

## MÉMOIRES ORIGINAUX <sup>(1)</sup>

---

### TRIAGE RAPIDE DES LAITS ANORMAUX PAR LA RÉFRACTOMÉTRIE, LA CATALASIMÉTRIE ET L'ESSAI A L'ALCOOL-ALIZARINE,

par

M. le D<sup>r</sup> C. VALENCIEN,  
Chimiste Cantonal

M. le D<sup>r</sup> L. PANCHAUD,  
Chimiste au Laboratoire Cantonal

Genève.

---

Lorsqu'il s'agit de déterminer rapidement et dans des conditions aussi avantageuses que possible quels sont, par exemple, les laits susceptibles de troubler la fabrication du fromage ou encore de rechercher, dans une grande étable adonnée à l'obtention de lait spécial pour nourrissons, quelles vaches sécrètent un lait impropre à l'usage que l'on se propose d'en faire, on peut avoir recours à trois méthodes rapides :

1° Détermination du chiffre réfractométrique du sérum chlorocalcique du lait ;

2° Détermination de l'indice ou chiffre de catalase ;

3° Essai à l'alcool-alizarine ;

qui, en quelques heures, peuvent donner des renseignements des plus utiles.

La détermination du chiffre réfractométrique du sérum chlorocalcique selon ACKERMANN est des plus connue. Rappelons la cependant en quelques mots. On introduit dans une éprouvette (230 mm. long.-20 mm. diam.) 30 cm<sup>3</sup> de lait, puis 1/4 cm<sup>3</sup> de solution de chlorure de calcium. On agite vigoureusement et fixe sur l'éprouvette un tube réfrigérant (260 mm. long.-10 mm. diam.). On plonge alors le support contenant 12-24 éprouvettes dans un bain-marie dont l'eau doit être en pleine ébullition. On maintient l'ébullition vive pendant 15 minutes, puis on place le porte éprouvette dans une cuve remplie d'eau froide. Le refroidissement effectué, on fait retomber dans l'éprouvette l'eau de condensation qui s'est rassemblée dans le tube réfrigérant, en la retournant ; puis on décante le sérum dans des petits godets que l'on place dans une cuve contenant de l'eau à 17,5°. La détermination du chiffre réfractométrique se fait à

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

la température de  $17,5^{\circ}$  au moyen du réfractomètre à immersion de Zeiss, on exprime le résultat en degrés du réfractomètre. On trouvera dans le manuel de SIDERSKY : *La réfractométrie et ses applications* (Collection des Aide-Mémoire Leauté), la description du réfractomètre ainsi que la table de correspondance entre les degrés du réfractomètre et les indices de réfraction réels. La solution de chlorure de calcium se prépare en dissolvant 200 gr. de chlorure de calcium fondu ( $\text{CaCl}_2$ ) dans l'eau de manière à obtenir un litre de solution. Le poids spécifique de la solution doit être 1,1375 à  $15^{\circ}$  ; diluée au 1/10, elle doit donner, à la température de  $17,5^{\circ}$ , un chiffre réfractométrique de 26,0 ( $n = 1,33743$ ).

L'indice ou chiffre de catalase se détermine au moyen de l'appareil de KOESTLER, le plus simple et le meilleur marché des nombreux appareils que nous avons eu l'occasion d'essayer. Il se compose d'un godet de verre portant des traits de jauge à 10 et 15  $\text{cm}^3$ , d'un

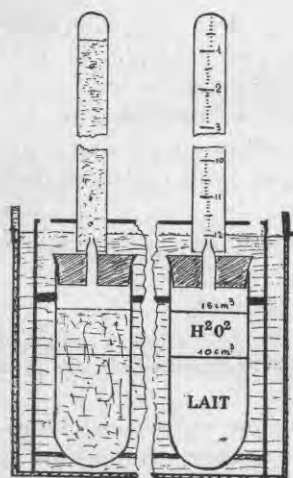


Fig. 1.

bouchon de caoutchouc percé d'un trou laissant passer un petit tube de dégagement et d'un tube eudiométrique de  $12 \text{ cm}^3$  divisé en  $1/10$  de  $\text{cm}^3$ . On verse dans le godet  $10 \text{ cm}^3$  de lait, puis  $5 \text{ cm}^3$  d'eau oxygénée renfermant  $1 \text{ } \%$   $\text{H}_2\text{O}_2$  (environ 3 vol.), on agite et bouche l'appareil que l'on met dans une sorte d'étagère construite pour 12 déterminations et placée elle-même dans une cuve contenant de l'eau à  $25^{\circ}$ , à une hauteur telle que le godet et son tube de dégagement soient complètement immergés (Fig. 1). On laisse pendant quelques instants (1 minute environ) l'air emprisonné entre la surface du lait et le bouchon se dilater, puis on renverse le tube eudiométrique (rempli d'eau) sur le tube de dégagement.

L'oxygène libéré par la catalase se dégage et chasse un volume d'eau égal dans le tube eudiométrique. Après 2 heures, pendant lesquelles on a maintenu la température de la cuve à  $25^{\circ}$ , on note le volume d'oxygène dégagé. En le rapportant à  $100 \text{ cm}^3$  de lait, on obtient l'indice ou chiffre de catalase.

L'essai à l'alcool-alizarine selon MORRES (*Molkerei Zeitung Hildesheim*, nos 47, 1909 et 98, 1910) consiste à observer la teinte et les modifications que subit le lait ( $3 \text{ cm}^3$ ) agité avec son volume ( $3 \text{ cm}^3$ ) d'alcool neutre à  $68^{\circ}$  saturé d'alizarine (2 gr. environ par litre), qui joue le rôle d'indicateur.

Pour un lait faisant une fermentation lactique pure, jusqu'à 8° (S. H.) ou 18° D. (1) d'acidité, le mélange lait alcool-alizarine ne coagule pas et prend une teinte lilas-rose, à partir de 9° S. H. = 20° D. rouge-brunâtre, le liquide est parsemé de très fins flocons, à 16° S. H. = 36° D. (et au-delà), le liquide est coagulé en très gros flocons, le sérum se sépare, la teinte est jaune citron. Entre ces acidités limites, on observe des teintes virant d'autant plus vers le jaune que le degré d'acidité est plus élevé, le coagulum devenant de plus en plus abondant et les flocons de plus en plus gros.

Mais si le lait, sous l'influence de bactéries sécrétant du ferment « lab » fait une fermentation chymasique pure, son acidité n'augmente pas. On observe cependant que le mélange lait alcool-alizarine est *coagulé en gros flocons se rassemblant facilement, alors que l'acidité du lait est inférieure à 8° S. H., la teinte du mélange est rouge brigue foncé*. Les laits mammiteux prennent une teinte violette, indice d'alcalinité puisque l'alizarine, jaune en solution acide est violette en solution alcaline. Les laits « alcalins » donnant cette teinte violette sont particulièrement impropres à la fabrication du fromage. L'essai à l'alcool-alizarine est entré dans la pratique laitière où il rend des services inappréciables. En été, surtout lorsque les laits ont voyagé à des températures élevées, il y a intérêt à trier dans les wagons même les laits dont l'acidité est un peu avancée et qui risqueraient, mélangés avec d'autres laits frais, de donner des laits de mauvaise conservation. On utilise alors des pipettes automatiques avec lesquelles on prélève le lait dans les pots laitiers d'odeur avancée. On mesure l'alcool-alizarine avec une autre pipette automatique. Tout lait donnant une teinte jaune ou une coagulation avec l'alcool-alizarine est soigneusement mis à part pour être employé à la fabrication du beurre ou des fromages frais, etc. . . . De cette façon, on n'envoie dans les bacs de réfrigération que des laits de bonne conservation.

TILLMANS (*Zeitschrift für Untersuchung*, t. 40, pp. 25-34, 1920) a déterminé la concentration en ions H de laits frais additionnés d'acide lactique jusqu'à donner à l'essai alcool-alizarine les teintes 4-10 de la table de MORRES, (On se trouve alors dans des cas identiques à

(1) Les degrés SOXHLET-HENKEL (S. H.) expriment le nombre  $n$  de  $\text{cm}^3$  NaOH N/4 ( $1 \text{ cm}^3 = 0,0225 \text{ gr. acide lactique}$ ) employés à neutraliser l'acidité de  $100 \text{ cm}^3$  de lait, les degrés DORNIC (D.) le nombre de  $m$  de  $\text{cm}^3$  de liqueur sodique à 4,445 gr. NaOH par litre ( $1 \text{ cm}^3 = 0,01 \text{ gr. ac. lactique}$ ) employés à saturer l'acidité de  $100 \text{ cm}^3$  de lait, on voit que  $1^\circ \text{ SOXHLET-HENKEL} = 2^\circ,25 \text{ DORNIC}$ . Il n'est pas tenu compte du fait que, la soude N/4 étant plus concentrée que la liqueur DORNIC, cette dernière diluera plus fortement le lait, ce qui n'est pas sans influence sur le résultat.

ceux de fermentations lactiques pures). La concentration en ions H, traduite par le  $P_H$  est, pour les teintes :

1 : 6,53 ; 2 : 6,49 ; 3 : 6,10 ; 4 : 5,83 ; 5 : 5,17 ; 6 : 4,57 ;  
7 : 4,06 ; 8 : 3,70.

En alcalinisant le lait avec  $C O^3Na^2$ , de façon à obtenir les teintes 9 et 10, on a pour le  $P_H$ , 9 : 6,61 ; 10 : 6,83.

Des teintes obtenues, on peut donc déduire la concentration en ions H.

L'indice réfractométrique du sérum chlorocalcique du lait normal de vaches saines varie entre 38,5-40,5 degrés du réfractomètre ZEISS ( $n=1,34218-1,34294$ ). Un indice plus faible provient soit d'un « mouillage », soit d'un trouble de sécrétion de la glande mammaire. Les laits normaux, frais, ont des indices de catalase variant entre 3-15, tandis que les laits provenant de pis malades ont des indices de catalase beaucoup plus élevés, 20-130 suivant l'importance du trouble de sécrétion. D'autre part, les laits de pis malades donnent à l'alcool-alizarine des teintes violacées, l'accumulation de 3 caractères : chiffre réfractométrique anormalement bas, chiffre de catalase élevé et teinte violette de l'essai à l'alcool-alizarine permet de soupçonner avec beaucoup de vraisemblance que le lait provient d'un pis malade.

Le chiffre de catalase est généralement parallèle à celui des leucocytes selon TROMMSDORF, un chiffre de catalase élevé correspond à un fonctionnement anormal de la glande mammaire. Il faut cependant remarquer que la présence de sang, même en traces, augmente considérablement le chiffre de catalase, l'examen du culot de centrifugation montre facilement si c'est le sang ou les leucocytes qui dominant. Nous eûmes l'occasion d'observer un lait qui donnait un chiffre de catalase très élevé (87) et dont le chiffre réfractométrique et l'essai à l'alizarine étaient normaux. L'examen du sédiment de centrifugation montrait la présence et prédominance de sang. Une enquête ultérieure montra que la présence de sang était accidentelle. Les bactéries lactiques ne donnent, en général, pas de catalase, le chiffre de catalase d'un yoghourt, par exemple, n'est pas plus élevé que celui d'un lait normal, frais ; il est parfois nul.

Pour illustrer la rapidité des conclusions qu'on peut tirer de ces essais préliminaires, citons le cas d'un fromager qui, en 1913, ayant constaté depuis quelque temps des troubles dans sa fabrication, nous apporta un matin, vers 8 heures, 40 échantillons de lait prélevés à 4 heures lors de l'apport des sociétaires de la fruitière (distante d'environ 15 kilomètres de Genève). Chaque échantillon portait le











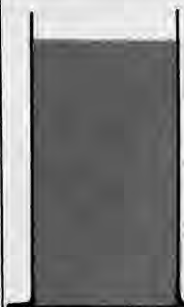

# Tableau des Teintes obtenues avec la Solution alcoolique d'Alizarine, pour apprécier la nature de l'altération et le degré d'acidité approximatif d'un lait (d'après G. Morres)

S indique l'acidité en degrés Soxhlet et D l'acidité en degrés Dornic, le lait étant conservé à la température de 20°

## Préparation de la Solution et Mode d'Emploi

Amener, par dilution avec de l'eau, l'alcool neutre à 68°. Verser dans un litre d'alcool à 68°, 1,5-2 gr. d'alizarine en poudre, agiter et laisser reposer. Après 6-12 heures, filtrer. Si le filtrat n'a pas la teinte désirée (vieux bordeaux), ajouter quelques gouttes de soude N/10 ou d'acide N/10, agiter. Continuer l'addition jusqu'à obtention de la teinte "Normale".

Emploi : Mélanger dans une éprouvette 3 cm<sup>3</sup> lait et 3 cm<sup>3</sup> de la solution d'alizarine, observer la teinte et la coagulation du liquide, comparer avec la gamme 1-10.

 <p><b>Teinte Normale</b> de la solution d'alizarine</p>	 <p><b>3° Rouge-brun 9°S = 20°D env.</b> <b>L'acidification se développe</b> Précipitation en flocons fins ou très fins. Résistera à la cuisson pendant 3 1/2-5 h. Coagulera spontanément après 7 1/2-9 1/2 heures. Si la teinte est plus sombre et le précipité plus abondant et grossier : fermentation mixte (lactique et "caséuse"). Valeur marchande : discutable.</p>	 <p><b>7° Jaune-brun 14°S = 31°D env.</b> <b>Le lait a dépassé la limite de résistance à la cuisson</b> Précipitation en gros flocons. Ne résistera plus à la cuisson. Coagulera spontanément après 1 1/2-3 heures. Odeur et saveur : acides.</p>
 <p><b>Teinte Normale</b> de la solution d'alizarine</p>	 <p><b>4° Brun-rouge 10°S = 22°D env.</b> <b>L'acidification continue</b> Précipitation en flocons fins. Résistera à la cuisson pendant 1 1/2-3 h. Coagulera spontanément après 6-7 1/2 h. Si la teinte est plus sombre et le précipité plus abondant et grossier : fermentation mixte.</p>	 <p><b>8° Jaune 16°S = 36°D env.</b> <b>Le lait approche de la coagulation spontanée</b> Coagulation en très gros flocons. Coagulera par chauffage modéré. Coagulera spontanément après 1 1/2 heure au maximum. Odeur et saveur : acides.</p>
 <p><b>1° Rouge-lilas 7°S = 16°D env.</b> <b>Lait normal frais</b> Pas de précipitation. Ne coagulera pas à l'ébullition avant 7 heures. Ne coagulera pas spontanément avant 12 heures.</p>	 <p><b>5° Brun 11°S = 25°D env.</b> <b>Stade critique</b> Précipitation en flocons plus ou moins grossiers. Résistera à la cuisson pendant 1/2-1 heure. Coagulera spontanément au bout de 4 1/2-6 heures.</p>	 <p><b>9° Rouge-foncé 7°-8°S = 16°-18°D env.</b> <b>Coagulation "caséuse" avancée</b> Coagulation en gros ou très gros flocons. Coagulera au premier chauffage et très vite spontanément. Saveur : douce. Valeur marchande : très douteuse.</p>
 <p><b>2° Rose 8°S = 18°D env.</b> <b>Premier stade d'acidification</b> Pas de précipitation; tout au plus, flocons très fins. Coagulera spontanément après 9 1/2-12 heures. Résistera à la cuisson pendant 5-7 heures.</p>	 <p><b>6° Brun-jaune 12°S = 27°D env.</b> <b>Le lait à atteint la limite de résistance à la cuisson</b> Précipitation en gros ou très gros flocons. Coagulera à l'ébullition. Coagulera spontanément après 3-4 1/2 heures. Odeur acide, mais saveur encore douce.</p>	 <p><b>10° Violet 8°-9°S = 18°-20°D env.</b> <b>Lait dit "alcalin", riche en sels alcalins</b> Précipitation en flocons très fins. Lait salé, de constitution anormale impropre à la consommation comme boisson; impropre à la fromagerie.</p>

numéro d'ordre et le nombre de vaches du sociétaire. Il fallait qu'à 11 heures, le fromager sût quels étaient les laits suspects, afin de prévoir les prélèvements dans les étables sur le lait de chaque vache individuellement. A l'heure indiquée, les renseignements lui furent fournis. Le lendemain matin, il apportait les échantillons munis chacun du N° du sociétaire et du N° de la vache. Vers 11 heures, on put lui indiquer les vaches produisant un lait anormal ne devant pas être employé à la fabrication du fromage.

Nous ne citerons que quelques types de laits normaux, mais, en revanche, tous ceux qui furent contestés.

N° du Sociétaire	Nombre de vaches	Chiffre réfractométrique	Chiffre de catalase	Alcool alizarine
V 1	1	39,0	13	rose lilas
V 17	9	39,3	18	—
A 1	12	38,7	17	—
B 18	6	38,9	9	—
V 14	2	37,8	20	violacé.
A 9	1	40,1	12	rouge brique, dépôt
A 2	9	39,0	25	violacé.
B 20	1	38,3	21	violet, léger coagul.
B 22	1	38,5	29	rouge brique, dépôt.

Les échantillons A 9 et B 20 de laits individuels sont condamnés à cause de la teinte rouge brique de l'essai à l'alizarine, B 22 a cependant un chiffre de catalase trop élevé, B 20 est anormal, comme lait individuel par la réfraction, la catalase et surtout par le résultat à l'alcool-alizarine. V 14 lait mélangé de 2 vaches a une réfraction trop basse; A 2 lait mélangé de 9 vaches a un chiffre de catalase trop élevé, il doit y avoir parmi les 9 vaches quelques vaches à lait anormal.

CONCLUSION : Interdire l'apport du lait à la fromagerie aux sociétaires A 9, B 20 et B 22. Ordonner le prélèvement à l'étable chez les sociétaires A 2 et V 14.

Le prélèvement à l'étable donna les résultats suivants :

N° du Sociétaire	N° de la vache	Chiffre réfractométrique	Chiffre de catalase	Alcool alizarine
V 14	1	38,6	8	rose.
»	2	37,0	43	lilas violet.
A 2	2	39,1	12	rose lilas.
»	4	39,1	10	—
»	5	38,9	21	—
»	7	39,3	50	rouge coagulé.
»	8	38,5	20	rose lilas.
»	9	40,1	7	—
»	10	38,5	22	violet.
»	11	39,0	15	rose lilas.
»	12	40,8	42	violet foncé.

CONCLUSION : Le lait de la vache N° 2, Sociétaire V 14, des vaches N°s 7, 10 et 11, Sociétaire A 2, est anormal et ne doit pas être employé à la fabrication du fromage.

Le même procédé peut être employé pour la recherche des laits anormaux dans les étables produisant du lait spécial pour nourrissons.

EXEMPLE : Etable P. à V., 8 mai 1922, 24 échantillons de laits individuels.

Chiffre réfractométrique	Chiffre de catalase	Alcool alizarine	Nom de la vache
39,4	3	normal (rose lilas).	Canari.
40,0	9	—	Comtesse.
40,7	7	—	Mignonne.
38,0	75	violet.	Fleurette.
39,0	24	violacé.	Baronne.

Le lait des vaches Fleurette et Baronne est anormal (chiffre trop élevé de catalase, teinte anormale à l'essai à l'alizarine). Il est impropre à la consommation et la vente doit en être interdite.

Si l'on veut pousser les recherches plus à fond, on ordonne alors

le prélèvement sur le lait de chaque quartier. On aura dans le cas ci-dessus :

Chiffre réfractométrique	Chiffre du catalase	Alcool alizarine	Quartier	Nom de la vache	
39,5	10	normal	droit-ant.	Baronne	
39,5	15	—	— post.		
39,5	15	—	g. ant.		
38,2	60	rose foncé	g. post.	Fleurette	
38,5	25	rose	d. ant.		
37,3	130	violacé	d. post.		
37,7	53	rose	g. ant.		
37,5	130	violacé	g. post.		
					streptocoques, 0,3 % leucocytes, — ,4,0 —

Le quartier g. ant. de la vache Baronne, les quartiers postérieurs droit et gauche et antérieur gauche de la vache Fleurette sont malades. Le propriétaire de l'étable est alors invité à faire visiter ces deux vaches par le vétérinaire. Lorsque ce dernier a entrepris un traitement et qu'il estime le lait redevenu normal, des échantillons sur le produit de la traite de chaque quartier individuellement sont prélevés. Si l'analyse montre que le lait est normal, la vente ou la mise dans le commerce sont autorisées à nouveau.

Par ces quelques exemples, on voit qu'il est possible de trier très rapidement les laits en normaux et suspects ou anormaux. On peut alors procéder à une étude plus approfondis des laits anormaux (essai au lactofermentateur, réductase, examen microscopique du sédiment de centrifugation, dosages chimiques divers, etc...). On peut ainsi avec un personnel réduit contrôler très fréquemment le lait au point de vue hygiénique.

**NOTE SUR LA RICHESSE BACTÉRIENNE  
D'UN LAIT RECUEILLI ASEPTIQUEMENT  
ET CONSERVÉ A TEMPÉRATURE BASSE  
DANS DES BOÎTES THERMOS.**

M. Jules RENAULT,  
Médecin de l'Hôpital Saint-Louis  
(Annexe Grancher).

par

M. Pierre-Paul LÉVY,  
Chef de Laboratoire des Hôpitaux.

La teneur en bactéries d'un lait recueilli sans précautions — ce qui est malheureusement le cas le plus habituel — et non soumis à la