



ÉTUDE COMPARATIVE DE L'ÉPREUVE DE LA RECHERCHE DES BACTÉRIES " INDOLOGÈNES" ET DE L'ÉPREUVE DU DÉNOMBREMENT DES BACTÉRIES "COLIFORMES " EN GÉLOSE AU DESOXYCHOLATE POUR LE CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE DU LAIT PASTEURISÉ

D. Basille, G. Thieulin

► To cite this version:

D. Basille, G. Thieulin. ÉTUDE COMPARATIVE DE L'ÉPREUVE DE LA RECHERCHE DES BACTÉRIES " INDOLOGÈNES" ET DE L'ÉPREUVE DU DÉNOMBREMENT DES BACTÉRIES "COLIFORMES " EN GÉLOSE AU DESOXYCHOLATE POUR LE CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE DU LAIT PASTEURISÉ. *Le Lait*, 1960, 40 (397), pp.369-381. <hal-00928269>

HAL Id: hal-00928269

<https://hal.science/hal-00928269v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

D. BASILLE et G. THIEULIN.
— Etude comparative de
l'épreuve de la recherche
des bactéries indologènes
et de l'épreuve du dénom-
brement des bactéries coli-
formes en gelose au desoxy-
cholate, pour le contrôle
bactériologique du lait pas-
teurisé 369

C. TOMA et E. MELEGHI. —
Contributions au problème
de la fabrication du « cash-
caval Penteleu » 382

S. KUZDZAL-SAVOIE et W.
KUZDZAL. — La recherche
du lait de vache ajouté au
lait de chèvre. Application
au cas du fromage 393

REVUE :

G. GÉNIN. — L'industrie lai-
tière dans le monde 407

Bibliographie analytique :

1^o Les livres 415
2^o Journaux, Revues, Sociétés
savantes 421
3^o Brevets 453

Bulletin bibliographique :

1^o Les livres 457
2^o Journaux, Revues, Sociétés
savantes 459
3^o Brevets 465

Documents et informations :

Panorama du lait à travers les
âges. Histoire d'un succès
en laiterie 469
Effectifs des animaux de
ferme au 1^{er} octobre 1959 . . 476
Appareils de refroidissement
du lait à la ferme en Nor-
vège 476
Consommations comparées
du Royaume-Uni en
beurre, fromage et mar-
garine en 1951 et en 1958 . . 477
L'industrie laitière néo-zélan-
daise au cours des années
1953-1958 477
Vente de la crème glacée aux
Etats-Unis en 1958 478
Teneur en matière grasse du
lait de consommation en
nature 478
Strontium 90 479
Communiqués 479

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

ÉTUDE COMPARATIVE DE L'ÉPREUVE DE LA RECHERCHE DES BACTÉRIES « INDOLOGÈNES » ET DE L'ÉPREUVE DU DÉNOMBREMENT DES BACTÉRIES « COLIFORMES » EN GÉLOSE AU DESOXYCHOLATE POUR LE CONTRÔLE BACTÉRIOLOGIQUE DU LAIT PASTEURISÉ

par

D. BASILLE et G. THIEULIN

Le traitement de la pasteurisation, appliqué à l'origine au vin et
à la bière, fut, à ses commencements, une méthode destinée à amé-

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

liorer la conservation de ces boissons par la destruction des ferments indésirables. C'est en vue du même résultat que le procédé fut, ensuite, appliqué au lait, mais les observations de Theobald Smith ne tardèrent pas à montrer que l'opération apportait un autre bénéfice et non des moindres : l'effet de la pasteurisation ne se limite pas à la destruction de nombreux ferments responsables des altérations du lait ; les germes pathogènes sont, eux aussi, tués. La pasteurisation est, à la fois, un procédé de conservation et un procédé d'assainissement du lait.

Pour que ce double bénéfice puisse être escompté, deux conditions sont nécessaires : 1° que le lait ait reçu une suffisante quantité de chaleur ; 2° qu'après avoir été correctement chauffé il n'ait pas été gravement ou dangereusement recontaminé.

Pour savoir si le lait a été suffisamment exposé à la chaleur on dispose d'un test simple et commode : l'épreuve de la phosphatase. L'inactivation de cette diastase est le gage de la destruction des germes pathogènes initialement contenus dans le lait cru. Complémentairement, l'absence de phosphatase alcaline dans le lait chauffé nous assure que ce lait a échappé à la plus redoutable des causes de recontamination : le contact avec un lait cru.

Il est cependant d'autres sources éventuelles de recontamination. Il n'est évidemment pas possible de détecter spécifiquement, dans un lait pasteurisé, tous les contaminants susceptibles d'avoir été apportés par des pollutions postérieures au traitement thermique. Pour mettre en évidence ces recontaminations, on se bornera à en rechercher les témoins les plus significatifs, c'est-à-dire un groupe de bactéries qui, étant détruites par la pasteurisation, ne doivent pas se rencontrer dans un lait correctement pasteurisé à sa sortie du pasteurisateur et qui, étant généralement présentes sur les surfaces des appareils, ustensiles ou récipients souillés, ont toutes les chances de se trouver dans les laits pasteurisés qui seraient entrés en contact avec ces surfaces.

Dans le monde entier, c'est le groupe des *bactéries coliformes* qui a été choisi comme le témoin des recontaminations du lait pasteurisé. La législation française a d'abord adopté ce même critère : le décret du 26 avril 1939 stipulait que un ml de lait pasteurisé conditionné (dénommé alors, lait pasteurisé certifié) ne devait pas contenir de bactérie coliforme. Le protocole opératoire fixé pour cette épreuve devait être précisé par un arrêté ultérieur qui n'est jamais paru. Le décret du 21 mai 1955 a substitué le groupe des *indologènes* à celui des *coliformes* en édictant que un ml de lait pasteurisé conditionné ne devait pas contenir de germe indologène.

L'adoption de cette norme n'a certainement pas été dictée par le caprice ou par une volonté de particularisme. En fait l'épreuve

de la recherche des indologènes avait depuis longtemps été couramment appliquée en France, avec des modalités variables et des résultats excellents, au contrôle bactériologique des eaux et des produits alimentaires. On peut donc penser que c'est un souci d'unité qui l'a fait préférer à l'épreuve du dénombrement des coliformes pour le dépistage des recontaminations du lait pasteurisé mais on peut regretter qu'une étude comparative poussée n'ait pas été entreprise préalablement à toute décision. Il est juste d'ajouter, toutefois, qu'à l'époque où fut élaboré le projet qui devait aboutir à cette décision, il n'était pas facile de se procurer, en France, les produits qui eussent permis le dénombrement des *coliformes* par des cultures en milieux sélectifs gélosés.

L'épreuve des coliformes possède sur celle des indologènes, dans l'état actuel de la technique, l'incontestable avantage de pouvoir être exécutée par cultures en milieux solides, et, par conséquent, de fournir des résultats qui s'expriment par un dénombrement de colonies visibles, identifiables. Ces informations nuancées sont indispensables à qui veut suivre de près les variations de la qualité d'une fourniture au cours d'une année : elles permettent de savoir immédiatement, par un simple rapprochement de chiffres, si la qualité d'une fourniture non-conforme est en voie d'amélioration ou de détérioration. De plus, les cultures en milieux solides fixent, en une image nette et stable, un moment de la population bactérienne de l'échantillon examiné. Les colonies microbiennes peuvent être prélevées séparément, purifiées, identifiées. La méthode permet donc un recensement spécifique des contaminants. Ce recensement peut, parfois, apporter des lumières sur la gravité et même sur l'origine des contaminations. Au contraire, les cultures en milieux liquides sacrifient toute possibilité ultérieure de connaître quelles étaient les proportions respectives de chaque espèce de contaminants dans l'inoculum : la culture issue de l'inoculum n'est plus qu'une image déformée et mouvante de l'état initial de la flore microbienne de l'échantillon.

Dans le cadre des investigations recommandées par la Commission de Bactériologie du Centre National d'Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation, nous avons entrepris, en collaboration avec plusieurs laboratoires français et un laboratoire tunisien, de confronter l'épreuve de la recherche des indologènes et celle du dénombrement des coliformes du lait pasteurisé et d'en comparer les résultats.

Pour l'épreuve de la recherche des indologènes, les laboratoires ont mis en œuvre le protocole officiel fixé par l'arrêté ministériel du 2 juin 1955 sauf sur un point : dans certains laboratoires on ne procède pas systématiquement au repiquage de contrôle des cultures

indol-négatives. Il est possible qu'il en soit résulté un léger déficit dans le nombre des résultats positifs à l'épreuve des indologènes, rendant ainsi cette méthode un peu moins sévère et contribuant d'autant à faire paraître par comparaison, plus sévère l'épreuve des coliformes. L'épreuve du dénombrement des coliformes a été effectuée selon deux modalités différentes : certains laboratoires ont employé le milieu « désoxycholate agar Difco n° 273 » ; d'autres ont utilisé le « désoxycholate *lactose* agar Difco n° 420 ». Les résultats comparés sont très différents selon que l'épreuve est réalisée selon l'une ou l'autre modalité : ils seront exposés séparément pour chacune des deux techniques.

Comparaison entre l'épreuve de la recherche des indologènes et l'épreuve du dénombrement des coliformes en désoxycholate agar Difco n° 273.

Dans un rapport présenté en 1957 devant la Commission de Bactériologie du Centre National d'Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation nous relations les résultats d'une étude comparative entre ces deux méthodes appliquées conjointement à 3.079 échantillons de lait pasteurisé conditionné. Nous avons obtenu 35% de résultats positifs à l'épreuve des indologènes et 37,3% de résultats positifs à l'épreuve des coliformes avec le milieu « désoxycholate agar Difco n° 273 », soit une discordance globale (1) de + 2,3% à l'actif de l'épreuve des coliformes, ce qui signifie que, sur 100 échantillons examinés, les cultures en désoxycholate-agar détectaient 2 à 3 échantillons contaminés *de plus* que n'en détectait l'épreuve des indologènes.

Parmi les laboratoires ayant répondu à notre demande de collaboration un certain nombre avaient utilisé le « désoxycholate agar Difco n° 273 », à savoir :

— Le laboratoire de la Coopérative Laitière Centrale de Paris, qui examina 8.289 échantillons et trouva un taux de discordance globale de + 1,8% à l'actif de l'épreuve des coliformes,

— Le laboratoire de l'Institut Arloing de Tunis qui, sur 686 échantillons examinés trouva une discordance globale de — 3% au passif de l'épreuve des coliformes. C'est le seul cas où un laboratoire ait trouvé l'épreuve des coliformes moins sévère que celle des indologènes.

— Le laboratoire des Services Vétérinaires du Département de la Drôme qui réalisa l'étude comparative sur 916 échantillons et

(1) Le taux de discordance globale indique l'excédent (signe +) ou le déficit (signe —) du % de résultats positifs à l'épreuve des coliformes par rapport au % de résultats positifs à l'épreuve des indologènes.

trouva une discordance globale de + 3,5% à l'actif de l'épreuve des coliformes,

— D'autres laboratoires, de St-Etienne, de Mont-de-Marsan, de Rennes, qui nous ont transmis également des résultats portant sur un nombre d'échantillons moindre que les laboratoires antérieurement cités.

Au total sur 13.696 résultats recensés, 4.216 échantillons de lait pasteurisé étaient positifs à l'épreuve des indologènes et 4.568 échantillons étaient positifs à l'épreuve des coliformes (nombre de coliformes par ml de lait égal ou supérieur à une bactérie), soit une discordance globale de + 2,5% ce qui répète, à 0,2% près, le chiffre que nous avons mentionné dans notre rapport préliminaire. On peut en conclure que, à norme égale, l'adoption de l'épreuve des coliformes en « désoxycholate-agar formule Difco n° 273 » pénaliserait globalement deux à trois échantillons de lait sur 100 échantillons analysés.

A la rigueur, cette légère augmentation de sévérité du contrôle pourrait être acceptée, et on pourrait envisager la substitution à norme égale c'est-à-dire « absence de coliformes dans un ml de lait » Cependant, considérant que la « norme-indologènes » est déjà une norme sévère, si l'on veut bien se souvenir qu'elle est exigible jusqu'au moment de la remise du lait au consommateur, c'est-à-dire 58 heures après la pasteurisation dans le cas où jouerait au maximum le délai limite prévu par l'article 13 du décret du 21 mai 1955, il serait sans doute préférable de ne pas aggraver la rigueur du contrôle et de compenser l'augmentation de sévérité qui résulterait de la substitution, par un très léger assouplissement de la norme en tolérant au maximum un germe coliforme par ml de lait.

Comparaison entre l'épreuve de la recherche des indologènes et l'épreuve du dénombrement des coliformes en désoxycholate lactose agar nouvelle formule Difco n° 420.

Le nouveau milieu ne contient que 0,05% de désoxycholate de sodium au lieu de 0,1% dans l'ancienne formule employée dans l'étude dont nous venons de rapporter les résultats ci-dessus. Le nouveau milieu est moins sélectif, autrement dit plus sensible que l'ancien. Il dénonce un grand nombre de petites recontaminations bénignes qui n'étaient pas révélées par l'ancien milieu et ne le sont pas non plus par l'épreuve actuellement en vigueur de la recherche des indologènes.

Quinze laboratoires ont pris part à cette étude, à savoir :

1. Le laboratoire de la Direction des Services Vétérinaires de l'Indre.

2. Le laboratoire des Services Vétérinaires de la Ville de St-Etienne.
3. Le laboratoire Départemental et Régional de Biologie de l'Hygiène de Caen.
4. Le laboratoire de la Direction des Services Vétérinaires du Morbihan.
5. Le laboratoire de la Station Agronomique de Seine et Marne.
6. Le laboratoire de Biologie Médicale et de Chimie de Mulhouse.
7. Le laboratoire Municipal de Clermont-Ferrand.
8. Le laboratoire de la Station Agronomique de Bordeaux.
9. Le laboratoire Municipal de Brest.
10. Le laboratoire de la Station Agronomique de Chartres.
11. Le laboratoire Municipal de Lille.
12. Le laboratoire Vétérinaire Départemental des Abattoirs de Valence.
13. Le laboratoire de l'Ecole de Laiterie de Nancy.
14. Le laboratoire de la Direction des Services Vétérinaires de la Moselle.
15. Le laboratoire du Lait et des Produits Laitiers des Services Vétérinaires Sanitaires de la Ville de Paris et du Département de la Seine.

Tous ces laboratoires ont utilisé, pour le dénombrement des coliformes, le désoxycholate lactose agar nouvelle formule n° 420 Difco. Les résultats de l'enquête sont détaillés dans les trois tableaux suivants.

TABLEAU I. — Ce tableau résume les réponses de chacun des laboratoires. Pour éviter une complication inutile, la colonne 4 n'a pas été divisée en tranches correspondant à l'ordre de grandeur du nombre de coliformes. Les valeurs utilisées pour la recherche d'une norme peuvent être facilement déduites de la confrontation des chiffres des tableaux I et III.

Le tableau I montre que sur 6.489 échantillons analysés conjointement par les deux méthodes :

2.937 ont donné des résultats concordants négatifs.

1.655 ont donné des résultats concordants positifs

211 ont donné des résultats discordants à l'actif de l'épreuve des indologènes.

1.686 ont donné des résultats discordants à l'actif de l'épreuve des coliformes.

Au premier coup d'œil, nous voyons que les résultats discordants dans un sens et dans l'autre sont loin de se balancer et que l'épreuve des coliformes avec le nouveau milieu, serait à norme égale, beaucoup plus sévère que l'épreuve des indologènes.

TABLEAU I

RÉSULTATS COMPARÉS DES ÉPREUVES DE LA RECHERCHE DES INDOLOGÈNES ET DU DÉNOMBREMENT DES COLIFORMES EN DÉSORYCHOLATE LACTOSE AGAR 420 DIFCO, EXÉCUTÉES CONJOINTEMENT SUR 6.489 ÉCHANTILLONS DE LAIT PASTEURISÉ A PARTIR DE 1 ML DE LAIT

Laboratoire	Nombre d'exa- mens comparés	Nombre d'échantillons ayant donné les combinaisons de résultats ci-dessous ;						
		I —	I +	I +	I — et $C \geq 1$			
		C = 0	$C \geq 1$	C = 0	$1 \leq C \leq 5$	$5 < C \leq 10$	$C > 10$	Total
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Paris S V S ..	1.560	973	215	16	223	51	82	356
Chateauroux ..	108	34	57	0	14	3	0	17
Saint-Etienne ..	510	209	108	41	110	18	24	152
Caen	949	408	183	40	135	29	154	318
Vannes	74	28	29	2	8	0	7	15
Melun	320	119	73	6	54	17	51	122
Mulhouse	376	127	127	17	56	18	31	105
Clermont-								
Ferrand	493	220	119	0	42	20	92	154
Bordeaux	53	12	13	1	18	2	7	27
Brest	175	34	89	3	24	9	16	49
Chartres	368	171	64	9	81	17	26	124
Lille	87	61	14	2	9	1	0	10
Valence	342	150	167	4	21	0	0	21
Nancy	753	324	192	64	122	17	34	173
Metz	321	67	205	6	28	7	8	43
<i>Totaux</i>	6.489	2.937	1.655	211	945	209	532	1.686

I + ou I — : présence ou absence de germes indologènes dans 1 ml de lait.

C : nombre de germes désorycholate + dans 1 ml de lait.

TABLEAU II. — Le tableau II rend compte du taux de discordance absolue et du taux de discordance globale entre les deux méthodes.

Discordance absolue. — Le taux de discordance absolue indique, pour 100 échantillons analysés, le nombre d'échantillons ayant donné des résultats contradictoires aux deux épreuves, dans un sens ou dans l'autre (I + et C = 0, ou I — et $C \geq 1$). Il s'agit de discordances concrètes, localisables, portant sur des échantillons identifiables, au contraire de la discordance globale ou statistique que nous allons examiner maintenant et qui ne ressort que de la comparaison des nombres.

TABLEAU II

ÉTUDE DE LA DISCORDANCE ABSOLUE ET DE LA DISCORDANCE GLOBALE ENTRE LES RÉSULTATS DES ÉPREUVES DE LA RECHERCHE DES INDOLOGÈNES ET DU DÉNOMBREMENT DES COLIFORMES EN DÉSORYCHOLATE LACTOSE AGAR 420 DIFCO, EXÉCUTÉES CONJOINTEMENT SUR 6.489 ÉCHANTILLONS DE LAIT PASTEURISÉ A PARTIR DE 1 ML DE LAIT, EN SUPPOSANT LA NORME IDENTIQUE POUR CHACUNE DES DEUX ÉPREUVES (ABSENCE DE GERMES INDOLOGÈNES OU COLIFORMES DANS 1 ML DE LAIT)

Laboratoire	Nombre d'échan- tillons analysés	Nombre de résultats discordants I+ et C=O ou I — et C ≥ 1	Discordance absolue	Nombre de résultats I +	Nombre de résultats C ≥ 1	Discordance globale
1	2	3	4	5	6	7
Paris S V S	1.560	372	24 %	231	571	+ 22 %
Chateauroux	108	17	16 %	57	74	+ 16 %
Saint-Etienne	510	193	38 %	149	260	+ 22 %
Caen	949	358	38 %	223	501	+ 29 %
Vannes	74	17	23 %	31	44	+ 18 %
Melun	320	128	40 %	79	195	+ 36 %
Mulhouse	376	122	32 %	144	232	+ 23 %
Clermont-Ferrand ..	493	154	31 %	119	273	+ 31 %
Bordeaux	53	28	53 %	14	40	+ 49 %
Brest	175	52	30 %	92	138	+ 26 %
Chartres	368	133	36 %	73	188	+ 31 %
Lille	87	12	14 %	16	24	+ 9 %
Valence	342	25	7 %	171	188	+ 5 %
Nancy	753	237	31 %	256	365	+ 14 %
Metz	321	49	15 %	211	248	+ 12 %
<i>Totaux</i>	6.489	1.897	29 %	1.866	3.341	+ 23 %

Discordance globale ou statistique. — Les bactéries de contamination sont des objets dont la distribution dans un volume de lait obéit aux lois de la probabilité. Si les échantillons de lait analysés étaient tous stériles, les résultats des deux épreuves seraient évidemment tous concordants et négatifs. Ils seraient également concordants, mais positifs, si tous les échantillons étaient massivement pollués. Mais, dans la pratique, les contaminations affectant le lait pasteurisé sont le plus souvent discrètes, à la limite de la norme. Il est inévitable que dans ces conditions des divergences apparaissent dans les résultats des deux épreuves. Elles apparaîtraient même si les deux épreuves étaient de sensibilité identique, même si la seconde épreuve n'était que la répétition de la première.

Supposons qu'un litre de lait pasteurisé renferme 500 germes indologènes. Supposons même que, par miracle, ces 500 germes se trouvent uniformément distribués dans la masse de lait à raison de 1 germe pour 2 ml de lait. En prélevant 1 ml de ce lait nous avons une chance sur deux de récolter un germe indologène. Si nous exécutons, à partir de cet échantillon deux cultures consécutives en eau peptonée pour la recherche des indologènes, en inoculant chaque tube avec 1 ml de lait, quatre types de combinaisons de résultats peuvent apparaître chacune ayant une probabilité égale de se produire :

Première épreuve	Deuxième épreuve
1 +	1 +
1 +	1 —
1 —	1 +
1 —	1 —

Pour évaluer la part de discordance absolue due au hasard et celle qui peut être attribuée à une différence de sévérité des deux épreuves de détection des contaminants mises en comparaison, il faut calculer le pourcentage de discordance globale ou statistique, c'est-à-dire pour 100 échantillons analysés, la différence entre le nombre de résultats positifs de l'épreuve des coliformes et le nombre de résultats positifs de l'épreuve des indologènes.

Si les deux épreuves sont de sévérité égale, les variations dues au hasard se compenseront, à condition que la statistique embrasse un grand nombre d'essais. Nous aurons un taux de discordance globale voisin de 0%. Si, au contraire, l'épreuve des coliformes est plus sévère que celle des indologènes, la compensation ne s'effectuera pas complètement : il y aura un excès de résultats positifs à l'actif de l'épreuve des coliformes. Nous obtiendrons un taux de discordance globale positif qui indiquera le pourcentage d'échantillons qui seraient pénalisés si l'on substituait cette méthode à celle des indologènes. Si, enfin, l'épreuve des coliformes était moins sévère que celle des indologènes, elle donnerait, par rapport à celle-ci un déficit de résultats positifs, autrement dit un excédent de résultats négatifs. Nous aurions un taux de discordance globale négatif.

TABLEAU II. — Dans le tableau II, la colonne 4 nous montre que, sur 6.489 échantillons de lait pasteurisé, 29% des échantillons ont donné des résultats contradictoires dans un sens ou dans l'autre, l'épreuve des coliformes se montrant, dans certains cas, plus sévère et, dans d'autres cas, moins sévère que celle des indologènes. Mais la colonne 7 nous enseigne que tous les laboratoires participant à l'expérience ont trouvé statistiquement l'épreuve des coli-

formes plus sévère et que cet excès de sévérité aurait pénalisé globalement 23% des échantillons analysés si l'épreuve des coliformes avait remplacé l'épreuve des indologènes avec la norme « absence de coliformes dans 1 ml de lait ».

TABLEAU III. — Le tableau III indique les taux de discordance absolue et de discordance globale entre les résultats des deux épreuves dans l'hypothèse où eût été adoptée une norme « coliformes » telle que « nombre de coliformes par ml de lait inférieur ou égal à 5 ».

Nous voyons, colonne 4, que 21% des échantillons au lieu de 29%, ont donné des résultats contradictoires aux deux épreuves. Mais, cette fois les discordances dans un sens et dans l'autre se balancent, puisque la colonne 7 nous enseigne que sur 100 échan-

TABLEAU III

ÉTUDE DE LA DISCORDANCE ABSOLUE ET DE LA DISCORDANCE GLOBALE ENTRE LES RÉSULTATS DES ÉPREUVES DE LA RECHERCHE DES INDOLOGÈNES ET DU DÉNOMBREMENT DES COLIFORMES EN DÉSORYCHOLATE LACTOSE AGAR 420 DIFCO, EXÉCUTÉES CONJOINTEMENT SUR 6.489 ÉCHANTILLONS DE LAIT PASTEURISÉ A PARTIR DE 1 ML DE LAIT EN SUPPOSANT QUE LES NORMES ADOPTÉES SOIENT RESPECTIVEMENT : 1) ABSENCE D'INDOLOGÈNES DANS 1 ML DE LAIT ; 2) NOMBRE DE GERMES DÉSORYCHOLATE PAR ML DE LAIT INFÉRIEUR OU ÉGAL A 5

Laboratoire	Nombre d'échan- tillons analysés	Nombre de résultats discordants I + et C ≤ 5 I — et C > 5	Discordance absolue	Nombre de résultats I +	Nombre de résultats C > 5	Discordance globale
1	2	3	4	5	6	7
Paris S V S	1.560	205	13 %	231	276	+ 3 %
Chateauroux	108	16	15 %	57	47	— 9 %
Saint-Etienne	510	130	25 %	149	52	— 19 %
Caen	949	270	28 %	223	279	+ 6 %
Vannes	74	12	16 %	31	31	0 %
Melun	320	84	26 %	79	125	+ 14 %
Mulhouse	376	98	26 %	144	127	— 5 %
Clermont-Ferrand ..	493	120	24 %	119	223	+ 28 %
Bordeaux	53	11	21 %	14	20	+ 11 %
Brest	175	43	25 %	92	96	+ 2 %
Chartres	368	75	20 %	73	75	+ 1 %
Lille	87	11	13 %	16	8	— 9 %
Valence	342	46	13 %	171	121	— 15 %
Nancy	753	181	24 %	256	113	— 19 %
Metz	321	36	11 %	211	199	— 4 %
<i>Totaux</i>	6.489	1.338	21 %	1.866	1.792	— 1 %

tillons analysés l'épreuve des coliformes nous a donné un seul résultat positif *de moins* que l'épreuve des indologènes au lieu de 23 résultats positifs *de plus*, étant bien entendu que dans ce cas « résultat positif » s'entend d'un dénombrement de plus de 5 coliformes par ml de lait. Si l'on tient compte de l'inévitable fluctuation due au hasard, qui rend improbable une compensation absolue des résultats discordants de l'un et l'autre signe, on peut en conclure que, statistiquement, l'épreuve des coliformes en desoxycholate lactose agar assortie de la norme « nombre de coliformes par ml de lait inférieur ou égal à 5 » est d'une sévérité sensiblement égale à l'épreuve des indologènes.

« Alors » nous dira-t-on, « si les deux épreuves sont de sévérité équivalente, pourquoi changer ? » — Ceux qui diront cela sont peut-être les mêmes qui disaient hier : « Le changement n'est pas possible puisque les deux épreuves sont de sévérité inégale. » Parler ainsi serait entendre le contrôle comme une simple distribution de blâmes ou de satisfecit sur des bases plus ou moins conventionnelles. Ce qui est important c'est de connaître toutes les contaminations, même bénignes, quitte à ne sanctionner que celles qui sont graves. Or, l'épreuve du dénombrement des coliformes en gélose au desoxycholate de la nouvelle formule, dite « améliorée » répond précisément à ce dessein.

Pourquoi changer ? Parce que *en diminuant la sévérité d'une épreuve extrêmement sensible, par l'artifice du relèvement de la norme, on ne diminuerait pas pour autant sa sensibilité*. Ce test nous permettrait d'explorer cette zone marginale des contaminations discrètes et tolérables, *comprises entre une et cinq bactéries « desoxycholate+ » par ml de lait* que l'épreuve des indologènes laisse trop souvent dans l'ombre. Il est très important de mettre en lumière ces contaminations bénignes parce qu'elles présagent généralement une détérioration ultérieure plus grave de la qualité hygiénique du lait pasteurisé alors que leur dépistage permettrait souvent de prendre à temps des mesures peu coûteuses et efficaces.

Citons un exemple où se révèle la supériorité de l'épreuve du dénombrement des coliformes en « desoxycholate lactose agar ». Les laits pasteurisés conditionnés en carafes de verre et les laits pasteurisés vendus en récipients de carton ou en sachets de matière plastique donnent, à l'épreuve des indologènes, des résultats, en moyenne, équivalents. On pourrait juger qu'ils sont de qualité identique. Pourtant, les cultures en « desoxycholate lactose agar » démontrent que les derniers renferment, bien plus souvent que les laits en carafe, quelques coliformes par ml. La comparaison est particulièrement démonstrative lorsque les deux laits proviennent

d'une même usine, c'est-à-dire lorsque toutes choses sont égales d'ailleurs. Même si les uns et les autres sont jugés acceptables, il n'est pas inutile de savoir que leur qualité bactériologique n'est pas équivalente et que les laits conditionnés en récipients de carton ou de plastique sont particulièrement à surveiller au point de vue des recontaminations postérieures à la pasteurisation. Seule l'épreuve des coliformes en « désoxycholate lactose agar » est appropriée à cette surveillance.

En résumé, l'adoption de l'épreuve du dénombrement des contaminants « désoxycholate + » du lait pasteurisé conditionné au moyen du « désoxycholate lactose agar, nouvelle formule » et avec la norme « nombre de germes désoxycholate + inférieur ou égal à 5 par ml de lait » aurait, entre autres avantages, celui de révéler, sans les pénaliser, les laits de qualité hygiénique « à la limite », qui requièrent une surveillance particulière. Ces laits fournissent près de 25% du nombre des échantillons contrôlés comme le montre le rapprochement des totaux des colonnes 7 des tableaux II et III. L'adoption de cette épreuve, en remplacement de la recherche des indologènes, n'aurait, statistiquement, aucune incidence sur la sévérité du contrôle.

L'obtention d'une production de lait pasteurisé conditionné conforme à la nouvelle norme constituerait, dans les conditions actuelles du marché, un objectif provisoire qui est encore loin d'être partout et toujours atteint. Il est permis d'espérer que la mise en œuvre d'une méthode aussi sensible que la détection des recontaminations au moyen des cultures en « désoxycholate lactose agar, nouvelle formule », en révélant aux industriels nombre de petites recontaminations actuellement méconnues aurait l'effet d'un avertissement sans frais qui les inciterait à redoubler de vigilance et de soins. On peut en escompter une amélioration progressive de la qualité bactériologique moyenne de l'approvisionnement. Et rien n'empêcherait de diminuer la tolérance lorsque les progrès espérés seraient acquis en fixant par simple arrêté une nouvelle norme plus rigoureuse jusqu'à l'objectif final : absence de germes « désoxycholate + » dans un ml de lait pasteurisé conditionné. Nous nous acheminerions ainsi, par paliers successifs, vers des exigences, certes légitimes, mais qui seraient actuellement illusoires.

Pareillement, la précision des indications fournies par ce système et la souplesse à laquelle il se prête dans le choix d'une norme pourraient éventuellement permettre de fixer des normes saisonnières, l'une moins rigoureuse pendant les trois mois d'été, l'autre plus sévère pour les neuf autres mois, ce qui, dans notre climat de saisons contrastées, serait plus en harmonie avec les possibilités réelles du commerce du lait pasteurisé. Une telle hypothèse ne manquera pas

de choquer les esprits qui considèrent l'épreuve de détection des recontaminations comme un rigoureux test de salubrité du lait pasteurisé à l'égal de l'épreuve de la phosphatase, oubliant que, s'il en était ainsi, ce n'est pas seulement dans un ml de lait qu'il conviendrait de rechercher les contaminants mais dans la totalité du volume de l'échantillon examiné. Ne constatons-nous pas actuellement qu'un plus grand nombre de manquements aux normes sont observés pendant les trois mois d'été que pendant les neuf autres mois de l'année ? Faut-il en conclure que la consommation du lait — (et *a fortiori* celle des fromages frais pour lesquels il n'existe aucune norme officielle en ce qui concerne le nombre d'indologènes ou de coliformes qu'ils peuvent contenir) — devrait être prohibée en été ?

Ce travail pourra servir de base expérimentale à un éventuel retour à une norme basée sur la recherche des contaminants du lait pasteurisé au moyen de cultures en « desoxycholate agar » ou, de préférence, en « desoxycholate lactose agar ». Et, dans l'hypothèse où serait maintenue la « norme-indologènes » actuellement en vigueur, cette étude aura au moins eu l'utilité de permettre une comparaison de la qualité bactériologique de nos laits pasteurisés conditionnés avec celle des laits étrangers. Ainsi, les chefs des laboratoires qui ont bien voulu y collaborer et que nous remercions bien vivement pourront-ils penser, qu'en tout état de cause, leur effort n'aura pas été vain.

Summary

In the hygienic testing of milk, several laboratories have compared on the one hand the investigation of indologenous bacteria, with, on the other, the enumeration of coliform bacteria, the latter according to two modalities :

a) by cultivation in « Desoxycholate Agar » (Formula B 273 Difco).

b) by cultivation in « Desoxycholate Lactose Agar » (Formula B 420 Difco).

By adopting the respective standards « absence of coliform bacteria in one ml of milk » and « absence of indologenous bacteria in one ml of milk », the application of test « a » penalised 2,5% of the 13.696 samples examined, whereas method « b » penalised 23% of the 6.489 samples analysed.

To replace the search for indologenous bacteria by test « b » (Formula B 420 Difco) without increasing the severity of the test, the following standard must be adopted : « number of coliform bacteria in one ml of milk, less than or equal to 5. »

The authors advocate this new standard.