obtenir les 400 litres microlysés à 50 mgr. par litre.

Après un brassage de quelques minutes, le lait (qui avait été préalablement filtré) était introduit sans réfrigération dans des bidons propres, que l'on portait au bassin (eau à 12-13°) jusqu'à l'heure du départ.

Une deuxième opération était réalisée dans les mêmes conditions. Le volume total de 800 litres était ensuite expédié à Paris et mis en vente dans 10 boutiques de crémiers, 24 heures environ après le traitement. (Ni les crémiers, ni la clientèle n'avaient été avisés de l'expérience en cours).

Il y a lieu de noter que les laits crus mis en œuvre étaient très fortement contaminés.

II. Résultats obtenus en clientèle

1° Première enquête

Dès les premiers jours, nous avons enregistré des plaintes nombreuses (dans 7 boutiques sur 10) d'abord imprécises, puis de plus en plus véhémentes. En interrogeant les consommateurs eux-mêmes, nous avons acquis la certitude que l'on se plaignait de l'instabilité du lait « qui devenait épais au cours de l'ébullition » et « abandonnait souvent un dépôt après l'ébullition », surtout pendant les journées chaudes (2), laissant apparaître au repos « un liquide clair et verdâtre ».

Nous verrons plus loin en relatant les essais effectués parallèlement au laboratoire, la nature précise des accidents constatés et le bien-fondé des plaintes enregistrées.

Devant ces échecs de la première semaine de mise en vente,

(1) Représentant 12 cm³, la densité de la chloropierine pure étant égale à 1,69.

(2) L'expérience eut lieu pendant une période de grandes chaleurs.

(et devant la haute teneur microbienne constatée dans ces laits ainsi que nous le verrons plus loin) nous avons, en plein accord avec M. le Professeur BERTRAND, décidé d'augmenter la dose de chloropicrine et de la porter à 80 mgr. par litre de lait, ce qui fut immédiatement réalisé.

2° Deuxième enquête

Pendant la deuxième semaine, le lait microlysé à 80 mgr. n'apporta pas la solution escomptée. Nous fûmes accueillis dans la clientèle par des plaintes aussi nombreuses et des reproches plus véhéments encore que pendant la semaine précédente. Certains consommateurs, qui n'avaient rien constaté ou rien dit jusque-là, firent à leur tour des observations.

La nature de ces plaintes était exactement la même. Il s'y ajoutait cependant des critiques nouvelles concernant l'odeur et la saveur irritantes du lait (même après ébullition). L'augmentation de la dose de chloropicrine était incontestablement à l'origine de ces remarques et il nous fallut en conclure que nous avions atteint ou dépassé la concentration « acceptable » sans, pour autant, avoir résolu le problème d'une meilleure conservation du lait.

Devant les reproches de plus en plus amers de certains crémiers, qui commençaient de perdre une partie de leur clientèle, nous dûmes, au bout de quinze jours, interrompre l'expérience.

Il s'agit maintenant d'exposer les raisons de cet échec, que nos essais de laboratoire nous ont aisément fait découvrir.

III. Résultats obtenus au laboratoire

Parallèlement aux expériences de mise en vente, nous prélevions chaque nuit des échantillons de lait microlysé et de lait pasteurisé ordinaire provenant de la même usine. Les prélèvements étaient effectués aseptiquement dans des récipients stériles et conservés dans la glace pendant quelques heures jusqu'au moment de l'examen.

1° Epreuve de conservabilité à la température ordinaire

Cette épreuve a concerné la marche de l'acidification des deux types de laits au cours de leur conservation à 25° environ (période de chaleurs). Nous avons à considérer plusieurs étapes dans la « vie » de ces laits :

a) *Evolution entre le traitement et la mise en vente.*

Pendant ces 24 premières heures, le lait pasteurisé ordinaire a subi une acidification légère. Les laits examinés, qui titraient de 15° à 19° Dornic au départ suivant les jours, montraient au moment

de la mise en vente de 16° à 19°5. Pendant la même période, les *laits microlysés* présentaient, eux aussi fréquemment, une acidification légère, rarement nulle. Ces laits qui titraient de 15° à 19° avant traitement, montraient à la mise en vente de 16° à 20° suivant les jours. L'emploi de la dose élevée de chloropierine (80 mgr. par litre) n'a pas enrayé cette acidification légère. On rencontre déjà ici la notion que la chloropierine, aux doses employées, ne stérilise pas le lait et n'entrave pas complètement une certaine activité microbienne — ce qui sera confirmé ci-après.

Une distinction s'impose donc déjà entre la pasteurisation et la microlysation : la pasteurisation haute (85°) réalisée au cours de ces essais, détruit tous les ferments lactiques initialement présents ; l'acidification ultérieure est due à des contaminations. Dans la microlysation, où il n'y a pas destruction totale de la flore lactique quand elle est très abondante, c'est à la survie momentanée d'un grand nombre de ces germes qu'il faut attribuer le phénomène constaté.

b) *Evolution pendant la journée de mise en vente.*

Dans les 24 heures qui suivent l'arrivée du lait à Paris, le problème se transforme radicalement :

Les laits pasteurisés sont devenus, pendant cette période de fortes chaleurs, presque toujours très acides le soir du jour de vente.

Les laits microlysés, au contraire, continuant de subir l'action inhibitrice progressive due à la microlysine, se voient franchement stabilisés, soit à l'acidité qu'ils avaient déjà acquise à l'arrivée à Paris, soit à un niveau légèrement supérieur (0°5 Dornic). Mais il y a lieu de noter que l'acidité, le soir du jour de vente, est toujours supérieure à l'acidité initiale du lait (de 1 à 2°).

c) *Evolution pendant les jours suivants.*

A partir du troisième jour (où il n'est plus question du lait pasteurisé) les laits microlysés présentent entre eux des divergences importantes. Certains laits restent stables encore 24 heures ; d'autres voient leur acidité pendant le même temps gagner 1 ou 2° Dornic. Puis, rapidement, l'acidité prend une marche ascendante générale, d'ailleurs irrégulière.

Les acidifications les plus rapides correspondent alors aux laits qui, au départ, étaient les plus acides, donc les plus contaminés. C'est ainsi qu'au terme du 4^e jour après le traitement, les acidités constatées vont de 19° à 59°, et qu'après 5 jours elles varient de 21° à 77°.

Il est manifeste que cette reprise de la fermentation lactique est

fonction de la contamination initiale et de la température ambiante qui, l'une et l'autre, influencent la décomposition progressive de la chloropierine.

Comme toute possibilité de recontamination était exclue au cours des essais, ce sont bien des germes initiaux survivants, paralysés dans leur développement, qui ont repris leur activité au fur et à mesure de la disparition du toxique.

Quoiqu'il en soit, le fait brutal constaté en ce qui concerne l'évolution de l'acidité des laits microlysés, est le suivant :

Pendant les 24 premières heures : freinage de l'évolution spontanée du lait cru, avec légère montée de l'acidité.

Pendant les 24 ou 48 heures suivantes : stabilisation effective de l'acidité au niveau acquis jusque-là.

Pendant les jours suivants : remontée lente de l'acidité, puis de plus en plus rapide, mais très irrégulière suivant les laits.

Il est donc permis d'affirmer au point de vue pratique que, sur des laits crus fortement contaminés comme ce fut le cas au cours de ces essais, l'action de la chloropierine n'est pas instantanée. Elle agit par « freinage » progressif qui amène la stabilisation ultérieure à se produire à un niveau d'acidité supérieur à celle du lait initial. On conçoit déjà que, pour réaliser ce « blocage » de l'acidité à un niveau assez bas et pour une durée plus longue, il faudrait sans doute agir sur des laits relativement peu contaminés.

2° Epreuve de conservabilité à température élevée (37°)

Les essais réalisés dans cette voie ont confirmé les conclusions précédentes et notamment celles qui concernent les grandes différences constatées dans le comportement des divers laits, ce qui peut être considéré comme le reflet de différences dans l'état de contamination initial.

Le résultat de ces épreuves de conservabilité semble en contradiction formelle avec les constatations faites en clientèle. Les consommateurs se plaignaient d'une instabilité accrue du lait alors que les essais du laboratoire montrent qu'au soir du jour de vente l'acidité de tous les laits est restée inférieure ou au plus égale à 20° Dornic. En fait, il n'y a pas incompatibilité entre ces résultats. L'absence d'acidité ou une faible acidification ne signifient pas nécessairement « stabilité » du lait. On en jugera par les essais suivants :

3° Epreuve de stabilité (ébullition et sédimentation)

Tous les laits microlysés et les témoins pasteurisés ont subi avec succès l'épreuve de l'ébullition à l'arrivée à Paris (bien que,

dès ce moment, certains laits « attachent » légèrement au récipient). Mais le phénomène le plus curieux et le plus important est le suivant :

Les laits microlysés, bouillis le jour de l'arrivée à Paris et conservés au repos pendant quelques heures, présentèrent à plusieurs reprises une *sédimentation importante* allant jusqu'à l'apparition d'un sérum opalescent dans les couches supérieures. Cette observation rejoint parfaitement celles qui ont été faites par un certain nombre de consommateurs. Mais ce phénomène passe inaperçu si le lait est consommé immédiatement après l'ébullition — ce qui explique que certains consommateurs n'aient pas présenté de critiques.

Cette sédimentation au cours du repos prolongé qui suit l'ébullition n'affecte en rien l'allure du caillage habituel en masse. Le lait, rappelons-le, n'était pas acide au point de pouvoir cailler par le chauffage. Il s'agit d'une « *micro-coagulation douce* ». La caséine floccule au cours de l'ébullition sous forme d'une très fine poussière pratiquement invisible à l'œil nu au moment où elle se produit. Ce n'est que quelques heures plus tard que le lait devient épais, visqueux, jusqu'à présenter dans certains cas un aspect « gélifié » extrêmement désagréable. Nous avons pu acquérir la preuve de la coalescence progressive des particules fines initialement isolées.

Si le repos après l'ébullition atteint 24 heures le phénomène s'aggrave et on peut obtenir un caillage nettement visible sous la forme d'une gelée occupant une partie ou la totalité du récipient. Nous avons également noté dans certains cas que, loin d'assister à une acidification, le lait voyait son acidité baisser par exemple de 20° à 17°5 au cours de ce repos de 24 heures.

Toutes les observations précédentes démontrent à l'évidence que nous nous trouvons en présence d'une *activité protéolytique, non empêchée par la chloropicrine*. Dans les cas les plus graves (micro-coagulation à l'ébullition dès l'arrivée à Paris) il faut admettre que le lait cru initial était très riche en germes ou en diastases protéolytiques et que, si la chloropicrine a pu inhiber ou détruire les ferments figurés, elle ne s'est pas opposée à l'action des protéases préformées.

Dans sa note à l'Académie des Sciences, M. le Professeur BERTRAND donnait par avance l'explication du phénomène : « Bien que la chloropicrine tue les cellules microbiennes à de faibles concentrations, elle n'entrave pas, ou seulement dans une faible mesure, l'action des biocatalyseurs organiques » (diastases).

Est-ce à dire que si nos laits avaient été chargés de bactéries protéolytiques mais exempts des diastases correspondantes, ils eussent été mieux protégés par la chloropicrine contre ces phénomènes d'instabilité ? Il est difficile de répondre car la présence de

germes protéolytiques abondants implique nécessairement la présence de protéases. Or si l'ébullition a détruit les protéases, elle a laissé subsister les protéolytiques sporulés. Ces germes avaient, sous cette forme, résisté à l'action bactéricide de la chloropicroine. Dès que la concentration de celle-ci a diminué (par suite notamment de l'ébullition) les spores ont germé, la prolifération des bacilles protéolytiques a repris et avec elle la production de nouvelles protéases. Tout cela explique que la protéolyse ait pu se poursuivre et s'aggraver après l'ébullition. Et la meilleure preuve que nous puissions en donner est l'isolement que nous avons réalisé, à partir de laits microlysés bouillis, d'espèces protéolytiques sporulantes dont la plupart étaient alcalinisantes. L'une des souches ainsi extraite, nous a permis ultérieurement de provoquer le caillage à froid en 24 heures de lait stérile sans aucun accroissement d'acidité. Il convient d'ailleurs de rappeler que l'ébullition, loin de gêner l'action de ces germes, facilite leur action en supprimant la concurrence gênante des acidifiants.

Puisque l'ébullition, en éliminant la majeure partie de la chloropicroine, prépare le terrain à une reprise de la protéolyse pendant le repos ultérieur, il vient à l'idée de différer cette ébullition jusqu'au moment de la consommation, laissant à la chloropicroine seule le soin d'assurer la conservation jusqu'au moment de l'ébullition. Cette manière de faire a été expérimentée tant au laboratoire qu'en clientèle. Elle s'est avérée aussi désastreuse dans certains cas : la coagulation douce « préparée » ou amorcée par l'ébullition dans le cas précédent, devenait alors brutale par le chauffage et d'autant plus que le délai de conservation était plus long. On comprend aisément que l'action des protéases initiales, entièrement respectées, ait pu être profonde sur la molécule de phosphocasinat au cours de ce délai supplémentaire et que l'ébullition finale ait, plus aisément encore que dans le premier cas, amené la rupture de l'équilibre colloïdal et entraîné le caillage. En fait, les laits microlysés étaient, au cours de nos essais, de moins en moins stables vis-à-vis du chauffage, au fur et à mesure du vieillissement.

Ainsi donc, les constatations faites au laboratoire rejoignent et expliquent les observations des consommateurs : les laits crus microlysés, soumis à l'ébullition le lendemain, présentèrent au cours du repos ultérieur ou même au cours de l'ébullition des phénomènes d'instabilité plus ou moins marqués qui purent aller jusqu'à la coagulation et cela sans acidification notable.

Toute la question semble donc bien dominée par l'existence dans les laits crus mis en œuvre, de diastases protéolytiques abondantes dont l'activité n'est pas entravée par la chloropicroine. Ces diastases elles-mêmes proviennent de microorganismes protéolytiques dont

l'origine n'est pas douteuse : contaminations massives au moment de la traite, prolifération intense entre la traite et le ramassage. *Nous sommes donc en présence de laits sales, hautement contaminés.* L'examen bactériologique des laits crus l'a confirmé (plusieurs millions et parfois plusieurs dizaines de millions de germes au centimètre cube au moment du ramassage. Pourcentage très élevé de caséolytiques).

Nous aboutissons donc à cette conclusion que *les échecs constatés doivent être rattachés à la mauvaise qualité bactériologique des laits reçus et traités dans l'usine.* S'il en est bien ainsi, en traitant à la chloropierine des laits propres on doit aboutir à de bien meilleurs résultats. C'est effectivement ce que nous avons constaté (voir plus loin).

Remarques :

a) Avant de clore ce chapitre de la stabilité des laits microlysés il convient encore de faire la remarque suivante : les laits pasteurisés courants, quand ils proviennent de laits initialement sales et contaminés, sont plus stables que les mêmes laits seulement microlysés. Cela résulte de ce qui vient d'être dit puisque la pasteurisation détruit les protéases que respecte la chloropierine. Et cela s'est trouvé pleinement confirmé par l'expérience, quand les laits pasteurisés ont pu être soustraits à de graves contaminations ultérieures et à l'acidification qui introduit, par elle-même, une autre source d'instabilité. Toutes choses égales d'ailleurs, *dans le cas des laits crus très contaminés, la pasteurisation est plus efficace que la microlysisation* pour ce qui est de la stabilité ultérieure du lait ;

b) Nous nous sommes demandé, au début de nos essais, si ces phénomènes d'instabilité pouvaient n'être qu'un accident purement physico-chimique dû à la chloropierine elle-même. Il n'en est rien. Même à très haute dose, la chloropierine est absolument sans action sur la stabilité du lait pur.

4° Examen bactériologique des laits microlysés

Restant toujours dans le cadre du traitement des laits crus très contaminés qui furent mis à notre disposition, nous avons procédé à l'examen bactériologique de quelques-uns de ces laits microlysés, lors de leur arrivée à Paris, c'est-à-dire 24 heures après le traitement.

Voici quelques-uns des résultats obtenus :

	Doses de chloropicrine utilisées(en milligrammes par litre)						
	50	65	65	65	80	80	80
Nombre de germes totaux au centimètre cube	100.000	336.000	744.000	564.000	568.000	342.000	640.000
Colibacilles au centimètre cube.....	+1.000	Néant	10	10	Néant	Néant	Néant
Putréfiants au centimètre cube.....	+1.000	+1.000	+1.000	100	100	10	10
Anaérobies producteurs de gaz	+1.000	+1.000	10	100	Néant	100	10
Protéolytiques totaux....	350	20	Néant	300	100	Néant	100
Sporulés aérobies	100	Néant	Néant	Néant	Néant	Néant	20
Moississures et levures	100	Néant	Néant	100	100	—	10

Rappelons que, dans chaque cas, il s'agissait de *laits différents*, ce qui explique l'incohérence apparente de certains résultats.

Quoiqu'il en soit, ces chiffres permettent les commentaires suivants :

a) La chloropicrine, dans les conditions où nous avons opéré, ne stérilise pas le lait ;

b) La chloropicrine, même à la dose de 80 mgr. par litre que nous considérons comme très élevée, laisse dans ces laits sales, après 24 heures de contact, des quantités de germes de l'ordre de plusieurs centaines de mille au centimètre cube ;

c) La chloropicrine a eu raison, pratiquement, du colibacille et, dans une large mesure, des putréfiants, et des anaérobies producteurs de gaz. Les germes qui subsistent sont constitués en majorité par des ferments lactiques (1).

Si l'on tient compte du fait que les laits crus mis en œuvre étaient très contaminés et si l'on se souvient du principe suivant lequel l'action d'un antiseptique varie avec l'état de contamination de la substance traitée, on peut légitimement admettre que sur des laits plus propres les résultats eussent été, là aussi, nettement meilleurs — ce qui a été confirmé expérimentalement.

5° Evolution quantitative de la flore totale en présence de microlysine

Ayant pu nous procurer ultérieurement du lait cru de meilleure qualité (270.000 germes au centimètre cube) nous avons cherché à

(1) Des observations semblables ont été faites par G. Bertrand et M. Lemoigne. C. R. A. S., mai 1945, t. CXX, p. 721.

déterminer comment évoluait la flore totale en fonction du temps. A cet effet, sur un lait cru microlysé à deux doses différentes (50 et 80 mgr. par litre), nous avons effectué la numération des germes totaux, à intervalles irréguliers pendant 100 heures de conservation à la température de 20°.

Les résultats obtenus ont été les suivants :

	Lait microlysé à 50 milligrammes p. litre	Lait microlysé à 80 milligrammes p. litre
Acidité initiale	15°	15°
Numération totale avant traitement ...	270.000	290.000
Numération après le traitement :		
10 minutes	275.000	200.000
1 heure	205.000	177.000
3 heures	250.000	209.000
5 heures	262.000	220.000
20 heures	310.000	75.000
28 heures	315.000	62.000
44 heures	360.000	47.000
52 heures	424.000	45.000
68 heures	482.000	45.000
76 heures	530.000	50.000
92 heures	550.000	70.000
100 heures	545.000	58.000
Acidité finale	19° Dic	18° Dic

Les graphiques ci-dessous rendent mieux compte de cette évolution :

ÉVOLUTION DE LA FLORE TOTALE DES LAITS MICROLYSÉS

Cet essai nous montre (pour un lait cru moyennement contaminé) :

Qu'à la dose de 50 mgr. par litre, la chloropicrine ne s'oppose pas à une reprise lente et progressive des proliférations.

Qu'à la dose de 80 mgr. par litre, la chloropicrine manifeste une action microbicide qui progresse d'abord pendant 24 ou 48 heures puis diminue et s'annule.

Malheureusement il faut reconnaître que cette dose de 80 mgr. doit être considérée comme élevée et incompatible avec les possibilités pratiques d'utilisation — à moins de procéder ultérieurement à une démicrolyse du lait avant la mise en vente.

6° Conclusion de la première partie

De tout ce qui précède il résulte clairement :

a) Que nous avons abouti à un échec dans l'emploi de la chloropicrine en vue d'augmenter la conservabilité des laits : nous avons bien, dans une certaine mesure, stoppé l'acidification, mais nous avons augmenté l'instabilité du lait notamment vis-à-vis du chauffage ;

b) Que cet échec est dû à une activité protéolytique importante dans les laits crus mis en œuvre — activité que la chloropicrine n'entrave pas ;

c) Que cette abondance de protéases, et de germes protéolytiques qui en sont la cause, a incontestablement son origine dans un état de contamination intense des laits crus au stade de la production — situation d'ailleurs aggravée par le délai qui s'écoule entre la production et le ramassage et par l'absence de refroidissement du lait dès l'émission ;

d) Que la cause des échecs semble donc pouvoir être directement rattachée à la mauvaise qualité bactériologique initiale des laits crus.

Il eût été, évidemment, hautement désirable de réaliser cette expérience de mise en consommation des laits microlysés à partir de laits « propres ». Malheureusement la très mauvaise qualité bactériologique des laits crus est un fait général à l'heure actuelle — notamment dans la saison chaude. Il ne nous a donc pas été possible d'entreprendre une nouvelle expérience sur ces bases à l'échelle industrielle. Néanmoins, étant donné l'intérêt qui s'attache à la vérification de l'hypothèse précédente, il était indispensable de tenter des essais, même très limités, sur des laits bactériologiquement propres. Ces essais ont pu être effectués. La deuxième partie de cet exposé en donne le résultat.

* * *

DEUXIÈME PARTIE

MICROLYSATION DES LAITS BACTÉRIOLOGIQUEMENT PROPRES

Que faut-il entendre par laits propres ? Autrement dit, comment peut-on envisager d'avoir des laits exempts de la forte contamination qui caractérise les laits dits « sales » ?

Si l'on considère le lait pris au pis de la vache, on peut admettre qu'il est au minimum de contamination. Celle-ci intervient évidemment après la traite du fait des circonstances variées qui l'entourent : atmosphère de l'étable, souillure du pis de la vache et des mains du vacher, introduction accidentelle de parcelles de fourrages et de matières fécales issues le plus souvent de l'épiderme de l'animal ; à ces causes il convient d'ajouter celles qui proviennent de l'introduction et du transport du lait dans des bidons éventuellement mal désinfectés ou non désinfectés. Il faudrait également tenir compte de la température à laquelle est émis et maintenu le lait après la traite. Pour recevoir à l'usine du lait non contaminé, il faudrait supprimer toutes ces causes et réaliser le programme suivant :

Etables propres, pis des animaux lavé et désinfecté, mains du trayeur lavées et désinfectées, vaisselle laitière également désinfectée, filtration du lait sur ouate, refroidissement du lait dès la traite, introduction et transport en bidons propres et désinfectés.

Dans l'état actuel des choses, la plupart de ces conditions ne sont pas réalisées. Nous avons dû nous borner à expérimenter l'influence de la *désinfection des bidons de ramassage*.

Un autre moyen, plus radical, de microlyser du lait propre est d'effectuer cette opération *dès la traite*, à l'étable même, au moment où le lait n'est pas encore notablement contaminé.

Enfin nous pouvons disposer d'une autre forme de lait propre ou, plus exactement, de lait débarrassé de ses contaminations. Il s'agit du *lait pasteurisé*, dont nous avons également étudié la microlystation à la sortie du réfrigérant.

Voici les résultats obtenus dans ces divers domaines :

I. Microlystation de lait transporté en bidons désinfectés

Toutes les conditions de la production ont été maintenues identiques. Mais, dans une tournée, nous avons mis à la disposition des fournisseurs des bidons seulement lavés au carbonate de soude et passés au Viltange alors que, dans une autre, nous avons fourni

des bidons lavés comme les autres et désinfectés soigneusement à l'eau de Javel.

À l'arrivée à l'usine, nous avons effectué le mélange de tous les pots de chaque série et effectué dix prélèvements par série.

La moyenne des analyses a fourni les résultats suivants :

	Pots désinfectés	Pots non désinfectés
Acidité moyenne	18,70	20,25
Nombre de germes vivants au centimètre cube . . .	Environ 10 millions	Plus de 15 millions

Comme il était facile de le prévoir, la désinfection des bidons n'a pas permis, à elle seule, d'obtenir du lait propre. Toutes les autres causes de contamination à l'étable et de prolifération ultérieure (température) ont été maintenues. Néanmoins, en dépit de ces mauvaises conditions accumulées, le transport en bidons désinfectés a fourni du lait un peu moins chargé en germes et surtout titrant en moyenne 1^o5 Dornic de moins que le lait reçu en bidons non désinfectés.

Pouvons-nous dire que le lait ainsi transporté en bidons désinfectés réalise le « lait propre » qui permettrait à la microlysation de donner de bons résultats ? On peut, *a priori*, en douter puisque nous sommes là en présence, malgré tout, de lait hautement microbien.

Nous avons donc microlysé ces deux sortes de lait à la dose modérée de 50 mgr. par litre et nous les avons transportés à Paris en bidons désinfectés et examinés le lendemain c'est-à-dire pendant la « journée de mise en vente ».

Voici les résultats obtenus :

	Lait collecté en pots désinfectés	Lait collecté en pots non désinfectés
Acidité	21	23
Nombre de germes vivants	3.420.000	8.960.000
Epreuve d'ébullition	Début de micro- caillage	Caillage net
Acidité 3 jours plus tard	26	31

Ce résultat démontre :

1° Que la microlysine n'a pas permis (à la dose modérée de 50 mgr.) d'obtenir du lait stable, même s'il a été transporté en bidons désinfectés de la ferme à l'usine.

2. Que, néanmoins, la microlysine a réduit le nombre total de germes, mais d'une manière très insuffisante.

En d'autres termes, avec du lait particulièrement contaminé, comme ce fut encore le cas au cours de cet essai, la microlysatation conduit à un échec, même si le lait a été transporté en bidons désinfectés.

On peut en conclure que *la désinfection des pots de ramassage (toutes choses égales d'ailleurs) ne suffit pas à amener à l'usine du lait assez propre pour être microlysé avec succès.*

II. Microlysatation du lait dès la traite

La seconde hypothèse consistait à microlyser le lait au sortir du pis de la vache c'est-à-dire au moment où il est encore exempt de souillures graves. Dans ce but, nous avons remis à trois fermiers des bidons renfermant une certaine quantité de lait (de 1/4 de litre à 1 litre) microlysé à haute dose c'est-à-dire renfermant la quantité de microlysine nécessaire à traiter tout le lait d'un bidon.

Au moment de la traite le lait a été introduit directement dans ces bidons et l'essai a été réglé de telle sorte que ces trois laits renferment respectivement 50 mgr., 25 mgr. et 12 mgr. 5 de microlysine par litre. Ces laits ont été maintenus dans l'étable jusqu'au ramassage du lendemain et reçus à l'usine. De là, sans déboucher les bidons, ils ont été transportés à Paris et n'ont été examinés qu'à leur arrivée au laboratoire, c'est-à-dire pendant la « journée de vente », soit 48 heures après la microlysatation.

Voici leurs caractéristiques *vers la fin du jour de vente normal* :

	Lait microlysé à 50 milligrammes	Lait microlysé à 25 milligrammes	Lait microlysé à 12 mgr. 5
Acidité	15,5	15,5	16
Nombre de germes vivants ..	40.000	160.000	2.140.000
Epreuve d'ébullition	Stabilité parfaite	Stabilité parfaite	Stabilité parfaite
Acidité 3 jours plus tard	19	21	87 (caillé)
Acidité 4 jours plus tard	21	22	93 (caillé)

Ce résultat, extrêmement important, montre :

1° Que la microlysine introduite dans le lait au moment de la

traite, même à la faible dose de 12 mgr. 5 par litre (c'est-à-dire quatre fois moins que la dose modérée de l'expérience précédente) a permis de recevoir à l'usine, le lendemain, du *lait cru de très bonne qualité* ;

2° Que ce lait, le jour suivant, c'est-à-dire pendant la journée de vente à Paris, était encore parfait (16° Dornic pour la plus faible dose) et que, notamment, il était absolument stable à l'épreuve du chauffage.

On peut donc en conclure que l'hypothèse émise antérieurement était fondée, savoir : *la microlysine stabilise parfaitement, dès le début, les laits propres* (et pour un temps qui dépend de la dose de microlysine utilisée).

Au point de vue pratique, on peut donc en déduire que la *microlysation à la ferme*, même à très faible dose :

Permet de recevoir à l'usine du lait impeccable.

Permet de le mettre en vente à Paris le lendemain dans d'excellentes conditions (sans aucun autre traitement).

Remarque :

Une autre expérience de microlysation à la ferme effectuée quelques jours auparavant à la dose de 50 mgr., avait fourni un résultat encore meilleur :

Acidité à l'arrivée à Paris	16
Nombre de germes à l'arrivée à Paris	10.000
Acidité 3 jours plus tard	16
Acidité 4 jours plus tard	20

III. Microlysation du lait pasteurisé

Un troisième moyen de disposer de lait propre consistait à partir de lait pasteurisé, c'est-à-dire débarrassé des germes innombrables apportés par le lait cru et débarrassé également des diastases secrétées par ces germes (détruites par la pasteurisation). *A priori*, la microlysation devait réussir sur ce lait.

Voici les résultats obtenus :

Nombre de germes au sortir su pasteurisateur	50 au centimètre cube
Acidité du lait au moment du départ pour Paris.....	16° Dornic

Ce lait a été alors microlysé à 50 mgr., transporté et conservé à Paris.

L'acidité est restée égale à 16° pendant 5 jours à la température de 20° (le 6° jour elle passait à 20° Dornic). L'épreuve d'ébullition dénotait une stabilité parfaite pendant toute cette période.

Cet essai qui, *a priori*, ne semble pas présenter d'intérêt pratique

puisque la microlysatation ne semble pas, dans l'esprit de son promoteur, devoir se superposer à la pasteurisation, offre néanmoins le grand intérêt de confirmer l'hypothèse précédente concernant la réussite de la microlysatation des laits propres (ou débarrassés de leurs germes et diastases microbiennes).

Ainsi on peut désormais tenir pour parfaitement établie l'hypothèse émise antérieurement :

La microlysatation des laits propres (notamment à la ferme) conduit à d'excellents résultats, même avec de faibles doses de microlysine.

IV. Commentaires

Si l'on excepte le cas de la microlysatation des laits pasteurisés qui constitue un cas particulier sans grand intérêt pratique semble-t-il, il apparaît que la condition nécessaire et suffisante pour réussir la microlysatation (dans les circonstances actuelles de la production) réside dans l'incorporation de la chloropierine au lait dès l'émission, c'est-à-dire à la ferme même et si possible à l'étable.

La chose est-elle réalisable ?

Nous l'avons tentée ; mais nous devons dire tout de suite qu'on se heurte dans ce domaine à des difficultés pratiquement insurmontables.

Il faut tout d'abord rappeler qu'il est impossible d'introduire, telle quelle, la chloropierine dans le lait. Nous avons montré au début de cette étude qu'il était indispensable de préparer d'abord une solution concentrée dans une partie du lait et de disperser ensuite cette « solution forte » dans le reste de la fourniture. La préparation de la solution forte exige un appareil approprié pour réaliser l'agitation violente et prolongée nécessaire, et surtout la possession, le stockage et la manipulation de chloropierine pure. Il ne saurait être question de remplir cette dernière condition en raison des dangers graves que la moindre faute ou le moindre accident feraient courir au personnel et aux animaux.

Nous avons donc dû préparer la « solution forte » à l'usine et la remettre aux fournisseurs en les priant de la mélanger au lait dans la proportion convenue de 5 % (1 litre par pot). Nous n'avons pas réussi dans cette voie. La solution forte émet des vapeurs extrêmement irritantes ; sa manipulation est difficile et désagréable. La nécessité d'une mesure assez exacte à l'occasion de chaque bidon est une complication supplémentaire. En fait, nous n'avons jamais pu obtenir l'exécution de ce que nous avons demandé.

Il nous a fallu recourir à un autre mode opératoire : introduire à l'avance, dans les bidons vides renvoyés aux producteurs, la quantité nécessaire de la solution forte. Nous pensions qu'il suffirait aux vachers chargés de la traite de compléter le bidon à 20 litres

avec le lait qu'ils venaient de recueillir. Nous avons, là encore, complètement échoué pour deux raisons principales : à l'ouverture du bidon et surtout pendant son remplissage, l'atmosphère interne du récipient, riche en vapeurs de chloropicrine, se trouve brutalement évacuée et provoque une irritation très vive des yeux, du nez et de la gorge de la personne chargée de l'opération ; la plupart des vachers se refusaient à poursuivre ce travail. D'autre part, les fermiers eux-mêmes à qui on remettait des bidons contenant déjà un litre de lait, refusèrent, avec raison, d'admettre que ce lait avait toujours la richesse de leur propre fourniture ; dans le cas de l'achat à la matière grasse il en résulte des difficultés insolubles. Enfin, en admettant par impossible que les objections précédentes fussent levées, il n'en reste pas moins que ce retour aux fermes d'un litre de lait constituant la « solution » forte de chloropicrine complique singulièrement la comptabilité des achats de lait et soulève de nombreux problèmes techniques et administratifs qu'il serait long et superflu d'étudier ici dans le détail. Bref, ou bien nous nous sommes heurtés à des refus catégoriques, ou bien les instructions données n'ont pas été correctement suivies. Et dans tous les cas, sans exception, nous avons échoué.

D'ailleurs, pendant les 7 jours consécutifs où cette expérience a pu être néanmoins poursuivie, les laits crus reçus à l'usine ne différaient pas des autres au point de vue de l'acidité et, à leur arrivée à Paris le lendemain, ils étaient caillés (4 jours sur 7) ou très acides.

Cet échec n'est pas dû à des causes techniques puisque de semblables essais réalisés par nos soins dans les étables mêmes avaient donné d'excellents résultats (voir plus haut). Cet insuccès démontre seulement l'impossibilité absolue de faire réaliser la microlysation par les producteurs, du moins dans les conditions que nous venons de décrire.

Nous avons alors pensé que le problème de la microlysation à la ferme devait être résolu par d'autres moyens. Nous avons imaginé et tenté d'expérimenter d'autres techniques :

a) Introduire dans les bidons vides retournés aux fermes des solutions fortes de chloropicrine constituées non plus par une solution à 1 p. mille dans du lait, mais par des solutions très concentrées ou saturées de chloropicrine dans des véhicules appropriés tels que l'alcool additionné ou non de substances capables de provoquer la formation instantanée, au contact du lait, d'une émulsion très dispersée, rapidement soluble. Disons tout de suite que leur application au présent problème nous a conduit à des échecs nombreux (attaque du métal des bidons, décomposition de la chloropicrine, etc.) qui nous ont fait renoncer à cette solution ;

b) Remettre entre les mains des producteurs des « unités » de chloropicrine (qu'il eût suffi d'ajouter purement et simplement à chaque pot de lait) sous la forme de solutions alcooliques ou autres, aisément dispersibles ou d'émulsions fines facilement solubles, ou encore de « gels », de « comprimés » dissociables, etc. Pendant plusieurs mois nous avons expérimenté de nombreuses formules dont la plupart n'ont conduit qu'à des insuccès pour des raisons diverses sur la nature desquelles il nous paraît inutile de nous étendre. La seule voie qui nous ait laissé un espoir est celle de solutions alcooliques. Mais leur utilisation par les producteurs se heurte à de nouvelles difficultés d'emploi (technique et autres) qui nous ont fait également rejeter cette manière de faire.

En résumé, en dépit de toutes nos tentatives et de tous nos essais, nous avons dû aboutir à cette conclusion que la *microlysation du lait à la ferme était pratiquement irréalisable*.

V. Conclusions de la deuxième partie

1. La microlysation n'est susceptible de réussir que si elle est réalisée sur des laits relativement propres, c'est-à-dire peu ou pas contaminés.

2. La meilleure solution consisterait à réaliser l'addition de chloropicrine dès l'émission du lait, c'est-à-dire à l'étable même. Or, pratiquement, cette opération est irréalisable.

3. Il ne peut donc être envisagé de microlyser le lait qu'au moment de son arrivée dans les usines. Mais, dans la très grande majorité des cas, la composition bactériologique du lait est, à ce moment, déplorable (1).

Or, dans ces conditions, la microlysation est vouée à l'échec.

4. Il ne reste donc qu'une seule solution : obtenir que les laits reçus dans les usines soient d'une qualité bactériologique satisfaisante. Cela implique des progrès énormes au stade de la production : étables, animaux et personnel propres, lait filtré et réfrigéré, etc. Nous n'en sommes pas là hélas ! En dépit des programmes, des rapports, des vœux, des Commissions techniques, des Congrès, des techniciens, en dépit même de certains louables efforts, on peut affirmer que ce problème (le grand problème du lait en France) est loin d'être résolu. *Tant qu'il ne le sera pas, il faut reconnaître que la microlysation échouera à l'échelle industrielle — ou du moins qu'elle n'atteindra pas le but qu'elle se proposait : améliorer la con-*

(1) On n'a pas, jusqu'ici, suffisamment attiré l'attention sur cette mauvaise qualité des laits reçus dans les usines de pasteurisation. Elle est à l'origine de presque tous les insuccès constatés dans l'industrie du lait de consommation. Nous nous proposons d'y revenir quelque jour et d'en tirer les conclusions qui s'imposent.

servabilité du lait en assurant sa *stabilité*, en dépit même d'un ralentissement de l'acidification.

5. Alors il est permis de se poser une dernière question : si le programme d'amélioration de la production que nous venons d'esquisser et de réclamer (après tant d'autres...) venait à être pleinement réalisé, *le besoin d'une méthode nouvelle de conservation se ferait-il vraiment sentir ?* Sur des laits propres, la pasteurisation actuelle réussit parfaitement. Avec des laits propres la « tourne » n'est pas à redouter. Dans ces conditions la microlysation (« procédé qui permet d'éviter la tourne du lait pendant les grandes chaleurs ») serait-elle nécessaire ? Il est permis d'en douter. Ne se trouverait-on pas alors placé devant l'alternative si clairement exprimée par M. le Professeur LEMOIGNE à propos du procédé WISER (1) : « Ce procédé est parfois efficace quand il est inutile et toujours inefficace quand il pourrait devenir utile. »

Mais, reconnaissons-le, ce n'est là qu'une opinion personnelle. Nous n'avons sans doute pas le droit d'affirmer formellement que la microlysation serait inutile si les laits crus venaient à être produits dans un état de propreté tel qu'elle soit pleinement efficace. L'expérience industrielle, sur la vaste échelle qui serait nécessaire, n'a pas été faite et ne peut pas l'être en l'état actuel des choses.

Ce que nous pouvons en revanche déclarer, sans crainte malheureusement d'être démenti, c'est que la production du lait propre appartient encore au domaine des rêves.

Quand ce problème sera résolu (s'il l'est jamais) et à ce moment là seulement, on pourra se demander si la microlysation des laits de consommation en nature mérite d'être retenue comme méthode nouvelle de conservation.

Jusque là, sur les laits crus que nous connaissons, concluons sincèrement qu'elle est inefficace — donc inutile.

TECHNIQUE D'ISOLEMENT DES STAPHYLOCOQUES PATHOGENES. IDENTIFICATION DES STAPHYLOCOQUES ENTÉROTOXIQUES (2)

par

RENÉ BUTTIAUX et RAYMONDE BROGNIART

On sait l'importance du rôle des staphylocoques entérottoxiques dans les intoxications alimentaires. Les auteurs Anglo-Saxons l'ont bien mis en évidence. Dans une série de communications nous en

(1) *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture*, 1945, p. 449.

(2) Communication présentée à la Société française de Microbiologie, Paris, avril 1947. In *Ann. Instit. Pasteur*, 1947, LXXIII, 830.