

MANIPULATION ET TRAITEMENT DU LAIT À LA LAITERIE



LE CONTRÔLE DU LAIT À LA RÉCEPTION

C. K. JOHNS, B.S.A., M.Sc., Ph.D.*

Autrefois les services officiels se contentaient le plus souvent de veiller à ce que le lait ne soit pas mouillé. Bien que cette adultération continue à poser un problème, même dans les régions les plus développées, l'observation du rôle que peut jouer le lait dans la propagation des maladies a souligné la nécessité d'assurer l'innocuité des approvisionnements laitiers. La recherche régulière des germes pathogènes n'est pas pratiquement possible, mais il a semblé que plus la production et la manipulation du lait seraient faites avec soin, moins le consommateur courrait de danger. Aussi les méthodes mises au point par les bactériologistes médicaux pour contrôler les approvisionnements en eau — numération en boîtes de Pétri et dénombrement des coliformes — ont-elles été adaptées à l'évaluation de la qualité bactériologique du lait. Davis (1950) a dressé un inventaire des progrès successivement réalisés dans le contrôle bactériologique du lait jusqu'en 1950.

L'adoption généralisée de la pasteurisation ou d'autres traitements thermiques du lait a, dans une large mesure, levé l'inquiétude, surtout lorsqu'il s'agit d'approvisionnements destinés à être pasteurisés. Pour ces approvisionnements, les résultats des contrôles bactériologiques sont principalement considérés comme un indice du soin apporté à la production et à la manipulation du lait. Si le lait est consommé cru, les contrôles bactériologiques donnent aussi une indication — bien que peu précise — de la conservabilité probable du lait.

A de nombreux égards, la réception et le préposé à l'inspection du lait sont les éléments clés de la qualité du lait ou des produits laitiers. Ce préposé doit toutefois être aidé par le laboratoire de contrôle, d'une part, et par le service consultatif ou d'inspection à la ferme, d'autre part. Tous les établissements, sauf les plus petits, doivent être équipés d'un laboratoire, qui constitue le moyen le meilleur et le plus économique d'évaluer le soin apporté à la production et au traitement du lait. Ce laboratoire a souvent l'occasion de venir en aide au service consultatif ou d'inspection en lui indiquant la cause probable des numérations bactériennes anormalement fortes et en lui fournissant des preuves de cas de mammite, de mouillage, etc... Enfin, il

* Director, Dairy Technology Institute, Canada Department of Agriculture, Ottawa, Ont., Canada.

peut effectuer des analyses (teneur en matières grasses, solides totaux, etc.) pour déceler les approvisionnements inférieurs aux normes, ou pour déterminer le tarif de paiement.

Contrôles au quai de réception

Il s'agit de contrôles nécessairement rapides destinés à savoir si le lait présenté est acceptable ou doit être refusé. Une étude de la question a été publiée en 1952 par Clegg. Dans la plupart des pays laitiers, on se fie avant tout à l'odorat d'un réceptionniste bien entraîné. L'odeur du couvercle du bidon qu'il vient de déboucher lui permet de déceler toute anomalie provenant du fourrage, des mauvaises herbes, de l'étable ou d'un nombre excessif de bactéries. Dans certains pays, il goûte également le lait, mais ce procédé peut offrir quelque danger à moins qu'il ne soit avéré que le bétail est exempt de tuberculose et de toute autre affection bovine transmissible à l'homme. Il serait certes préférable de recourir à une épreuve plus objective, mais on ne dispose malheureusement d'aucun test qui n'exige pas quelque délai. Lorsque le producteur doit emmener ses bidons après la livraison, ce délai peut avoir de graves conséquences.

Le lait refroidi dans les cuves de vrac est si froid que la détection des odeurs ou arômes anormaux est difficile. Dans ce cas, le réchauffage d'un échantillon dans un chauffe-biberon ou dans un bol est utile.

Dosage de l'acidité

C'est une épreuve brute de qualité, surtout applicable aux approvisionnements de qualité médiocre. Elle consiste à titrer un volume donné de lait à l'aide d'une solution alcaline étalon.¹ Le résultat est souvent exprimé incorrectement en «pour cent d'acide lactique». En fait, le lait frais, surtout celui des troupeaux des îles anglo-normandes, peut avoir une acidité titrable atteignant 0,23 % sans contenir d'acide lactique (Sommer, 1952). Ce titre mesure simplement la capacité tampon; il représente la quantité d'alcali nécessaire pour porter le pH de sa valeur initiale voisine de 6,6, à environ 8,3, point de virage de la phénolphtaléine. Si l'on fixe une limite faible, par exemple 0,16 %, elle peut se trouver dépassée dans du lait parfaitement frais, riche en produits solides (Sommer, 1952). Mais si l'on fixe une limite élevée, par exemple 0,18 %, du lait pauvre en extrait sec ou du lait de vache atteinte de mammite peut se trouver considérablement acidifié et néanmoins satisfaisant à l'épreuve. Dans la plupart des pays avancés, cette épreuve est rarement appliquée au lait de consommation, mais peut servir à contrôler le lait suspect en bidons destiné aux industries de transformation.

Pour le dosage, certaines instructions (par exemple celles de l'American Public Health Association, 1960) demandent que le lait soit dilué avec 1 à

¹ On utilise couramment une épreuve plus rudimentaire qui consiste à mélanger des quantités déterminées de lait et de solution alcaline, pour savoir si l'acidité excède un certain degré.

10 volumes d'eau. Comme on l'a souligné (Sommer, 1952), cette dilution permet une modification de l'équilibre en phosphates et donne des résultats plus faibles qu'en l'absence de toute dilution.

Epreuve à l'alcool

C'est la plus rapide des épreuves objectives. Habituellement, on mélange à volumes égaux le lait et de l'éthanol à 70°; tout lait dont l'échantillon caillé est rejeté. Comme le test d'acidité, cette épreuve n'est guère utile lorsqu'un programme d'amélioration de la qualité a été mis en œuvre. Elle est surtout appliquée aux laits destinés aux industries de transformation.

Elle prête le flanc à une double critique: d'une part, le lait qui donne une réaction positive est déjà si altéré qu'en quelques heures il caillerait à l'ébullition; d'autre part, il arrive que des échantillons qui semblent normaux à tous égards réagissent positivement même lorsqu'ils sont frais (Clegg, 1952). Outre l'acidité, un excès de concentration en albumine et en sel peut positiver l'épreuve (Sommer, 1952).

Epreuves de 10 minutes à la résazurine

En Grande-Bretagne, un comité a été chargé pendant la seconde guerre mondiale d'étudier les diverses épreuves proposées comme base de rejet du lait destiné à la pasteurisation. Il a préconisé l'épreuve de 10 minutes à la résazurine (Barkworth et al., 1942).

Le mélange colorant-lait est mis à incuber à 37°C pendant 10 minutes. Les lectures sont interprétées comme suit:

<i>Lecture du disque de résazurine</i>	<i>Mesure recommandée</i>
4 - 6	Accepter pour la pasteurisation
1 - 3,5 inclus	Ne pas accepter pour la pasteurisation
0 et 0,5	Rejeter

Ces normes, bien que plus sévères que le dosage de l'acidité et l'épreuve à l'alcool, sont encore très peu rigoureuses comparées aux normes de numération bactérienne en vigueur pour les laits de consommation dans les pays les plus développés. Elles permettent de classer comme acceptables des laits dont la numération bactérienne atteint plusieurs millions par millilitre (Thomas & Andrews, 1943). Alors que l'épreuve de 10 minutes à la résazurine est couramment utilisée par les établissements de pasteurisation de Grande-Bretagne, en Amérique du Nord on considère *a)* que le lait qui donne de mauvaises lectures est si gâté qu'il doit être facilement décelable par son odeur, et *b)* que si les bidons utilisés pour le transport appartiennent au fermier, le délai qu'implique l'exécution de l'épreuve la rend impraticable sauf pour les petits établissements.

Dosage de l'acide lactique

Le dosage de l'acidité apparue est préférable à celui de l'acidité titrable. L'acide lactique étant le principal produit de l'activité bactérienne, différents chercheurs ont mis au point pour le doser des procédés dont le dernier en date est celui de Taylor & Clegg (1958). Une teneur de 0,03 % en acide lactique a été suggérée comme limite utile d'acceptabilité. Les auteurs estiment qu'une épreuve peut être effectuée en 5 minutes; dans ce cas, cette méthode pourrait être largement adoptée chaque fois que ce délai est admissible.

Test de sédimentation

Aucune impureté visible ne doit souiller le lait. Aussi les tests de sédimentation sont-ils de pratique courante dans de nombreux pays. Mais alors que si le résultat est mauvais, le test de sédimentation indique incontestablement des négligences, s'il est bon, il peut n'être révélateur que de l'efficacité du filtrage à la ferme. Il faut aussi souligner qu'il n'y a guère de corrélation entre le volume de sédiment et la qualité bactériologique du lait. Du lait fortement chargé de produits qui sédimentent peut ne contenir qu'un faible nombre de bactéries, alors qu'un autre lait qui ne sédimente pas peut en fourmiller.

Initialement, le test consistait à faire passer sous pression une quantité déterminée (environ un demi-litre) de lait homogénéisé à travers un disque de fibres de coton de 32 mm. Plus récemment, la préférence est allée à un procédé de prélèvement en profondeur (American Public Health Association, 1960), qui consiste à aspirer à travers le disque de coton le lait à tester pendant qu'on déplace la tête de prélèvement selon un tracé défini, au fond du bidon. On utilise aussi couramment en Amérique du Nord des échantillonneurs de sédimentation à air comprimé. Lorsque le lait est manipulé à la ferme dans des cuves de vrac réfrigérées, il ne faut prélever l'échantillon qu'après avoir bien agité le lait. On filtre un échantillon de 4 litres sur le disque-type (32 mm) ou un demi-litre sur un disque proportionnellement plus petit (Liska & Calbert, 1954). On utilise depuis des années des étalons de sédimentation (American Public Health Association, 1960); les laits contenant plus de 6 mg/litre d'après le test d'un échantillon prélevé en profondeur sont habituellement rejetés. Après avoir comparé le disque de sédimentation aux étalons et noté son degré, il est d'usage de l'envoyer au producteur. Si le sédiment est trop important, le producteur constate qu'il doit contrôler ses méthodes de production. Les producteurs sont généralement plus sensibles à cette preuve matérielle qu'aux résultats des épreuves bactériologiques.

Mouillage

Lorsque le lait semble anormalement fluide, on peut déterminer sa densité à l'aide d'un lactomètre (American Public Health Association, 1960). Si la lecture est anormalement faible, le lait peut être rejeté. Il est toutefois

bon de faire un contrôle de confirmation en déterminant le point de congélation (American Public Health Association, 1960). Le matériel moderne (Shipe, 1959) est beaucoup plus rapide et précis que l'ancien.

Contrôle courant

Au fur et à mesure que s'améliore la qualité du lait, l'objet des contrôles peut aller bien au-delà d'une simple acceptation ou d'un rejet rapide. L'idéal est d'obtenir un approvisionnement en lait qui sente bon et dont la composition soit satisfaisante, qui soit exempt de germes pathogènes, qui provienne de pis sains, qui ait été produit et manipulé avec assez de soin pour être pratiquement exempt de sédiment et dont le contenu bactérien soit composé exclusivement de la flore mammaire. La qualité d'un tel lait ne se dégrade guère même après maintien à une température suffisamment élevée pour permettre une croissance bactérienne intense.

La qualité bactériologique du lait frais peut être évaluée par diverses méthodes. Le choix de la méthode à appliquer dépend de plusieurs facteurs : qualité générale de l'approvisionnement, coût, intérêt pour l'amélioration de la qualité, etc. Tant que la qualité ne s'améliore pas, les contrôles tels que l'épreuve d'une heure à la résazurine et le temps de réduction du bleu de méthylène sont utiles (American Public Health Association, 1960). Lorsque la qualité s'améliore, l'épreuve d'une heure à la résazurine peut être remplacée par l'épreuve à «triple lecture», puis par la numération directe au microscope (NDM) ou par la numération en boîtes de Pétri (NBP) (American Public Health Association, 1960). Enfin, quand le nombre de bactéries est devenu extrêmement faible, la NBP semble être la méthode la plus indiquée.

En attachant une grande importance à la rapidité et à l'efficacité du refroidissement, on risque de masquer des défauts dans les méthodes de production. Pour insister sur les soins de propreté, il a été préconisé de recourir à une «incubation préliminaire» à 12,8°C pendant 18 heures (Johns & Berzins, 1959) ou à 15,6°C pendant 21 heures (Chalmers, 1956). Les laits produits dans de bonnes conditions d'hygiène ne souffrent pas de ce traitement; dans ceux qui contiennent des contaminants exogènes, la croissance bactérienne est notable, le taux de contamination pouvant dans certains cas centupler. (Les bactéries thermorésistantes sont exceptionnelles; elles ne prolifèrent pas dans le lait cru à 12,8°C). En Grande-Bretagne, où l'on conserve les échantillons de lait à la température ambiante sous abri pendant 12 ou 18 heures avant de les tester, il est reconnu depuis longtemps que l'examen des échantillons récemment prélevés n'est pas satisfaisant. (Angleterre et Pays de Galles, Ministry of Health, 1937). (Le maintien à une température constante semble bien préférable, même si, comme en Grande-Bretagne, les variations de la température ambiante sont assez faibles.)

La nécessité de cette incubation préliminaire se fait surtout sentir quand on soumet le lait à une épreuve de réduction d'un colorant. En Grande-Bretagne, on s'est aperçu depuis longtemps (Wilson, 1935) que les épreuves

de réduction d'une matière colorante, lorsqu'elles sont effectuées en hiver, ne permettent pas toujours de déceler les laits riches en bactéries; les basses températures auxquelles elles ont été soumises durant le stockage initial ont tellement ralenti leur activité biologique que la réduction du colorant au début de l'incubation à 37°C est très lente. Cela est encore plus vrai pour les laits rapidement refroidis à 4°C ou au-dessous dans les cuves de vrac à la ferme et qui sont ramassés tous les deux jours. Pour de tels laits, les relations établies précédemment entre le nombre de bactéries et les temps de réduction ont été sérieusement contredites. L'incubation initiale à 12,8°C permet d'éliminer cette contradiction; ce pré-traitement conduit à un meilleur accord entre le test à la résazurine avec triple lecture et la NBP (Johns & Berzins, 1959).

Les résultats des contrôles de routine doivent être envoyés aux producteurs afin de stimuler leur intérêt pour la qualité bactériologique du lait. On peut introduire dans le système de contrôle un élément de stimulation en dressant une liste de tous les producteurs par ordre de qualité de leur production. On a réussi également à promouvoir une amélioration de la qualité du lait en offrant chaque année des prix ou des primes aux meilleurs producteurs (S.J. Olsen, communication personnelle, 1956).

Lorsque le lait est destiné à être pasteurisé, les contrôles de routine ont surtout pour objet d'évaluer le soin apporté à la production et à la manipulation. Les qualités de conservation importent peu, car les micro-organismes qui provoquent généralement la dégradation du lait sont presque tous détruits par le traitement thermique. Par contre, lorsque le lait est mis en bouteilles et distribué cru, les qualités de conservation sont primordiales. L'intérêt d'un test spécial permettant d'apprécier ces qualités, par exemple le «caillage à l'ébullition» (Barkworth et al., 1942) est controversé. Le lait qui répond à la plupart des normes habituelles, surtout après une incubation préliminaire, doit bien se conserver, sauf s'il est soumis à des conditions exceptionnellement défavorables. La question du contrôle de la qualité du lait a fait l'objet d'études assez récentes (Galesloot, 1956; Johns, 1959; Overby, 1955).

Numération bactérienne

La méthode bien connue de la numération bactérienne en boîtes de Pétri a été la première mise au point et reste la plus appréciée pour les laits faiblement pollués, mais elle est coûteuse, longue, et exige un personnel expérimenté.

Au fil des ans, elle a été améliorée par l'emploi de températures d'incubation moindres et d'un milieu plus nutritif. Ces perfectionnements sont en grande partie dus aux divers comités qui ont été chargés de préparer les différentes éditions des «Standard Methods for the examination of Dairy Products» publiées par l'American Public Health Association. Bien que les bactériologistes laitiers préfèrent la température d'incubation de 30-32°C

(Babel et al., 1955) à celle de 35°C actuellement recommandée dans les «Standard Methods», les laboratoires de santé publique préfèrent généralement celle-ci qui donne fréquemment des numérations beaucoup plus faibles, surtout sur les échantillons pasteurisés. En Grande-Bretagne, alors que la température de 30°C est préconisée pour les analyses effectuées à titre consultatif (Griffiths et al., 1957), les services de santé continuent, pour les analyses officielles, à faire incuber à 37°C. A cette température les psychrophiles sans exception et nombre de germes thermorésistants ne donnent aucune prolifération en 48 heures.

La NBP est destinée à donner une idée aussi exacte que possible du nombre total de bactéries présentes dans un échantillon. Cependant, toutes les bactéries ne produisent pas des colonies visibles sur le milieu gélosé type dans les conditions d'incubation spécifiées. En outre, une colonie peut provenir soit d'une seule cellule bactérienne, soit d'une chaîne ou d'un groupe contenant une centaine de cellules ou plus. Néanmoins, la NBP est encore le moyen le plus précis d'évaluer la population bactérienne du lait, surtout quand la contamination est faible.

Plusieurs méthodes ont été préconisées pour remplacer la NBP, jugée trop coûteuse, surtout dans les «tests d'orientation». Selon la méthode des cultures inclinées de Burri (American Public Health Association, 1960), on prélève une anse calibrée de lait et on l'étale à la surface d'une gélose inclinée, puis on dénombre les colonies après incubation. Cette méthode est particulièrement commode lorsqu'on ne dispose pas d'installations de laboratoire. Quant à la méthode des petites lames (Frost, 1916), elle consiste à ensemencher de lait des lamelles de microscope recouvertes d'un mince film de gélose. On dessèche et on colore le film après incubation et on dénombre les colonies au microscope. La méthode originale a été modifiée par plusieurs auteurs, mais son emploi ne s'est pas généralisé. En Amérique, toutefois, elle semble susciter un intérêt croissant. La technique du tube roulant (*Lab. Practice*, 1960) et celle de la «bande de gélose» (Stirling et al., 1950) sont également des variantes économiques de la méthode de numération en boîte de Pétri.

Dans la plupart des régions, des limites officielles ont été fixées pour la numération bactérienne du lait pasteurisé. Pour satisfaire aux règles le lait cru ne doit pas contenir trop de bactéries thermorésistantes.¹ En conséquence, les arrivages doivent être contrôlés régulièrement par la recherche de ces bactéries au moyen d'un test de «pasteurisation en laboratoire» (American Public Health Association, 1960). On en trouve rarement dans le pis; c'est généralement le matériel laitier négligé, en particulier les pièces de caoutchouc, qui est responsable de leur présence dans le lait. Aussi certains auteurs considèrent-ils que l'épreuve de pasteurisation en laboratoire

¹ En Grande-Bretagne, les problèmes que posent les bactéries thermorésistantes ont été résolus par substitution à la NBP (du lait pasteurisé) d'une épreuve de conservabilité; en Amérique du Nord, les numérations élevées sont considérées comme révélatrices d'un manque d'hygiène du matériel laitier.

révèle mieux que la NBP les défauts de la production. Plusieurs méthodes simplifiées permettant la numération des bactéries thermorésistantes ont été décrites (American Public Health Association, 1960; Egdell et al., 1950); elles sont moins coûteuses mais aussi moins précises que la NBP, mais suffisent pour déceler les laits fortement contaminés.

Numération directe au microscope (NDM)

Cette méthode (American Public Health Association, 1960) à laquelle on a longtemps associé le nom de Breed, a été largement utilisée en Amérique du Nord pour l'examen du lait cru. Entre des mains qualifiées, elle peut fournir des renseignements très utiles sur les antécédents du lait et révéler l'existence d'états anormaux parmi les pis (par exemple la présence de mammite). Elle peut servir pour contrôler rapidement la qualité du contenu d'un bidon ou d'une cuve de lait, car les résultats sont obtenus en quelques minutes.

La NDM est la plus sûre des méthodes entre les mains d'opérateurs bien formés examinant du lait dont la numération bactérienne excède 500 000/ml (Wilson, 1935). Lorsque la contamination est moindre, l'erreur expérimentale croît et il faut examiner un plus grand nombre de champs pour aboutir à une estimation fiable. La NDM devient alors plus coûteuse que la NBP. Aussi cette méthode a-t-elle perdu la faveur, en Amérique du Nord, pour l'examen du lait de consommation. Ce déclin a été hâté par l'énorme développement du recours aux cuves de refroidissement du lait en vrac,¹ qui ont pratiquement supprimé la prolifération bactérienne dans le lait et ont diminué les normes de numération (50 000/ml) (Corash, 1956).

On s'est aperçu récemment que les importants écarts observés entre diverses fractions d'un même échantillon et les désaccords entre les résultats des NDM et des NBP sont en grande partie imputables à un mauvais éclairage, au manque de formation du personnel et — le plus souvent — à l'insuffisance du nombre des champs examinés (Levowitz, 1957). Même les techniciens expérimentés sont sujets à la fatigue, élément d'erreur qui jusqu'à présent n'avait pas été reconnu (W. C. Lawton, communication personnelle, 1959). Enfin, les techniciens préfèrent la NBP.

Lorsqu'on utilise la NBP ou le test de réduction du bleu de méthylène, on n'obtient aucune indication des anomalies dans l'état des pis (mammite, etc.). Il est donc souhaitable de rechercher occasionnellement les germes dans le lait par examen microscopique direct. La numération par bandes (Levowitz, 1957) avec un objectif de faible puissance, permet d'examiner en quelques secondes toute la surface du film du lait. Une solution colorante améliorée qui n'exige qu'un bain (Levowitz & Weber, 1956) et destinée à remplacer la coloration de Newman-Lampert donne de bons résultats.

¹ En janvier 1961, plus de 160 000 de ces cuves étaient en usage aux Etats-Unis d'Amérique. Il est probable que dans quelques années tout le lait de consommation du pays passera par des cuves de refroidissement.

Epreuves de la réductase microbienne

La multiplication des bactéries dans le lait diminue le potentiel d'oxydo-réduction. Cette diminution peut être mise en évidence à l'aide d'un indicateur convenable, par exemple le bleu de méthylène ou la résazurine (American Public Health Association, 1960). C'est là le principe de plusieurs méthodes simples qui permettent de mesurer la qualité bactériologique du lait. Ces tests, qui exigent peu de matériel et de compétence technique, permettent une évaluation rapide de la qualité d'un grand nombre d'échantillons. Les laits de médiocre qualité sont réduits très rapidement, d'où la possibilité d'un contrôle à la ferme, donc sans retard.

L'activité réductrice et la température optimale de croissance varient selon les bactéries. Il en résulte que l'accord entre le temps de réduction et la numération bactérienne est d'autant meilleur que le lait est plus contaminé. D'autres facteurs tendent également à fausser la corrélation initialement établie. Le refroidissement rapide et le maintien du lait à basse température laissent les bactéries en sommeil et accroissent le temps de réduction. En outre, dans ces conditions les bactéries psychrophiles peuvent constituer un pourcentage important de la population bactérienne; elles ne prolifèrent pas aux températures d'incubation usuelles: 35-37°C. Les grandes quantités de bactéries thermorésistantes provenant des machines à traire mal nettoyées sont mal décelées par les tests de réduction en présence d'un colorant (Smythe, 1959) car ces germes ne sont que faiblement réducteurs. Par ailleurs, l'emploi de milieux et de températures d'incubation plus favorables a accru les valeurs obtenues par la NBP, alors que le test de réduction en présence de bleu de méthylène, en augmentant la concentration du colorant, accroît le temps de réduction. Enfin, la résazurine est partiellement réduite par le lait lui-même lorsqu'il est anormal (par exemple en cas de mammite, de lactation tardive, etc.).

Test de réduction du bleu de méthylène

Le test de réduction du bleu de méthylène, décrit par Barthel & Orla Jensen en 1912, est probablement la plus largement utilisée des épreuves de contrôle bactériologique du lait cru. Ses avantages sont multiples: simplicité, reproductibilité, modicité du coût et rapidité d'identification des laits médiocres. Il n'exige que peu de formation du personnel et permet d'éprouver simultanément plusieurs centaines d'échantillons.

En Grande-Bretagne, une variante (Wilson, 1935) de ce test a remplacé la NBP pour l'examen du lait cru dès 1937 (Angleterre et Pays de Galles, Ministry of Health). Cette variante demande de fréquents¹ retournements des tubes pendant l'incubation, pour redistribuer dans la masse les bactéries qui se rassemblent à la surface par différence de densité. Les résultats sont

¹ Le retournement toutes les heures donne d'aussi bons résultats que le retournement toutes les 30 minutes recommandé par Wilson (Johns, 1939).

plus précis et mieux reproductibles que par incubation sans retournement. On ne pratique pas le contrôle sur l'échantillon frais; celui-ci est au contraire préalablement maintenu à la température ambiante sous abri pendant 12 à 18 heures. Ce procédé présente certes des avantages mais, par temps froid, l'estimation manque de sévérité. La pratique, pendant toute l'année, du stockage à une température constante de l'ordre de 10° à 15°C semble préférable.

Dans les régions où l'on n'utilise pas d'une façon générale la réfrigération mécanique et où les normes sont moins rigoureuses, comme c'est le cas pour le lait destiné aux industries de transformation, le test de réduction du bleu de méthylène appliqué aux échantillons récemment prélevés est encore largement utilisé et se révèle généralement satisfaisant.

Test de réduction de la résazurine

On a reproché au test de réduction du bleu de méthylène de nécessiter une trop longue période d'incubation. Un temps de réduction de plus de 5 heures et demie est en effet considéré comme équivalant à une NBP de 200 000/ml (*Publ. Hlth Bull. (Wash.)*, 1953). Quand le lait arrive à midi ou plus tard, l'exécution des épreuves implique donc soit un travail de laboratoire après les heures normales, soit la réfrigération des échantillons pendant la nuit. Aussi a-t-on cherché à utiliser d'autres colorants qui donneraient des résultats plus rapides. Parmi eux, c'est la résazurine qui a été le plus largement adoptée. Nombre de variantes du test ont été décrites dont trois seulement ont été généralement appliquées. Le test initial durait une heure et permettait de différencier les laits par les modifications de coloration apparues à la température du laboratoire; plus tard, l'incubation à 37°C a été adoptée (Ramsdell et al., 1935). Un test à «température compensée» est employé en Grande-Bretagne (par le Department of Health d'Ecosse); dans cette épreuve, le temps de réduction des laits jugés acceptables varie selon la température atmosphérique moyenne sous abri enregistrée durant la période de stockage préliminaire.

Alors que le test d'une heure à la résazurine est intéressant lorsque la numération bactérienne est élevée, son intérêt est généralement considéré comme limité pour la plupart des laits de consommation. Une variante a toutefois été mise au point, qui est jugée plus acceptable, c'est le test à triple lecture (American Public Health Association, 1960). Il recourt à un virage de couleur (SP7/4 dans le système Munsell) situé entre le bleu initial et le rose franc, qui est atteint deux fois plus vite environ que la réduction complète du bleu de méthylène. De plus, outre qu'il assure une bonne corrélation avec la numération bactérienne, il donne une bonne idée de l'excès de teneur en leucocytes. Accepté comme méthode-type aux Etats-Unis (American Public Health Association, 1960) depuis 1948, il est largement utilisé au Canada pour contrôler les approvisionnements en lait liquide. Au Danemark, une méthode légèrement plus rigoureuse a été proposée (Hempler, 1950) recou-

rant à un virage légèrement plus rapide et permettant de distinguer les laits simplement satisfaisants des laits exceptionnellement bons. Pour faire une distinction entre la réduction par les leucocytes et par les bactéries, Hempler a recommandé d'utiliser un second point de virage au rose franc. Un autre bactériologiste danois (Overby, 1955) a étudié les divers tests de réduction d'un colorant. Il a été très frappé de l'efficacité du test à trois lectures.

Quant à la troisième variante qui ne permet de déceler que des laits inacceptables pour la pasteurisation, elle a été examinée à la page 227.

Il est regrettable que de nombreux auteurs mentionnent le test à la résazurine sans préciser la variante dont il s'agit. Nombre de critiques visent de toute évidence l'épreuve d'une heure et non le test à triple lecture.

Comme le test au bleu de méthylène, le test à la résazurine est influencé défavorablement par les éléments qui tendent à perturber la relation entre le temps de réduction et la numération bactérienne. L'accord est bien meilleur entre le temps de réduction de la résazurine et la numération des colonies après une incubation préliminaire à 12,8°C pendant 18 heures (Johns & Berzins, 1959). Il faut reconnaître aussi que dans les laits à faible numération bactérienne, une teneur élevée en leucocytes entraîne une réduction précoce de la résazurine (Ramsdell et al., 1935). Mais cela est considéré comme un avantage du test puisque ces laits ne peuvent pas être jugés acceptables. La résazurine est plus sensible à la lumière que le bleu de méthylène mais ne colore pas le verre comme celui-ci. Etant donné que 8% des hommes sont daltoniens, il faut contrôler la vue du personnel chargé des tests. Les changements de couleur doivent être observés à la lumière d'une lampe fluorescente «lumière du jour». Les étalons colorimétriques Munsell (American Public Health Association, 1960) en tubes à essai sont plus commodes que l'appareil de Lovibond décrit par Davis & Thomas (1940).

Assez récemment, l'utilisation d'un autre indicateur — le chlorure de triphényl-2,3,5 tétrazolium — a été préconisé (Mustakallio et al., 1955). Ce réactif semble surtout intéressant pour déceler les laits à forte contamination bactérienne et les substances inhibitrices des streptocoques lactiques (Neal & Calbert, 1956). Il est très sensible à la lumière.

Contrôle de la conservabilité

Le pourcentage de lait vendu cru continuant à diminuer dans la plupart des pays, l'intérêt du contrôle de la conservabilité décline aussi. Quand le lait doit être pasteurisé ou stérilisé, l'avantage de ce contrôle avant le traitement thermique est discutable. Un contrôle après l'embouteillage serait plus utile, notamment du fait que la pollution du lait refroidi est le plus souvent imputable à la multiplication des bactéries psychrophiles qui ont contaminé le lait après la pasteurisation.

On a proposé divers procédés de contrôle de la conservabilité, dont la plupart sont des variantes des tests de réduction d'un colorant. Puisque les

micro-organismes qui prolifèrent le plus aux températures de conservation habituelle du lait ne sont pas nécessairement ceux qui poussent le mieux à la température corporelle, il a été proposé d'adopter une température d'incubation inférieure — par exemple 18°C. En Grande-Bretagne, on s'est beaucoup préoccupé des tests de conservabilité du lait cru; on a notamment préconisé l'emploi du test de «caillage par ébullition» qui consiste à immerger des fractions des échantillons dans de l'eau bouillante deux fois par jour (Rowlands et al., 1950). Cette méthode a été adoptée en 1961 pour les contrôles de routine en Angleterre et au Pays de Galles.

Numération des coliformes

Les experts d'Amérique du Nord se sont rarement intéressés à la teneur du lait cru en bacilles coliformes (*colon-aerogenes*) considérant que les numérations élevées indiquent plus souvent une multiplication que la contamination initiale. Ces germes ne peuvent pas être considérés comme l'indication d'une contamination fécale; en fait, les joints en caoutchouc des machines à traire mal entretenues sont la source la plus fréquente de telles numérations (Smillie, 1953). Par contre, en Grande-Bretagne, de nombreux experts pensent que la numération des coliformes fournit une meilleure indication du soin apporté à la production que la numération bactérienne totale (Griffiths et al., 1957; Smillie, 1953; Thomas, 1955). Etant donné qu'en Amérique les quantités de lait refroidies en cuves de vrac augmentent rapidement, on peut penser que l'intérêt porté à la teneur du lait cru en coliformes croîtra parallèlement.

Cette teneur peut être déterminée par l'une ou l'autre des deux méthodes générales disponibles (American Public Health Association, 1960) qui toutes deux ont leurs adeptes. Selon la méthode de dilution en tube, on inocule dans un milieu liquide sélectif additionné de substances inhibitrices de la croissance des germes autres que les coliformes, des quantités déterminées de lait (ou d'une dilution de lait). Selon la technique de culture en boîtes de Pétri, onensemence avec 1 ml ou moins de lait un milieu gélosé sélectif. L'incubation se faisait autrefois à 37°C, mais divers auteurs ont montré qu'à cette température de nombreux germes qui font fermenter le lactose échappent à la détection; par contre, en incubant à 30°C on obtient approximativement deux fois plus de tests positifs (Wilssens & de Vleeschauwer, 1956). Il paraît inutile de confirmer les tests positifs ou de déterminer le type de micro-organisme comme dans les analyses d'eau, car la présence de germes d'origine fécale dans le lait n'est pas, comme dans l'eau, un indice de menace pour la santé.

Recherche des signes de mammite

On définit généralement le lait comme le produit de la sécrétion normale d'un pis sain. Cette définition a été perdue de vue dans bien des règlements laitiers où l'accent a été mis plus ou moins fortement sur la numération

bactérienne. Parmi les contrôles de routine, le test d'une heure à la résazurine et le test «à triple lecture» (à la résazurine également) sont les seuls qui pénalisent automatiquement le lait anormal, c'est-à-dire celui qui contient trop de leucocytes ou d'autres cellules. En cas de faible numération bactérienne, la réduction non bactérienne est facilement mise en évidence par le rapide changement de coloration qui se produit en une ou deux heures et qui n'est pas suivi de nouvelle altération de couleur tant que la prolifération bactérienne ne produit pas une seconde réduction. La technique de Hempler qui permet de distinguer la réduction non bactérienne a déjà été mentionnée.

L'incubation préliminaire à 12,8°C présente un inconvénient, celui d'une brusque chute de l'activité réductrice des leucocytes. Aussi faut-il recourir à un test distinct pour déceler ceux-ci. On peut faire une numération leucocytaire lors de l'examen microscopique direct. C'est l'une des méthodes les plus satisfaisantes; un opérateur entraîné peut dans bien des cas faire des déductions utiles concernant le type d'infection, surtout si l'échantillon a été préalablement incubé plusieurs heures ou toute la nuit à 37°C.

Récemment, l'intérêt s'est porté sur les tests chimiques rapides pour déceler les anomalies du lait. Ces tests sont indifféremment applicables aux échantillons individuels d'un quartier de pis comme aux prélèvements de lait en vrac et sont suffisamment simples pour être effectués à la ferme ou sur le quai de réception. Parmi eux, le test de Whiteside modifié est le plus connu (Murphy & Hanson, 1941). On additionne 5 gouttes de lait d'une goutte de NaOH à 4% et on agite pendant 20 secondes. La mesure dans laquelle apparaissent une floculation et un épaissement correspond à l'importance de l'anomalie. Nombre de ceux qui ont expérimenté ce test en font grand cas. Dérivé du test de Whiteside, le California Mastitis Test (Schalm & Noorlander, 1957) a été mis au point en vue d'être substitué à la récolte à part des premiers jets. Il demande l'utilisation d'un indicateur de pH, et d'un tensio-actif. Une autre variante qui recourt aussi à un tensio-actif (le Teepol) a été décrite (McKenzie & Cameron-MacKintosh, 1958). L'application régulière de ces tests aiderait à attirer l'attention sur les troupeaux qui appellent les soins d'un vétérinaire.

Recherche des antibiotiques

La présence de quantités décelables d'antibiotiques dans le lait a récemment suscité quelque inquiétude dans l'industrie laitière et parmi les services de santé. Bien qu'ils soient parfois ajoutés délibérément au lait, les antibiotiques que l'on trouve dans ce produit sont le plus souvent des résidus du traitement de la mammité. Ils peuvent inhiber la croissance des bactéries à tel point que le lait soit considéré comme meilleur qu'il n'est; ils peuvent aussi gêner le processus d'acidification dans la fabrication des produits laitiers de fermentation. Diverses techniques ont été recommandées pour les identifier dans le lait, dont deux sont fréquemment utilisées: la méthode de diffusion

en gélose (American Public Health Association, 1960) et le test de réduction du CTT (chlorure de triphényl-2,3,5 tétrazolium) (Neal & Calbert, 1956).

Il semble improbable que puisse être mis au point un test assez rapide comme épreuve de réception. L'incorporation d'un colorant marqueur dans la préparation antibiotique (Hargrove et al., 1959) semble le plus prometteur des procédés.

Etude de la composition

Teneur en matières grasses

Depuis la publication en 1890 du test de Babcock, et en 1892 du test de Gerber, il est de coutume de déterminer la teneur en matières grasses des arrivages de lait en provenance de la ferme. Dans la plupart des pays, cette teneur est prise en considération dans le tarif d'achat du lait. En Amérique du Nord, en Australie et en Nouvelle-Zélande, le test de Babcock est encore généralement utilisé, mais dans les Etats de Californie, New Jersey, New York et Pennsylvanie, le test de Gerber a été officiellement approuvé. En Europe, celui-ci est depuis longtemps préféré au test de Babcock. Les deux tests fournissent des résultats suffisamment proches de ceux que l'on obtient par extraction pour être jugés satisfaisants, bien que des modifications mineures aient été proposées afin de resserrer l'intervalle de concordance.

On s'est toujours efforcé de mettre au point une épreuve qui évite l'utilisation d'un acide fort. Dans les dix dernières années, plusieurs tests ont été décrits, qui font appel à l'emploi d'un tensio-actif additionné d'un alcool pour séparer les matières grasses des produits non gras. Des essais comparatifs (Herreid, 1957; Hoover, et al., 1958) ont montré que leur précision est du même ordre que celle du test de Babcock.

Produits non gras

Les méthodes gravimétriques étant longues et coûteuses, on se fie à des mesures de densité faites à l'aide d'hygromètres spéciaux dits «lactomètres» (American Public Health Association, 1960). Une variante (Watson, 1957) applicable à l'aide d'un lactomètre et d'un échantillon plus petits est considérée comme plus rapide et moins fastidieuse. Diverses formules ont été proposées pour calculer l'extrait sec dégraissé à partir de la lecture du lactomètre (Sommer, 1952). On parvient à une plus grande exactitude en chauffant au préalable le lait à 39°C pour faire fondre les matières grasses. L'emploi de disques ou de sphères en matière plastique plus ou moins dense, qui a récemment été proposé (Golding, 1959), présente des avantages manifestes.

Conclusions

L'odorat d'un homme formé à l'inspection des approvisionnements en lait est le plus simple et le plus important des moyens de détection des laits

de médiocre qualité. Lorsqu'il s'agit de promouvoir l'amélioration de la qualité, on peut recourir à nombre de tests de laboratoire; on choisira évidemment celui qui convient le mieux, compte tenu du taux de contamination bactérienne et des disponibilités en capital, en installations et en personnel qualifié.

Tout programme complet de contrôle de la qualité doit prévoir des épreuves régulières de sédimentation, de numération bactérienne totale (culture en boîtes de Pétri, dénombrement direct au microscope, réduction du bleu de méthylène ou de la résazurine) et de détermination de la composition (matières grasses et extrait sec total). Parmi les contrôles supplémentaires moins fréquents devraient figurer le test de pasteurisation en laboratoire, une épreuve de détection du mouillage et la recherche des signes de mammite (leucocytes, test de Whiteside et Californian Mastitis Test). Lorsque la prolifération bactérienne est pratiquement supprimée (cas du lait dans les cuves de vrac), l'incubation préliminaire des échantillons à 12,8°C pendant 18 heures est utile pour révéler les cas dans lesquels le refroidissement sert à masquer un défaut d'hygiène. La numération des coliformes dans les échantillons de lait en vrac peut aussi donner des renseignements précieux sur le degré de propreté du matériel laitier.

BIBLIOGRAPHIE

- American Public Health Association (1960) *Standard methods for the examination of dairy products*, 11th ed., New York
- Angleterre et Pays de Galles, Ministry of Health (1937) *Memo. No. 137/Foods*, Londres
- Babel, F. J. et al. (1955) *J. Dairy Sci.*, **38**, 499
- Barkworth, H. et al. (1942) *Proc. Soc. Agr. Bact.*, 25
- Chalmers, C. H. (1956) *Hlth Bull. (Edinb.)*, **14**, No. 1
- Clegg, L. F. L. (1952) *Dairy Sci. Abstr.*, **14**, 731
- Corash, P. (1956) *J. Milk & Food Tech.*, **19**, 277
- Davis, J. G. (1950) *J. Roy. sanit. Inst.*, **70**, 227
- Davis, J. G. & Thomas, S. B. (1940) *Dairy Ind.*, **5**, 244
- Egdell, J. W. et al. (1950) *J. appl. Bact.*, **19**, 256
- Frost, W. D. (1916) *J. infect.*, **19**, 273
- Galesloot, T. E. (1956) *The laboratory examination of milk in relation to the cleanliness of methods of production on the farm*, Fédération internationale de Laiterie, Bruxelles (Document N° 55/38-39)
- Golding, N. S. (1959) *Proc. XV Int. Dairy Congr.*, **3**, 1566
- Griffiths, D. G. et al. (1957) *J. appl. Bact.*, **20**, 243
- Hargrove, R. E. et al. (1959) *J. Dairy Sci.*, **42**, 202
- Herreid, E. O. (1957) *J. Assoc. Off. Agr. Chem.*, **40**, 499
- Hempler, P. (1950) *Resazurin as indicator in reduction tests of milk* (Dissertation), Copenhagen, A/S. Carl. Fr. Mortensen
- Hoover, S. R., Mucha, T. J. & Harvey, W. R. (1958) *J. Dairy Sci.*, **41**, 398
- Johns, C. K. (1939) *Sci. Agr.*, **19**, 435
- Johns, C. K. (1959) *J. Dairy Sci.*, **42**, 1032
- Johns, C. K. & Berzins, I. (1959) *Proc. XV Int. Dairy Congr.*, **3**, 1293
- Lab. Practice*, 1957, **6**, 635

- Levowitz, D. (1957) *J. Milk & Food Tech.*, **20**, 288
Levowitz, D. & Weber, M. (1956) *J. Milk & Food Tech.*, **19**, 121
Liska, B. J. & Calbert, H. E. (1954) *J. Milk & Food Tech.*, **17**, 82
McKenzie, D. A. & Cameron-Mac Kintosh, E. (1958) *J. Soc. Dairy Tech.*, **11**, 178
Murphy, J. M. & Hanson, J. J. (1941) *Cornell Vet.*, **31**, 47
Mustakallio, K. K. et al. (1955) *Science*, **122**, 971
Neal, C. E. & Calbert, H. E. (1956) *Proc. XIV Int. Dairy Congr.*, **2**, 359
Overby, A. J. (1955) *Maelkeritid*, **68**, 465 et seq. (*Dairy Sci. Abstr.*, 1956, **18**, 592)
Publ. Hlth Bull. (Wash.), 1953, **220**
Ramsdell, G. A. et al. (1935) *J. Dairy Sci.*, **18**, 705
Rowlands, A. et al. (1950) *J. Dairy Res.*, **17**, 159
Schalm, O. W. & Noorlander, D. O. (1957) *J. Amer. vet. med. Ass.*, **130**, 199
Shipe, W. F. (1959) *Proc. XV Int. Dairy Congr.*, **3**, 1844
Smillie, D. M. (1953) *Dairy Ind.*, **18**, 580
Smythe, V. R. (1959) *Proc. XV Int. Dairy Congr.*, **3**, 1898
Sommer, H. H. (1952) *Market milk and related products*, Madison, Wis., Sommer
Stirling, A. C. et al. (1950) *J. Gen. Microbiol.*, **4**, 339
Taylor, P. B. & Clegg, L. F. L. (1958) *J. Dairy Res.*, **25**, 32
Thomas, S. B. (1955) *J. appl. Bact.*, **18**, 331
Thomas, S. B. & Andrews, L. C. (1943) *Dairy Ind.*, **8**, 163
Watson, P. D. (1957) *J. Dairy Sci.*, **40**, 394
Wilson, G. S. (1935) *The bacteriological grading of milk. (Spec. Rep. Ser. med. Res. Coun. (Lond.) No. 206)*
Wilssens, A. & Vleeschauwer, A. de (1956) *Meded. Landb. Hogesch. Opzoeksts. Gent. 1.*, **21**, 125 (*Dairy Sci. Abstr.*, 1956, **18**, 1053).