d. 3964

MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE

MONOGRAPHIE
DE
L'INSTITUT NATIONAL D'HYGIÈNE

N° 18

DE LA DESTRUCTION DES BACTÉRIES PAR LA CHALEUR

ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ DE LA PASTEURISATION DU LAIT

PARIS
1958

Institut national d'Études Démographiques
BIBLIOTHÈQUE
23-25, av. Franklin ...

VIRTVTE DVCE COMITE FORTITVDINE

COLLEGIVM CIVILE AD SANITATEM

Par
A. NEVOT, Ph. LAFONT et J. LAFONT

L7
1488

d - 3964

MINISTÈRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE

MONOGRAPHIE
DE
L'INSTITUT NATIONAL D'HYGIÈNE

N° 18

DE LA DESTRUCTION DES BACTÉRIES PAR LA CHALEUR

ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ DE LA PASTEURISATION DU LAIT

PARIS
1 9 5 8

Institut National d'Études Démographiques
BIBLIOTHÈQUE
23-25, Avᵉ Franklin Roosevelt
PARIS-8ᵉ

VIRTVTE DVCE CO-
MITE FORTITVDINE

COLLEGIVM CIVILE
AD SANITATEM

Par
A. NEVOT, Ph. LAFONT et J. LAFONT

Travaux effectués au Laboratoire d'Hygiène Alimentaire
(Faculté de Médecine de Paris)
avec la collaboration technique de
Mˡˡᵉˢ M. HENRY et L. DEROUET

L7
14488

MONOGRAPHIES DE L'INSTITUT NATIONAL D'HYGIÈNE

DÉJA PARUES :

N° 1. — **Documents statistiques sur la morbidité par cancer dans le monde**, par P. F. DENOIX, Paris 1953. — Épuisé.

N° 2. — **L'économie de l'alcoolisme**, par L. DEROBERT, Paris 1953. Épuisé.

N° 3. — **Mortalité urbaine et rurale en France en 1928, 1933 et 1947**, par Ch. CANDIOTTI et M. MOINE, Paris 1953. — Prix : **900 F.**

N° 4. — **Contribution à l'étude de l'anophélisme et du paludisme en Corse**, par C. TOUMANOFF, Paris 1954. — Prix : **1 200 F.**

N° 5. — **De la diversité de certains cancers**, par P. F. DENOIX, Paris 1954. — Épuisé.

N° 6. — **La lutte préventive contre les maladies infectieuses de l'homme et des animaux domestiques au moyen des vaccins**, par G. RAMON, Paris 1955. — Prix : **1 200 F.**

N° 7. — **Etudes de socio-psychiatrie**, par H. DUCHÊNE et coll., Paris 1955. - Prix : **900 F.**

N° 8. — **Rapport sur la fréquence et la sensibilité aux insecticides de pédiculus humanus humanus K. Linnaeus, 1758 (anoplura) dans le sud-est de la France**, par R. M. NICOLI, Paris 1956. — Prix : **500 F.**

N° 9. — **Etude sur la maladie de Bouillaud et son traitement**, par J. CHEVALLIER, Paris 1956. — Prix : **1 100 F.**

N° 10. — **Rapport d'enquête sur la réadaptation fonctionnelle des adultes en France**, par H. G. POULIZAC, Paris 1956. — Prix : **1 000 F.**

N° 11. — **Etude pour l'établissement de rations alimentaires pour le tuberculeux en sanatorium**, par F. VINIT et J. TRÉMOLIÈRES, Paris 1957. — Prix : **1 250 F.**

N° 12. — **Le cancer chez le noir en Afrique française**, par P. F. DENOIX et J. R. SCHLUMBERGER, Paris 1957. — Prix : **1 500 F.**

N° 13. — **Broncho-pneumopathies à virus et à rickettsies chez l'enfant**, par R. SOHIER, M. BERNHEIM, J. CHAPTAL et M. JEUNE. — Prix : **1 300 F.**

N° 14. — **L'assistance psychiatrique aux malades mentaux d'origine nord-africaine musulmane en métropole**, par G. DAUMEZON. Y. CHAMPION et Mme J. CHAMPION-BASSET, Paris 1957. — Prix : **1 200 F.**

N° 15. — **Documents statistiques sur l'épidémiologie des infections typho-paratyphoïdiques, de la poliomyélite et des brucelloses en France en 1954 et 1955**, par P. CHASSAGNE et Y. GAIGNOUX. — Prix : **1 100 F.**

N° 16. — **La pathologie régionale de la France. Tome I, Régions du Sud et de l'Ouest**, par R. MAROT. Prix **3 500 F.**

N° 17. — **La pathologie régionale de la France. Tome II, Régions du Nord, de l'Est et du Centre**, par R. MAROT. Prix **3 400 F.**

Vente des publications à

L'INSTITUT NATIONAL D'HYGIÈNE

3, rue Léon-Bonnat, Paris (16e) — AUTeuil 32-84

Numéro de chèque postal : Institut National d'Hygiène, 9062-38 Paris

AVANT-PROPOS

Dans ses séances des 18 Avril, 9 Mai et 13 Juin 1955 le Conseil Supérieur d'Hygiène publique de France a procédé à "l'examen d'un projet de décret relatif au lait destiné à la consommation humaine, refonte des décrets des 26 et 28 Avril 1939 relatifs au contrôle du lait cru et du lait pasteurisé".

A la suite d'un assez long échange de vues entre plusieurs des membres du Conseil, celui-ci a préconisé les méthodes de pasteurisation suivantes :

63° pendant 30 minutes pour la pasteurisation basse,

chauffage instantané à 95° pour la pasteurisation haute

et il a "recommandé expressément de ne consommer le lait cru ou pasteurisé qu'après qu'il aura été porté à l'ébullition pendant au moins cinq minutes, la pasteurisation ne donnant jamais les garanties d'une stérilisation et en particulier en ce qui concerne la destruction des bacilles de Koch".

Des articles parus dans la "Presse médicale" du 26 Janvier, du 14 Mai 1955 ont confirmé cette opinion de la majorité des médecins hygiénistes français.

Au cours des discussions au Conseil Supérieur d'Hygiène nous avions fait mention des nombreux travaux étrangers, émanant d'hygiénistes connus et appréciés, permettant de croire que les types de pasteurisation suivants :

62° pendant 30 minutes pour la pasteurisation basse,

72° pendant 16 secondes (High temperature, Short time - H.T.S.T.)

pour la pasteurisation haute, assuraient la destruction de tous les germes pathogènes pour l'homme, y compris le bacille tuberculeux. Notre intervention n'avait en rien modifié l'opinion de nos collègues.

Grâce à des fonds accordés par le Centre National de la Recherche Scientifique et à des allocations annuelles attribuées par l'Institut National d'Hygiène (Pr BUGNARD) nous avons pu créer à la Faculté de Médecine de Paris un Centre de recherche, en matière d'Hygiène alimentaire, où ont été conduits, avec nos Collaborateurs les Drs J. et P. LAFONT, attachés de recherche au C. N. R. S., des travaux relatifs d'une part à la destruction des bactéries par la chaleur, d'autre part à l'efficacité de la pasteurisation du lait.

Ce sont les résultats de ces recherches qui sont exposés dans cette monographie. Ils confirment les faits établis déjà depuis plusieurs années par la très grande majorité des Hygiénistes spécialisés dans les questions laitières, à savoir : le chauffage du lait en couche mince, à une température donnée, pendant un temps bien déterminé, conditions réalisables avec les appareils modernes de pasteurisation, assure la destruction des germes pathogènes et notamment du bacille tuberculeux.

Dr Armand NEVOT
Professeur à la Faculté de Médecine de Paris
Membre de l'Académie Nationale de Médecine.

INTRODUCTION

Il ne peut être donné de la pasteurisation du lait aucune définition générale faisant état de caractéristiques précises de chauffage. En effet, si de telles caractéristiques, relativement bien définies, sont mentionnées dans les réglementations officielles arrêtées par certaines nations, par contre, on peut y relever des divergences entre les chiffres qui y figurent. Dans ces conditions, une définition de la pasteurisation du lait ne peut être donnée qu'en fonction des buts qu'elle se propose d'atteindre en appliquant ce traitement thermique. On peut dès lors énoncer que cette pasteurisation consiste à soumettre le lait à une température inférieure au point d'ébullition du produit mais celle-ci doit être suffisante pour détruire avec certitude les espèces microbiennes pathogènes par ingestion pour l'homme, et pour détruire parallèlement une certaine proportion d'organismes vivants, non pathogènes, susceptibles, par leur présence, d'altérer le lait et de nuire à sa conservation, dans les conditions courantes de température, jusqu'au moment de sa consommation en nature. Le lait pasteurisé ayant comme principale destination celle d'être consommé en nature, il s'en suit que dans de nombreux pays les méthodes de pasteurisation préconisées, tout en répondant aux buts précédemment énoncés, visent d'autre part à n'apporter au produit aucune modification dans ses qualités organoleptiques et physico-chimiques. C'est ainsi que des normes de pasteurisation sont établies, prévoyant la mise en œuvre d'un chauffage assez faible pour, d'une part, ne pas modifier les matières grasses du lait et obtenir un produit pasteurisé présentant après repos une couche de crème aussi importante que le produit frais et, d'autre part, éviter de conférer à l'aliment tout "goût de cuit".

Le respect, d'une part, de ces dernières contingences se rapportant à des considérations d'ordre commercial plutôt qu'hygiénique et, d'autre part, de l'obtention de qualités hygiéniques se résument en une expression "absence dans le lait pasteurisé de germes microbiens viables pathogènes par ingestion", peut être obtenu par différents chauffages faisant appel à une série de combinaisons convenables de durée et température. La codification de ces combinaisons est basée sur une série de travaux expérimentaux, en particulier ceux de DAHLBERG (1 et 2) et de HOLLAND et DAHLBERG (3).

La présente étude est uniquement d'ordre sanitaire et prophylactique et vise des maladies humaines transmissibles par voie digestive. Elle se divise en deux parties : d'une part, une étude théorique de la thermo-résistance des

espèces bactériennes pathogènes pouvant souiller le lait, d'autre part, une expérimentation conduite en utilisant un appareil expérimental de pasteurisation.

L'étude théorique de la thermo-résistance de bactéries pathogènes a été entièrement conduite en laboratoire. Les conditions expérimentales réalisées étant très différentes de celles qui caractérisent la pasteurisation industrielle, les résultats obtenus ne peuvent être directement utilisés pour juger de la garantie hygiénique que doit conférer ce traitement aux laits du commerce.

L'intérêt de cette étude réside dans le fait que le travail en laboratoire a permis d'obtenir des résultats numériques précis, la répétition des essais y étant plus aisée; d'autre part, elle a facilité l'étude de l'influence sur la thermo-résistance des bactéries de variation de certains paramètres tels que : nature de la phase dispersante de la suspension microbienne (émulsion en eau, en lait stérile, en lait cru), pH de cette phase dispersante, densité microbienne de la suspension soumise au chauffage, âge des germes de cette suspension. En outre, les résultats obtenus peuvent servir de confirmation aux conclusions que nous ont permis d'élaborer les essais effectués avec une installation expérimentale de pasteurisation.

L'intérêt primordial de ces derniers essais est qu'ils ont été conduits en utilisant un appareil parfaitement identique dans sa conception et son mode de fonctionnement aux installations industrielles modernes équipant les usines laitières approvisionnant les grands centres urbains. Ces installations permettent d'effectuer une pasteurisation du type H. T. S. T. ("high temperature - short time"). Nous verrons ultérieurement, en définissant les autres méthodes de pasteurisation, que, bien qu'elles soient différentes dans leur principe de la méthode H. T. S. T., l'appréciation de leur efficacité en matière d'assainissement du lait peut être déduite de l'ensemble de nos résultats expérimentaux.

L'ensemble de nos travaux a porté sur les espèces bactériennes, pathogènes par ingestion pour l'homme et pouvant contaminer le lait. En nous basant sur une série de documents bibliographiques, nous avons récemment (4) fait un inventaire de ces bactéries. Cet inventaire comporte en résumé :

1) Des bactéries provenant d'animaux malades

- les brucelles,
- le bacille de Koch du type bovin et, à titre exceptionnel, celui du type aviaire,
- certains staphylocoques β hémolytiques,
- certains streptocoques des groupes B et C de Lancefield.

2) Des bactéries provenant d'animaux porteurs sains

- les salmonelles,
- les bactéries agents d'intoxications ou de toxi-infections alimentaires.

3) Des bactéries pathogènes apportées par des souillures émanant d'humains malades ou porteurs sains, soit directement, soit par l'intermédiaire de l'eau de lavage des ustensiles laitiers

- les staphylocoques,
- les streptocoques,

- les salmonelles,
- les shigelles,
- le vibrion cholérique,
- E. coli, et en particulier, les variétés sérologiques agents de gastro-entérites infantiles,
- le bacille diphtérique,
- le bacille tuberculeux de type humain.

Parallèlement à l'étude de ces thermo-résistances de germes pathogènes, nous avons consacré certains travaux à celle des bactéries non pathogènes, qui, si elles sont présentes en trop grande abondance dans un lait, peuvent être exceptionnellement à l'origine d'intoxications alimentaires, ou bien, plus fréquemment, peuvent nuire à la conservation du produit. Nous n'avons pas pensé, par contre, devoir faire porter nos investigations sur des espèces bactériennes pathogènes, tel Cl. Botulinum, agents d'affections humaines pour lesquelles le lait n'a jamais été signalé comme vecteur de contamination. (1)

(1) Dans cet ouvrage ne sont rapportés que des travaux relatifs à des espèces bactériennes; nous poursuivons actuellement une expérimentation analogue destinée à juger de la valeur de la pasteurisation du lait en matière de destruction de virus et de rickettsies; les résultats en seront publiés ultérieurement.

I - LES MÉTHODES DE PASTEURISATION

Il serait hors de propos d'envisager dans le présent ouvrage une étude des installations de pasteurisation du lait en se plaçant sur le plan de la technologie. Nous voulons simplement rappeler quelles sont, dans leurs grandes lignes, les méthodes actuellement utilisées dans l'industrie laitière, ceci afin de pouvoir, d'une part, préciser ultérieurement les similitudes ou les divergences existant entre ces méthodes et celles, expérimentales, qui ont été à la base de notre étude et, d'autre part, déduire des résultats obtenus des conclusions pratiques en matière de réalisations industrielles de la pasteurisation du lait.

Dans les pays bénéficiant actuellement d'un développement économique suffisant et dont les autorités compétentes ont élaboré des méthodes de contrôle du fonctionnement des installations industrielles, ces dernières répondent à deux types principaux :

- les installations de pasteurisation rapide à haute température (type "high temperature, short time", ou H. T. S. T.)

- des installations de pasteurisation basse continue.

A côté de ces deux types, existent encore dans des usines ne traitant que de plus faibles quantités de lait, des installations de pasteurisation basse discontinue, en cuves.

A - PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DES INSTALLATIONS DE PASTEURISATION RAPIDE A HAUTE TEMPÉRATURE H.T.S.T.

Les installations du type H. T. S. T. permettent de traiter le lait en courant continu; ce courant de lait est soumis, au cours de trois étapes successives, d'abord à une élévation progressive de température, ensuite à l'effet d'un chauffage à température constante, puis à un refroidissement progressif.

1 - PLAN GÉNÉRAL DE FONCTIONNEMENT

Le plan général de fonctionnement peut être brièvement exposé en suivant le cheminement du lait dans l'installation. Le lait est amené du tank d'attente dans un bac régulateur où il est maintenu à un niveau constant à partir duquel une pompe le propulse dans les canalisations de l'échangeur thermique. Nous verrons ultérieurement comment est construit cet échangeur thermique. Dans cet appareil, schématisé sur la figure 1, le lait cru emprunte, dans une première section (AB, fig. 1), des canalisations dont la paroi est chauffée par contact avec le lait qui a préalablement été porté à la température de pasteurisation, et dirigé vers une cuve de stockage ; ce lait se refroidit ainsi en échangeant des calories avec le lait cru. Ensuite la température de ce dernier s'élève du fait qu'il circule dans des canalisations baignées extérieurement par un courant d'eau chaude (section BC, fig. 1); lorsque le lait a atteint la température maxima désirée (soit au point C du schéma de la fig. 1), il entre dans un élément dit de chambrage qu'il parcourt en un

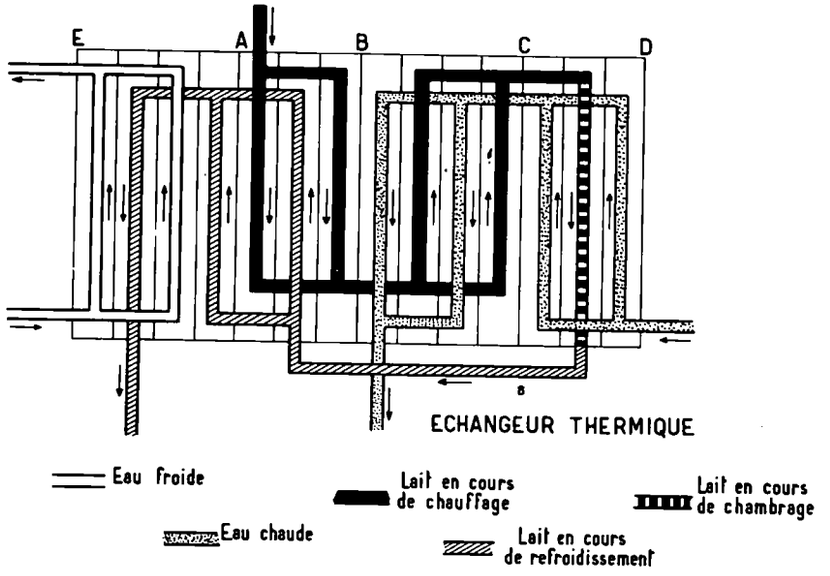


Fig. 1

temps déterminé et où il est maintenu à une température constante. Ce "chambreur" est constitué, soit par une partie de l'échangeur thermique, comme il est représenté sur la figure 1 - section CD -, soit par un tube métallique placé dans un compartiment à l'abri de l'air, distinct de l'échangeur. Dans la dernière partie de son parcours, le lait se refroidit, tout d'abord en circulant, comme nous l'avons précisé ci-dessus, au contact des canalisations contenant le lait en voie de chauffage, puis (section AE, fig. 1), au contact de canalisations empruntées soit, le plus fréquemment, par de l'eau glacée, soit, rarement, par de la saumure froide.

2 - L'ÉCHANGEUR THERMIQUE

Dans la majorité des installations de pasteurisation du type H. T. S. T., l'échangeur thermique est constitué par une série de plaques métalliques en acier inoxydable qui sont disposées parallèlement les unes aux autres. Assemblées, ces plaques ménagent entre elles des espaces empruntés les uns par le lait, les autres par le liquide destiné soit à le réchauffer, soit à le refroidir. L'alimentation de ces espaces se fait par des perforations situées dans les angles, disposées de telle sorte que, de part et d'autre d'une même plaque, la circulation des deux fluides se fasse à contre-courant, ce qui assure des variations progressives de la température du lait. Sur chacune de leur face, les plaques présentent un gaufrage, souvent composé d'une série de cannelures parallèles disposées perpendiculairement au courant du liquide et d'ondulations annexes dirigées dans le sens du courant. Les cannelures sont destinées à provoquer une turbulence maxima dans l'écoulement du liquide, moyen permettant d'atteindre un bon coefficient d'échanges thermiques et capable de remédier aux phénomènes de "gratinage". Ces ondulations annexes amènent une bonne répartition du liquide sur toute la surface de la plaque et donnent à cette dernière une certaine rigidité. Du fait de leur gaufrage, deux plaques successives limitent une nappe de lait dont l'épaisseur n'est pas uniforme: cette épaisseur varie généralement entre 1 et 4 mm.

3 - SYSTÈME DE RÉGULATION DU COURANT DE LAIT

La durée du chauffage du lait étant directement fonction de sa vitesse de passage dans l'échangeur thermique, l'alimentation de celui-ci est assurée, soit par une pompe à débit constant, soit par une simple pompe centrifuge couplée avec un appareil de régulation de débit. Quel que soit le système adopté, à la sortie du chambreur est placée une vanne de dérivation. Cet appareil rejette automatiquement dans le lac régulateur d'entrée, afin qu'il soit traité de nouveau, le lait qui se présente à la sortie du chambreur à une température inférieure à celle désirée et préalablement fixée. La vanne peut, en outre, être équipée d'un système de détection des fuites pouvant survenir dans l'installation.

Dans ces conditions de fonctionnement, une installation de pasteurisation du type H. T. S. T. peut réaliser un traitement thermique du lait correspondant parfaitement à des normes définies préétablies.

4 - NORMES DE PASTEURISATION H.T.S.T.

Primitivement défini en Grande-Bretagne et aux Etats-Unis, le procédé H. T. S. T. doit, d'après les règlementations officielles de ces deux pays, comporter un chauffage du lait à une température comprise entre 71°C et 72°C pendant un temps d'au moins 15 secondes. Dans un certain nombre de pays, des normes voisines de pasteurisation ont été adoptées : pour l'Australie, l'Autriche, le Canada, le Danemark, l'Allemagne, l'Irlande, l'Italie, le Luxembourg, les Pays-Bas, la Norvège, l'Espagne et la Suisse, ces normes sont comprises entre les valeurs extrêmes suivantes : 70°C et 75°C, 10 à 40 secondes. Par contre, des méthodes de pasteurisation qui sont dérivées du procédé H. T. S. T. et réalisables avec les mêmes types d'installa-

tions industrielles ont été officiellement adoptées par quelques nations; mais dans celles-ci le lait est porté à des températures bien supérieures; c'est ainsi qu'en France, un décret du 21 Mai 1955 définit une "pasteurisation haute" comportant un "chauffage instantané à 95°". Le même décret prévoit la possibilité pour les industriels d'effectuer la pasteurisation à des températures moins élevées; dans la plupart des installations, la température de chauffage du lait est de l'ordre de 85°C.

De même, sont officiellement admises les normes suivantes de pasteurisation haute :

- en Autriche et en Suisse : chauffage instantané à 85°C
- au Danemark, aux Pays-Bas et en Norvège, chauffage instantané à 80°C
- en Allemagne : chauffage à 85°C pendant 2 à 60 secondes.

B - PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DES INSTALLATIONS DE PASTEURISATION BASSE

1 - PASTEURISATION CONTINUE

Dans les installations de pasteurisation basse continue, l'élévation de la température du lait cru est réalisée par passage à travers un échangeur thermique du même type que ceux utilisés en pasteurisation de type H.T.S.T. A la sortie de cet échangeur, le lait est dirigé vers un bac de chambrage dans lequel il reste pendant un temps déterminé à une température constante. Ce type d'installation ayant un fonctionnement presqu'entièrement automatique, il peut être équipé d'appareils régulateurs et de systèmes de sécurité.

2 - PASTEURISATION EN CUVE

Le lait cru est placé dans une cuve métallique à double paroi. Entre les deux parois circule de l'eau chaude ou de la vapeur. Au cours du chauffage, le lait est constamment brassé par une hélice tournant à faible vitesse. Le réglage de la circulation d'eau chaude permet de porter le lait à la température désirée et ensuite de le maintenir à cette température pendant un certain temps.

3 - NORMES DE PASTEURISATION BASSE

Dans tous les pays où la pasteurisation basse est officiellement définie, le temps de chambrage adopté est de 30 minutes; la température à laquelle doit être maintenu le lait pendant ce chambrage varie de 61,1°C (Australie) à 65,6°C (limite supérieure mentionnée par les règlementations anglaise, irlandaise et néo-zélandaise). En France la température admise est 63°C.

II - ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ A LA CHALEUR DES BACTÉRIES PATHOGÈNES OU COMMENSALES POUVANT CONTAMINER LE LAIT

Les travaux expérimentaux relatés dans le présent chapitre ont eu pour but de déterminer, avec le plus d'exactitude possible, les caractéristiques des chauffages capables d'amener la destruction totale de populations bactériennes. Ils ont, en outre, pu permettre d'apprécier les différences de sensibilité au chauffage présentées par des souches pures appartenant à la même espèce microbienne et de préciser l'influence, sur la sensibilité des bactéries à la chaleur, des variations de divers paramètres.

Après notre protocole expérimental, nous rapporterons les résultats obtenus relatifs à la destruction de populations microbiennes de densités très élevées en suspension dans de l'eau physiologique, du lait stérile ou du lait cru. Nous envisagerons enfin l'effet, sur le phénomène étudié, de la dilution de la suspension, de l'âge des bactéries, et de la valeur du pH de la phase dispersante.

A - PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

1 - MÉTHODE DE CHAUFFAGE

a) Un bain-marie à eau, réglé à la température désirée, est garni de tubes en verre d'un diamètre intérieur de 11 millimètres; chaque tube contient 1,9 ml d'eau physiologique stérile, de lait stérilisé par autoclavage ou de lait cru. Ces tubes sont placés dans le bain-marie pendant un temps suffisamment long pour qu'au moment de la manipulation proprement dite, l'équilibre thermique entre leur contenu et l'eau de l'appareil soit atteint. L'obtention de cet équilibre est vérifié par l'emploi d'un couple thermo-électrique. (1)

b) Au temps 0, un volume de 0,1 ml de la suspension du germe étudié est injecté à la pipette dans la masse de liquide (eau physiologique ou lait) préchauffé, contenu dans chacun des tubes.

(1) Nous avons employé au début de nos expériences des tubes métalliques de 4 mm de diamètre. Bien que l'équilibre thermique se réalise mieux dans de tels tubes, les difficultés des manipulations nous les ont fait abandonner.

c) Après un laps de temps arbitrairement déterminé, les germes sont soustraits à l'action de la chaleur par adjonction rapide, dans le tube, de 2 ml d'eau physiologique froide. Sans marquer aucun temps d'arrêt, 2 ml du mélange ainsi obtenu sont aspirés dans une pipette froide et servent à effectuer la recherche des germes survivant au chauffage.

L'adoption de cette méthode de chauffage des suspensions microbiennes, différente quant à son principe de celles utilisées par les auteurs qui ont antérieurement étudié la thermo-résistance des bactéries, a été guidée par le souci de satisfaire à trois conditions :

- soumettre chaque unité microbienne à l'effet d'un chauffage, caractérisé par un diagramme représentatif des variations de température en fonction du temps se rapprochant le plus possible d'un diagramme idéal de forme rectangulaire; cette condition satisfaite, il est alors possible de procéder à des chauffages parfaitement caractérisés, d'une durée très brève, de l'ordre de 2 secondes; d'autre part, chauffage et refroidissement étant brutaux, les germes sont soumis à l'action de "doses" thermiques dont la détermination exacte est facile;

- pouvoir mesurer avec précision la température à laquelle est portée effectivement chaque unité microbienne.

- assurer un chauffage homogène de toute la suspension microbienne.

Une étude préliminaire des variations des conditions thermiques réalisables par la méthode précédemment décrite, nous a montré que la mise en œuvre de cette dernière respecte les conditions énoncées.

Les essais préliminaires qui ont prouvé la validité de la méthode de chauffage ont été effectués en utilisant, pour déterminer les variations des températures, un appareillage comprenant :

- un potentiomètre MECI, type ES. PM.

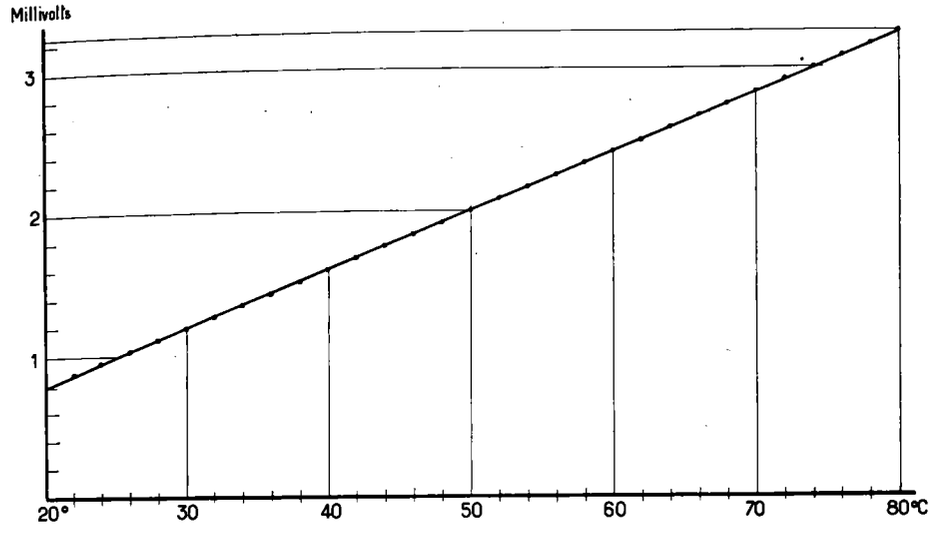
- un couple thermo-électrique constitué par deux fils : l'un de chromel, et l'autre d'alumel, dont les diamètres de section étaient de 0,08 mm.

La sensibilité du montage, pour des températures comprises entre 0° et 100°C, est telle qu'une variation de température de 1°C se traduit par une modification de la f. e. m. de 0,05 millivolt. (cf. graphique n° 1). D'autre part, toute variation de température de quelques degrés (+/- 5°C) entraîne une variation de la f. e. m. se produisant sans retard appréciable.

Les mesures du temps ont été faites à l'aide d'un chronomètre de précision. Il est à noter que toute l'expérimentation a été réalisée par les mêmes manipulateurs qui, entraînés à ce travail de routine, effectuaient, au cours de la répétition des opérations, chaque geste technique pendant un temps parfaitement déterminé.

Variations de la température lors de l'introduction de 0,1 ml d'eau physiologique à 15°C dans un volume 19 fois supérieur de même liquide préalablement chauffé :

Les mesures ont été effectuées dans des tubes placés au bain-marie, celui-ci étant réglé à des températures s'échelonnant entre 65°C et 75°C.



Graphique 1

Relations entre f. e. m. et température avec un thermo-couple Chromel-Alumel (soudure froide à 0°C - Potentiomètre MECI type ES. PM).

Sur les graphiques n°s 2 et 2 bis, sont figurées certaines des courbes construites en fonction des résultats de ces mesures; chaque point représentatif correspond à la moyenne calculée à partir de dix lectures.

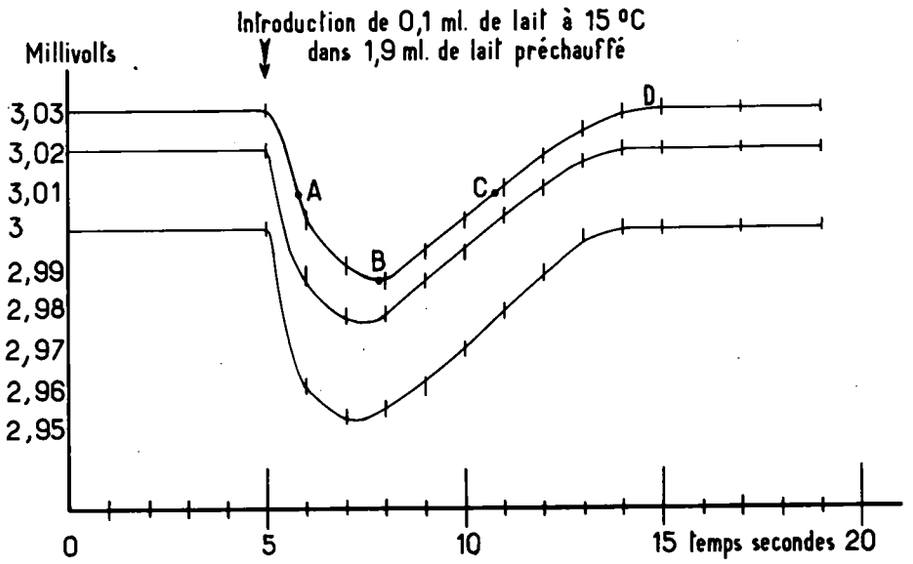
On peut remarquer l'homogénéité des valeurs numériques relevées au cours des expériences successives; en aucun cas, l'écart type n'a été supérieur à 2/1 000ème de millivolt, valeur correspondante à 0,04°C.

Il ressort de l'étude de ces courbes qu'après l'adjonction de liquide physiologique à 15°C, adjonction effectuée au temps 0, on assiste à une baisse de la température du contenu du tube. Les maxima d'amplitude de la chute thermique s'observent entre la troisième et la cinquième seconde suivant que l'on opère sur des tubes préalablement chauffés à 74°C ou à 56,5°C; leurs valeurs sont, dans tous les cas, très voisines de 1°C (valeurs extrêmes 0,042 millivolt - 0,049 millivolt). Quelle que soit la température préalable du contenu du tube, dans les limites précédemment mentionnées, 10" après l'adjonction du liquide froid, l'équilibre thermique entre le contenu de ce tube et l'eau de bain-marie s'est restauré.

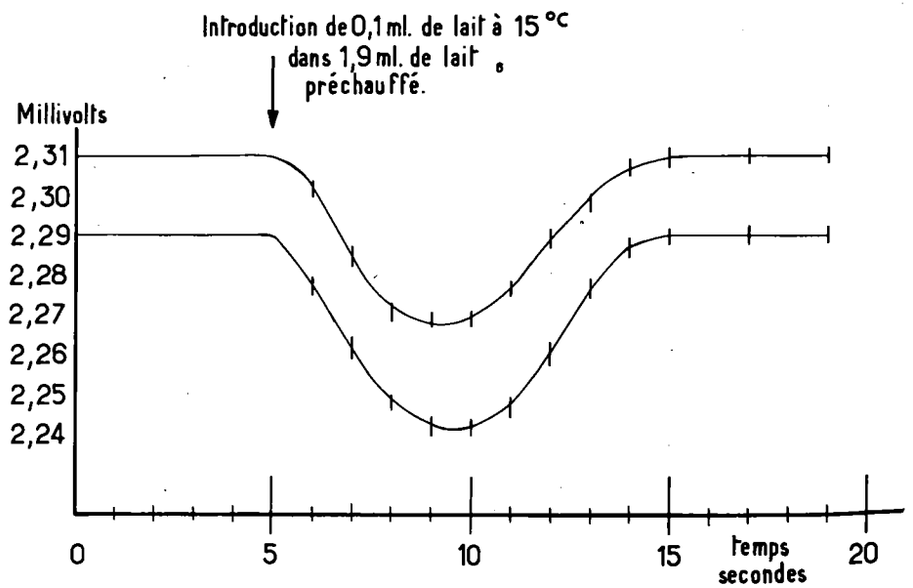
En appréciant approximativement les surfaces limitées par les segments AB, BC, CD des courbes obtenues et par des droites parallèles aux axes passant par les quatre points A, B, C, D (les points A et C ont pour ordonnées la moyenne des ordonnées des points B et D), on peut estimer valables les conclusions d'ordre pratique suivantes :

- pour des temps voisins de 10", le chauffage effectif subi par chaque unité microbienne, correspond à une température inférieure à 0,5°C à celle du bain-marie;

- pour des temps voisins de 4", ce chauffage effectif correspond à une température inférieure de 1°C à celle du bain-marie;



Graphique 2



Graphique 2 bis

- pour des temps supérieurs à 15", on peut négliger la baisse passagère de la température.

Ces corrections ont été effectuées dans l'exposé des résultats expérimentaux figurant ci-après.

Variations de la température lors de l'introduction de 2 ml d'eau physiologique à 15°C dans un tube contenant 2 ml de liquide (eau ou lait), placé au bain-marie à une température comprise entre 56°C et 80°C.

Les mesures de ces variations de la température nous ont permis d'apprécier les modalités du refroidissement obtenu par le procédé adopté. Les valeurs suivantes ont été enregistrées au cours d'une série de mesures :

Températures initiales	Températures atteintes après adjonction d'eau physiologique froide
80°	48° +/- 2°
75°	44°8 +/- 1°8
70°	43°5 +/- 2°1
65°	41°8 +/- 1°7
60°	39°7 +/- 1°4
56°	38°8 +/- 2°1

Dans le tableau ci-dessus, les chiffres de la colonne de droite correspondent à des lectures effectuées 3" après l'adjonction d'eau physiologique froide. Ce laps de temps est conditionné par l'inertie du système de mesure.

On peut donc admettre, en rappelant que lors des manipulations la suspension microbienne est soustraite à l'effet de la chaleur par aspiration immédiate dans la pipette qui a servi à introduire l'eau froide dans les tubes, que le procédé de refroidissement usité permet une cessation brutale du chauffage.

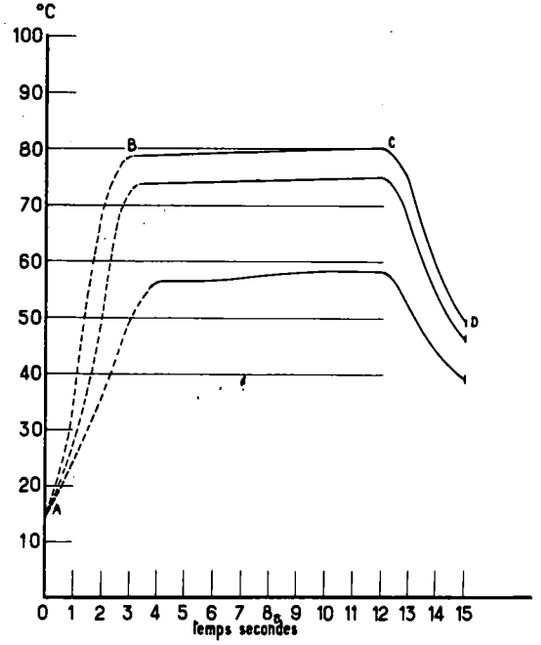
Les résultats relatés ci-dessus et obtenus lors des essais sur les variations de températures réalisées par la méthode de chauffage adoptée, permettent de tracer un diagramme représentatif des conditions thermiques auxquelles peuvent être soumises les suspensions microbiennes. Trois exemples de tels diagrammes sont donnés dans le graphique n° 3. Seule la partie ascendante de ces courbes, correspondant à des intervalles de temps de l'ordre de 3" dans le cas de chauffages à des températures supérieures à 70°C, de l'ordre de 4" dans le cas de chauffages à des températures inférieures à 60°C, n'a pas été construite en fonction de données expérimentales.

Ces diagrammes représentent effectivement le chauffage subi par chaque unité microbienne de la suspension. En effet, dans notre protocole expérimental, celle-ci est introduite à la pipette à raison de 0,1 ml dans la masse du liquide préchauffé. Dans ces conditions, les mouvements de convexion assurent très rapidement la répartition homogène de la suspension microbienne dans ce liquide; ceci a été vérifié par des mesures des variations thermiques effectuées en plaçant l'extrémité de la sonde thermo-électrique successivement à plusieurs niveaux dans le tube immergé dans le bain-marie.

2 - LES SUSPENSIONS BACTÉRIENNES

Les suspensions bactériennes soumises au chauffage ont été dans la plupart de nos expériences réalisées à partir de cultures en bouillon nutritif et ayant subi une incubation de 24 heures à 37°C. Après introduction de

0,1 ml dans 1,9 ml de liquide préchauffé, la suspension obtenue titrait régulièrement plus de 1.10^7 germes/ml. Pour chaque espèce bactérienne, cette densité a été déterminée par ensemencement de dilutions successives en gélose nutritive ; les valeurs ainsi déterminées seront ultérieurement indiquées à l'occasion de chaque germe. Dans le cas des Brucelles et du Bacille de Koch, les cultures en milieu liquide qui ont servi pour préparer les émulsions avaient subi des incubations respectivement de 5 jours et 10 jours à 37°C.



Graphique 3 Diagrammes de chauffages obtenus dans l'installation de laboratoire.

3 - MÉTHODE DE RECHERCHE DES BACTÉRIES SURVIVANT AU CHAUFFAGE

La recherche des bactéries survivantes après chauffage a été effectuée sur au moins la moitié, soit 2 ml, de la suspension. Sauf exceptions, qui seront ultérieurement mentionnées (cf. bacille de Koch, Brucelles. Streptocoques), la suspension microbienne en eau physiologique stérile a été ensemencée en bouillon nutritif ou en bouillon glucosé, la suspension en lait préalablement stérilisé, en bouillon glucosé additionné de bleu de bromothymol. L'utilisation de ce dernier milieu permet une appréciation directe d'un développement microbien, après ensemencement de 0,5 ml de lait, une telle appréciation ne pouvant être basée sur la turbidité développée dans le milieu. Nous n'avons utilisé le bouillon glucosé qu'après avoir vérifié que les mêmes chauffages assurent non seulement la destruction des germes dans leur vitalité mais encore leur pouvoir de fermenter le glucose. Les suspensions en lait cru ont été ensemencées en milieux de culture sélectifs appropriés, dont nous avons au préalable testé la valeur en matière de possibilité de détection de quelques bactéries.

4 - CONDUITE DE L'EXPÉRIMENTATION RELATIVE A UNE ESPÈCE BACTÉRIENNE

Pour chaque espèce microbienne, nous avons dans un premier temps déterminé pour certaines températures caractéristiques (75°, 70°, 65° et 60°C) la sensibilité au chauffage des suspensions microbiennes contenant la totalité des souches étudiées. Ensuite, pour ces mêmes chauffages, nous avons recherché le degré de sensibilité de chaque souche pure. Pour celles d'entre elles qui ont présenté la plus forte résistance à la chaleur, nous avons, dans un troisième temps, recherché quelles étaient les conditions de chauffage, à des températures autres que celles précédemment citées, qui étaient susceptibles d'en assurer la destruction.

Afin de faciliter l'exposé des résultats les différences, parfois relativement importantes, mises en évidence entre les deux souches présentant les thermo-résistances les plus faibles et les plus fortes, seront indiquées dans un tableau; par contre, sur chacun des graphiques relatifs à une espèce bactérienne, nous n'avons fait figurer que les valeurs numériques obtenues en opérant sur la souche qui présentait la thermo-résistance la plus élevée. Sur ces graphiques sont portées, pour chaque température étudiée, les valeurs extrêmes, déterminées à l'occasion de plusieurs essais, du temps de chauffage nécessaire pour détruire la totalité des germes. Les valeurs de ces écarts sont mentionnées sur les graphiques. Elles sont exprimées en secondes.

Les courbes marquées de la lettre A figurent la sensibilité à la chaleur de suspensions microbiennes en eau physiologique stérile, les courbes marquées de la lettre B, celles d'émulsions en lait stérilisé, et les courbes, en trait discontinu, marquées de la lettre C, celles d'émulsions en lait cru. Dans tous les cas, les points figuratifs ayant servi à l'élaboration de ces courbes, correspondent à des conditions thermiques qui assurent la destruction totale de la population microbienne.

B - EXPÉRIMENTATION RELATIVE A CHAQUE ESPÈCE BACTÉRIENNE

RÉSULTATS

1 - BACILLE TYPHIQUE (SALMONELLA TYPHI)

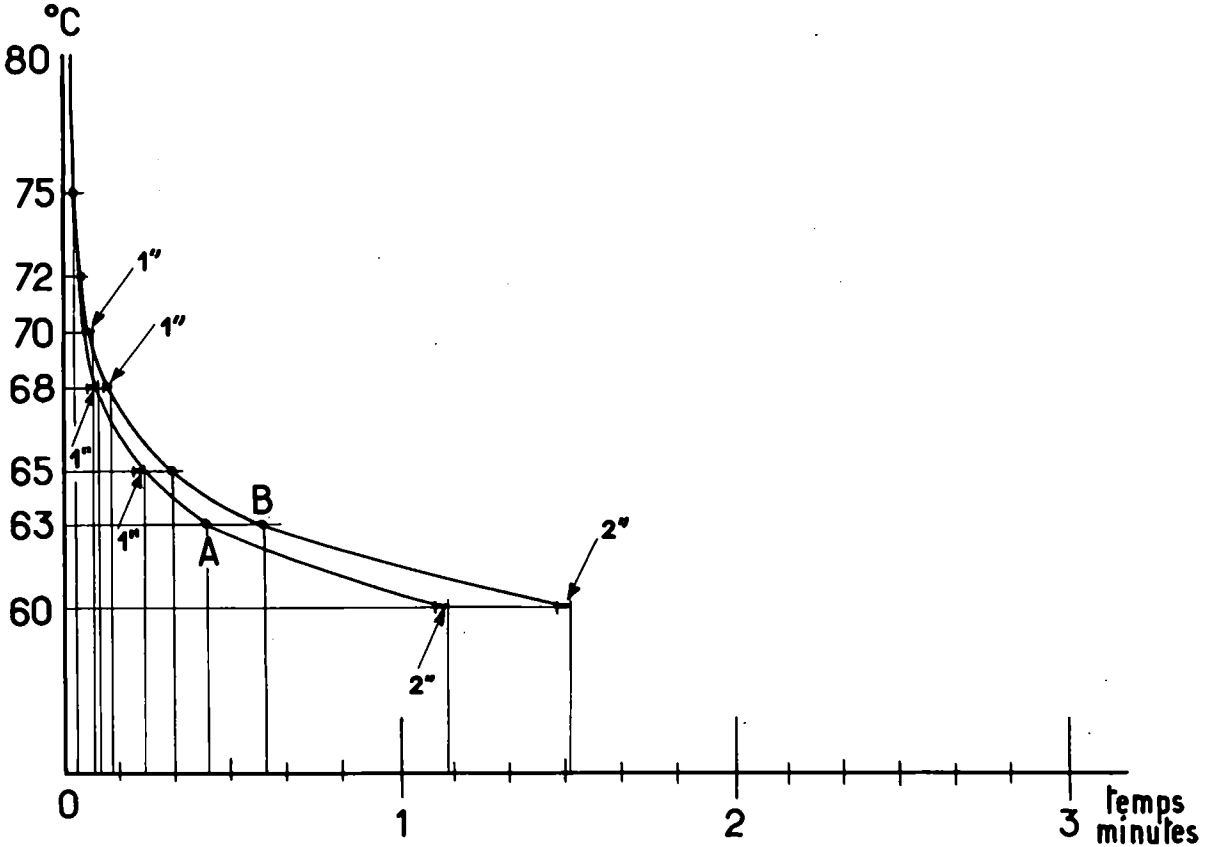
- Nombre de souches étudiées : trois

- Provenance des souches : une souche de collection,
deux souches récemment isolées par coproculture à partir de matières fécales humaines.

Ces trois souches étaient en phase S.

- Richesse des émulsions : 3.10^7 germes/ml.

Après chauffage, les suspensions microbiennes en eau et lait stérilisés ont été ensemencées en bouillon glucosé, les suspensions en lait cru, en milieu sélectif au sélénite de sodium; les cultures développées dans ce dernier milieu ont été isolées sur gélose EMB Difco et les colonies caractéristiques, ultérieurement identifiées du point de vue sérologique.

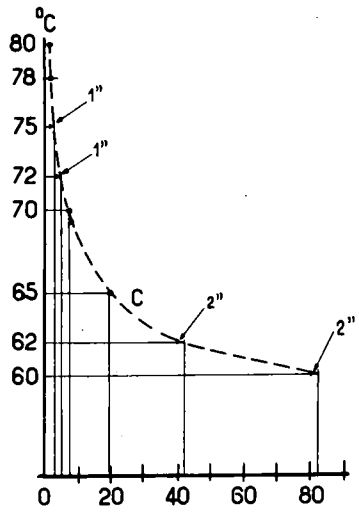


Graphique 4

Salmonella typhi.

Les chauffages suivants assurent la destruction des bacilles typhiques (voir aussi graphiques n°s 4 et 5).

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
75°	2"	2"	2" à 3"
72°	3"	3"	4" à 5"
70°	4"	4" à 5"	6" à 7"
65°	13" à 14"	17" à 19"	17" à 19"
63°	25"	32" à 35"	-
62°	-	-	36" à 42"
60°	1' à 1'8"	1'20" à 1'30"	1'16" à 1'22"



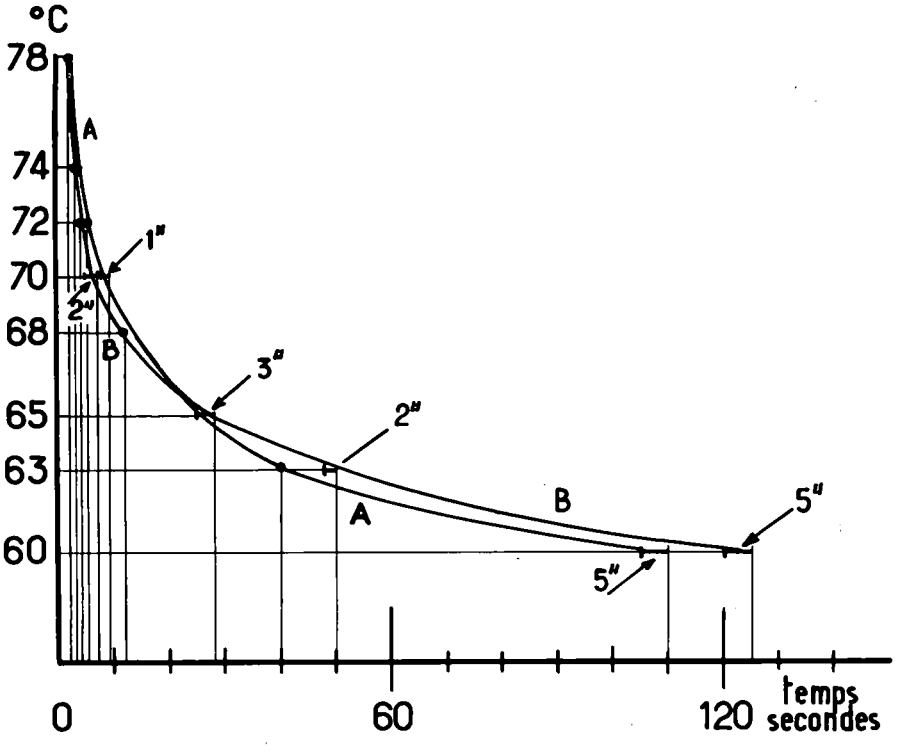
Graphique 5

Salmonella typhi.

2 - BACILLE PARATYPHIQUE B (SALMONELLA PARATYPHI B)

- Nombre de souches étudiées : deux
- Provenance des souches :
  - l'une isolée récemment par coproculture,
  - l'autre d'un liquide céphalo-rachidien (cas de méningite chez le nourrisson).
- Richesse des émulsions : 3.10^7 germes/ml.

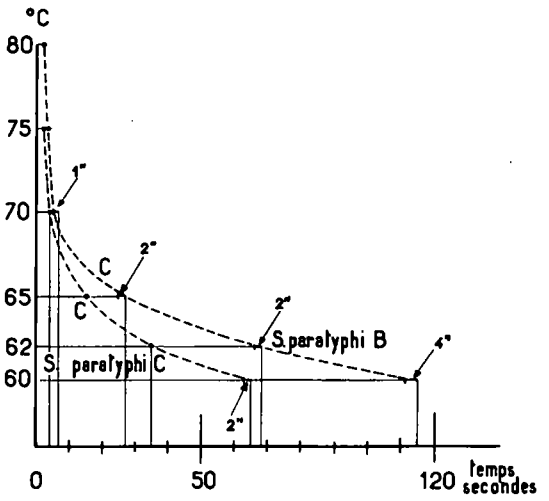
Après chauffage, la recherche des germes survivants a été effectuée sur les mêmes milieux que ceux employés lors de l'expérimentation relative



Graphique 6

Salmonella paratyphi B.

au bacille typhique; les colonies du type salmonelle développées sur gélose EMB ont été identifiées par recherche des caractères biochimiques et sérologiques classiques.



Graphique 7

Salmonella paratyphi B et salmonella paratyphi C.

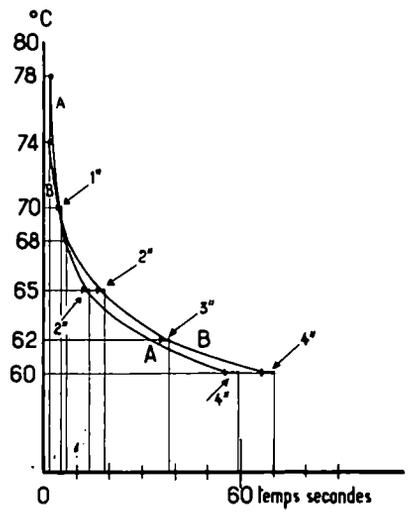
Les chauffages suivants assurent la destruction du bacille paratyphique B (voir aussi graphiques n° 6 et 7) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
78°	2"	2"	2"
75°	3" à 4"	2" à 3"	3"
74°	3" à 4"	3"	-
72°	5" à 6"	4"	4"
70°	7" à 9"	5" à 7"	5" à 6"
68°	15"	12"	-
65°	24" à 27"	24" à 28"	24" à 27"
63°	40"	48" à 50"	-
62°	-	-	1'06"
60°	1'42" à 1'50"	2' à 2'05"	1'46" à 1'55"

3 - BACILLE PARATYPHIQUE C (SALMONELLA PARATYPHI C)

- Nombre de souches étudiées : deux.
- Provenance des souches :
  - une souche de collection,
  - une souche isolée de matières fécales.
- Richesse des émulsions : $3,5.10^7$ germes/ml.

La recherche des bactéries survivantes au chauffage a été effectuée suivant la même méthode que celle employée pour les bacilles typhique et paratyphique B.



Graphique 8

Salmonella paratyphi C.

Les chauffages suivants assurent la destruction des bacilles paratyphiques C (voir aussi graphiques n°s 7 et 8) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
78°	2"	-	-
75°	-	-	2"
74°	3"	2"	2"
72°	4"	3"	3"
70°	4" à 5"	4" à 5"	4" à 5"
68°	5" à 7"	6" à 7"	-
65°	12" à 14"	16" à 18"	15"
62°	30" à 34"	35" à 38"	35"
60°	1' à 1'04"	1'05" à 1'10"	1'05" à 1'10"

4 - BACILLE D'AERTRYCKE (SALMONELLA TYPHI MURIUM) — BACILLE DE GÄRTNER (SALMONELLA ENTERITIDIS) —SALMONELLA-DUBLIN — SALMONELLA-ANATUM

- Nombre de souches étudiées : deux pour chaque espèce.
- Provenance des souches : souches de collection.
- Richesse des émulsions : environ 3.10^7 germes/ml.

Après les chauffages, les émulsions en eau et lait stérilisés ont été ensemencées dans des bouillons glucosés; les émulsions en lait cru, en milieu d'enrichissement de Müller et Kauffmann; les cultures développées dans ce dernier milieu ont été isolées sur gélose EMB Difco, et les colonies de type Salmonella identifiées biochimiquement.

Les chauffages suivants assurent la destruction de ces bactéries (voir aussi graphiques n°s 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 et 16) :

SALMONELLA TYPHI MURIUM

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
75°	6"	3" à 4"	4"
72°	7" à 8"	6"	6"
70°	9"	8"	7" à 8"
68°	13"	12" à 13"	13" à 14"
65°	32" à 35"	38" à 42"	36" à 40"
62°	70" à 74"	92" à 96"	88" à 90"
60°	102" à 105"	145" à 150"	135" à 198"

SALMONELLA ENTERITIDIS

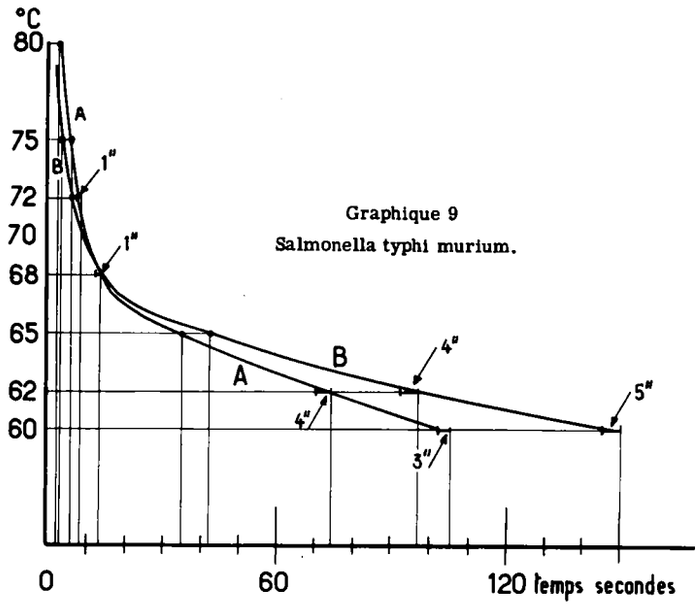
Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
75°	6"	5"	5"
72°	10"	8"	8"
70°	14"	14" à 15"	13"
68°	20"	27" à 29"	25" à 26"
65°	44" à 49"	67" à 70"	67" à 70"
62°	95" à 100"	135"	135" à 140"
60°	140" à 145"	190" à 194"	-

SALMONELLA DUBLIN

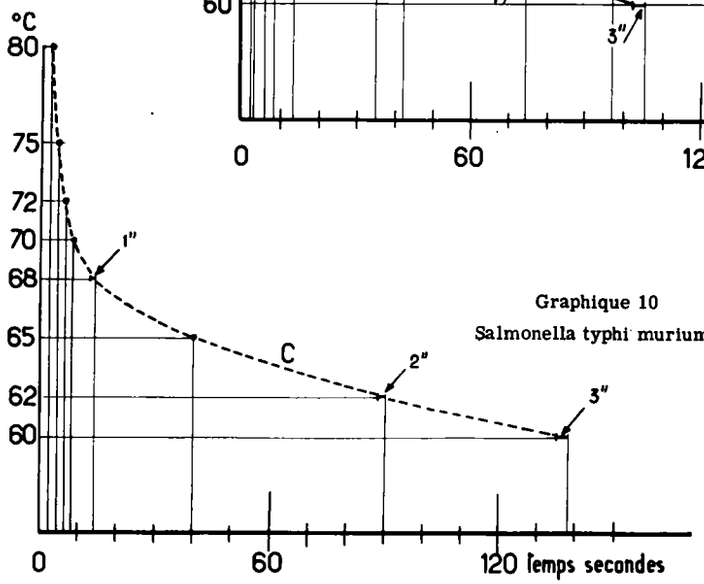
Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	-	-
78°	3"	2"	2"
75°	5"	2"	2" à 3"
72°	6"	6" à 7"	6" à 7"
70°	9"	12" à 13"	11" à 13"
68°	15"	25"	24" à 25"
65°	42" à 46"	60" à 65"	60" à 65"
62°	112"	140" à 145"	140"
60°	156" à 160"	195" à 200"	-

SALMONELLA ANATUM

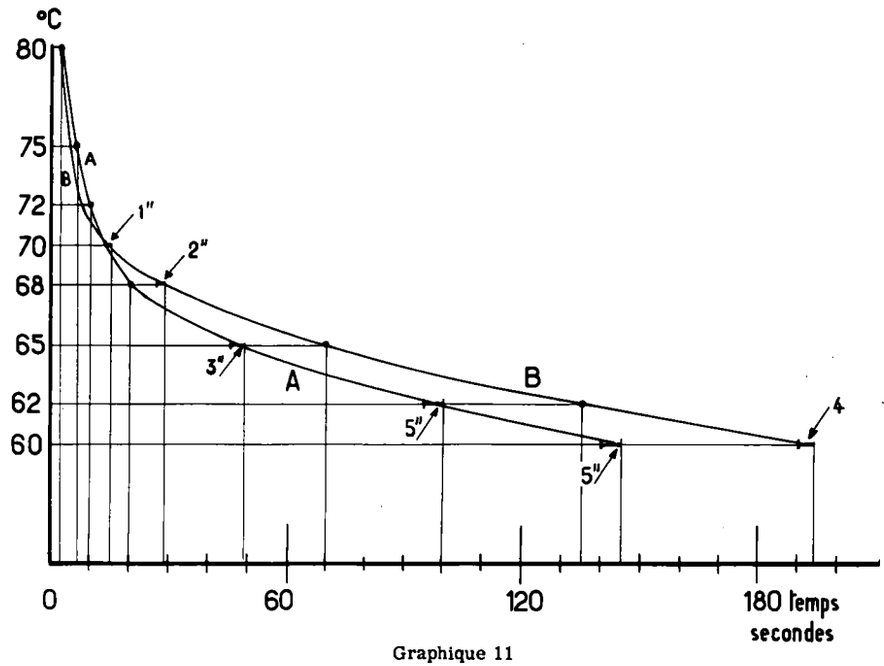
Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
75°	6"	5"	4" à 5"
72°	8"	6" à 7"	6"
70°	9" à 10"	10"	9"
68°	15"	18" à 20"	18"
65°	35"	42" à 45"	40" à 43"
62°	75"	85" à 90"	85"
60°	100" à 105"	125" à 130"	-



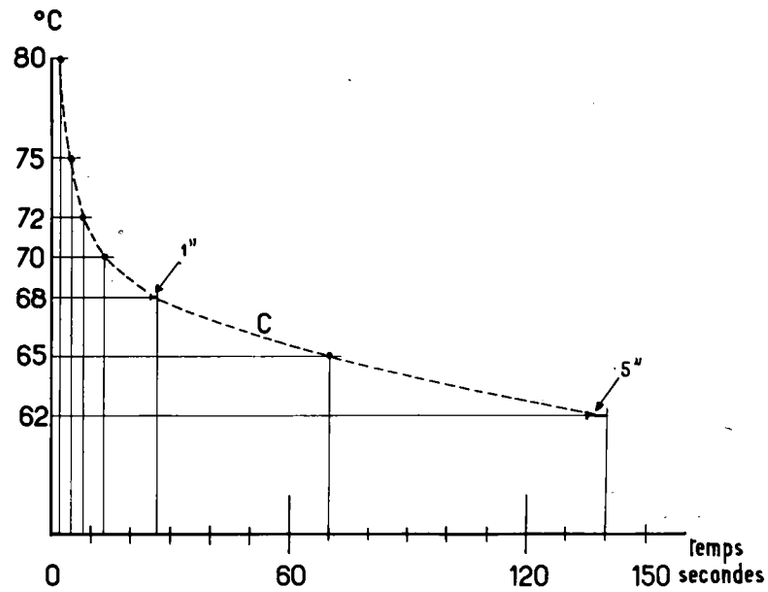
Graphique 9
Salmonella typhi murium.



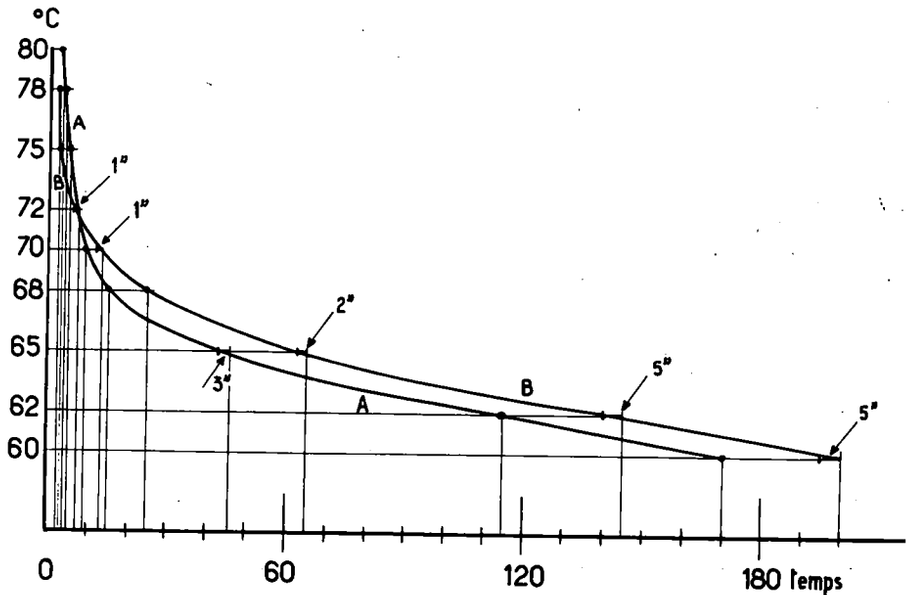
Graphique 10
Salmonella typhi murium



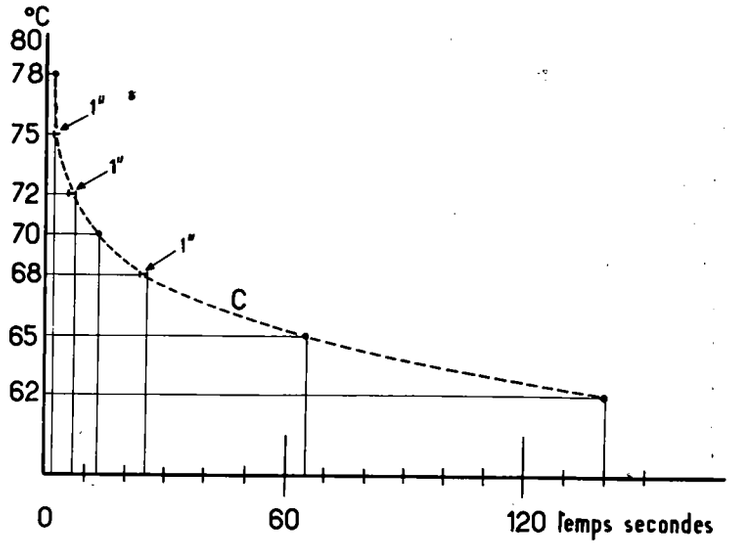
Graphique 11
Salmonella enteritidis.



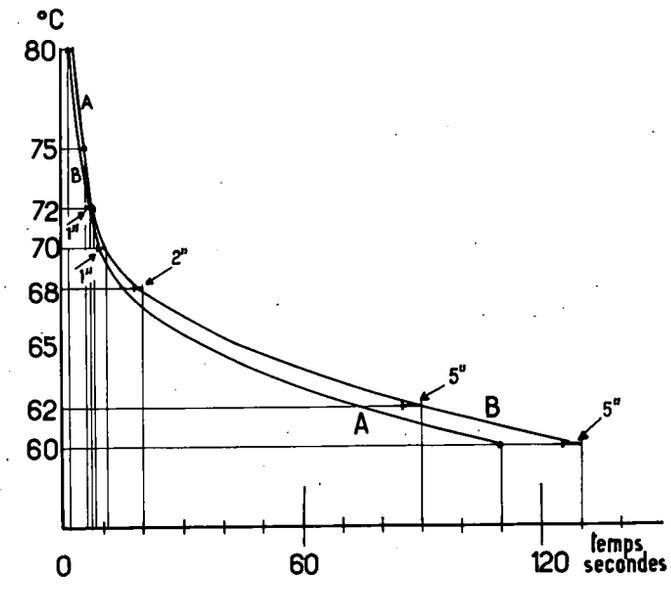
Graphique 12 Salmonella enteritidis.



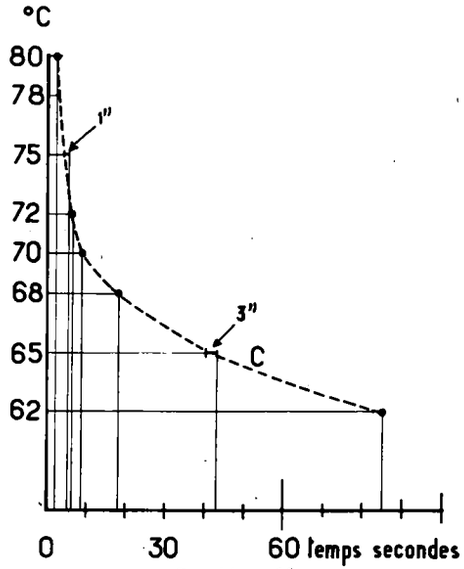
Graphique 13
Salmonella Dublin.



Graphique 14
Salmonella Dublin.



Graphique 15
Salmonella anatum.



Graphique 16
Salmonella anatum.

5 - BRUCELLES

Les expériences ont été réalisées en utilisant trois souches de Brucella Melitensis et deux souches de Brucella Abortus Bovis provenant du C. R. F. O. de Montpellier et une souche de Brucella Abortus Suis récemment isolée d'un placenta de truie.

Les chauffages ont été effectués sur des émulsions titrant environ $1,5.10^7$ germes/ml; ces émulsions étaient préparées à partir de cultures en bouillon glycériné ayant subi une incubation de 5 jours à 37°C.

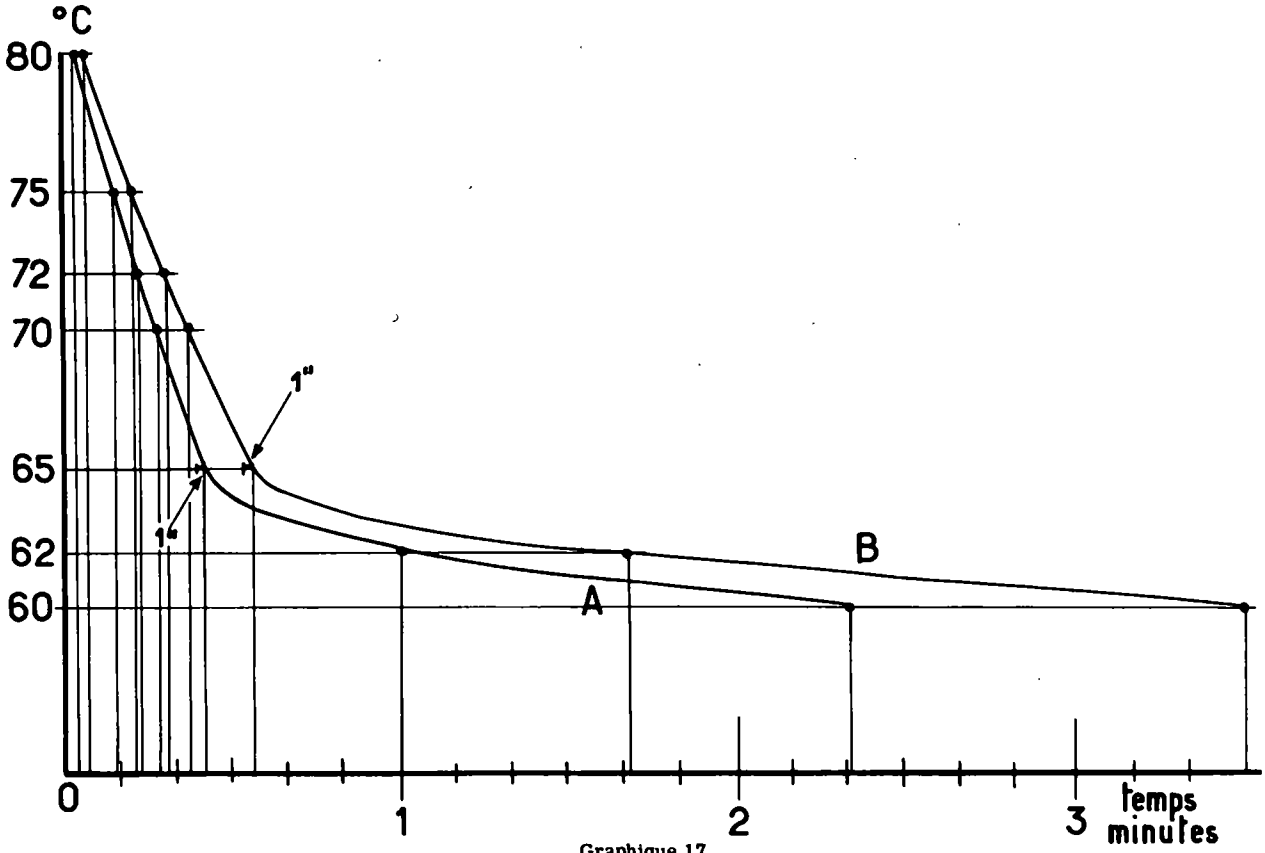
Après chauffage, les suspensions microbiennes ont été ensemencées en bouillon glycériné; en raison de la lenteur du développement de ces germes "in vitro", des essais de chauffage n'ont pu être effectués sur des suspensions en lait cru contenant une flore microbienne cultivant plus abondamment et plus rapidement.

Les différentes souches d'une même variété présentant des différences assez importantes quant à leurs thermo-résistances, nous joignons à l'exposé de nos résultats l'ensemble des courbes obtenues avec chacune d'elles (cf. graphiques 17, 18, 19, 20, 21 et 22).

Sur les graphiques, on peut remarquer que les courbes correspondant aux souches B43, B45, B56 et B57 présentent, pour des chauffages à des températures voisines de 65°C, une angulation très nette. Cet accident dans les tracés traduit une discontinuité dans le phénomène représenté. Cette discontinuité, semble-t-il, serait en relation avec le fait que les souches étudiées seraient constituées de deux populations bactériennes présentant des degrés différents de sensibilité à la chaleur. Quelques essais effectués nous permettent d'envisager comme très vraisemblable cette explication du phénomène. Malgré les différences de thermo-résistance relevées de souche à souche dans l'ensemble de notre expérimentation, les chauffages suivants ont entraîné la destruction des Brucelles :

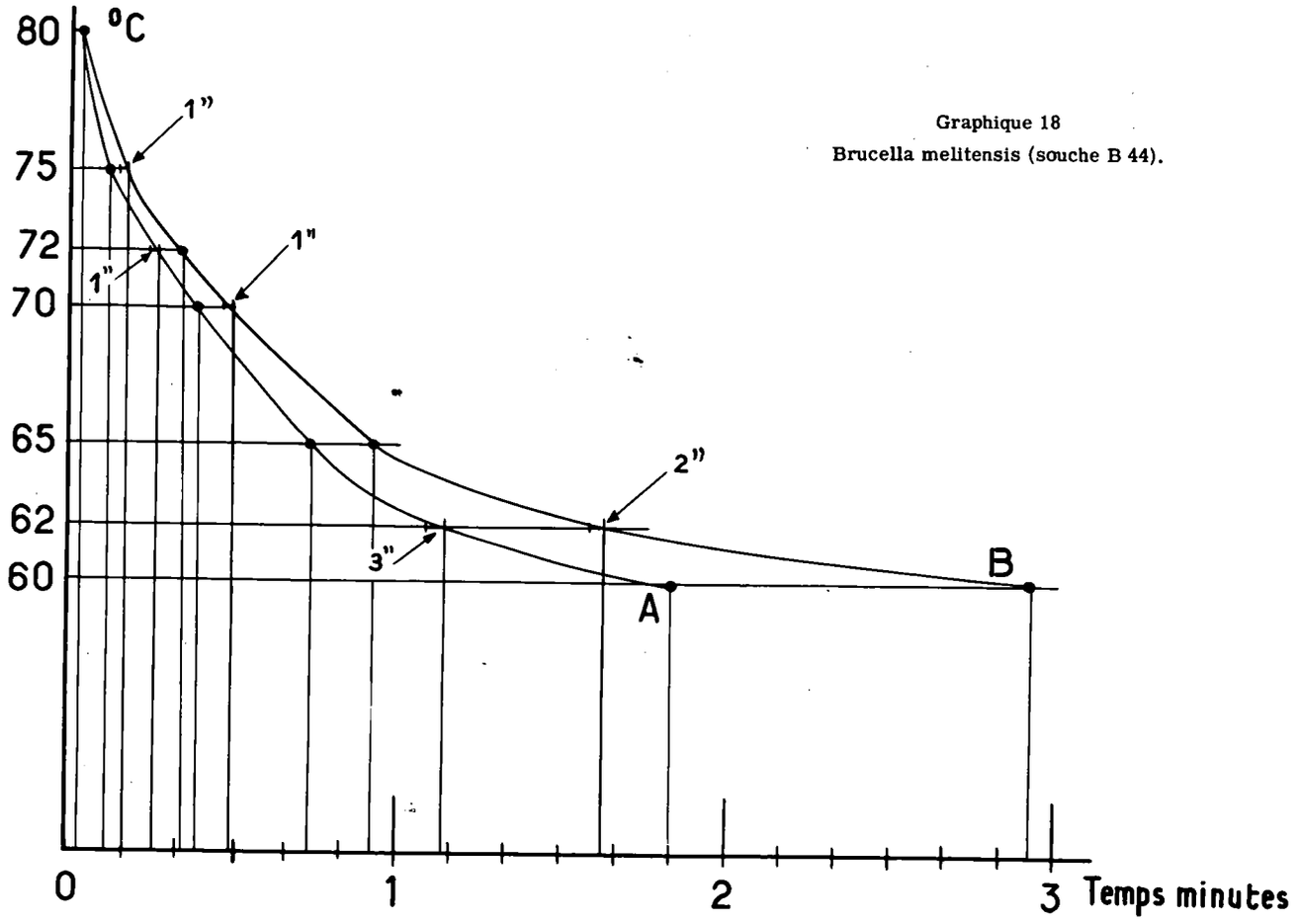
BRUCELLA MELITENSIS

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
80°	2"	2" à 4"
75°	7" à 9"	10" à 12"
72°	13" à 16"	18" à 20"
70°	17" à 23"	22" à 29"
65°	24" à 44"	32" à 55"
62°	50" à 68"	90" à 100"
60°	1'50" à 2'20"	2'55" à 3'30"

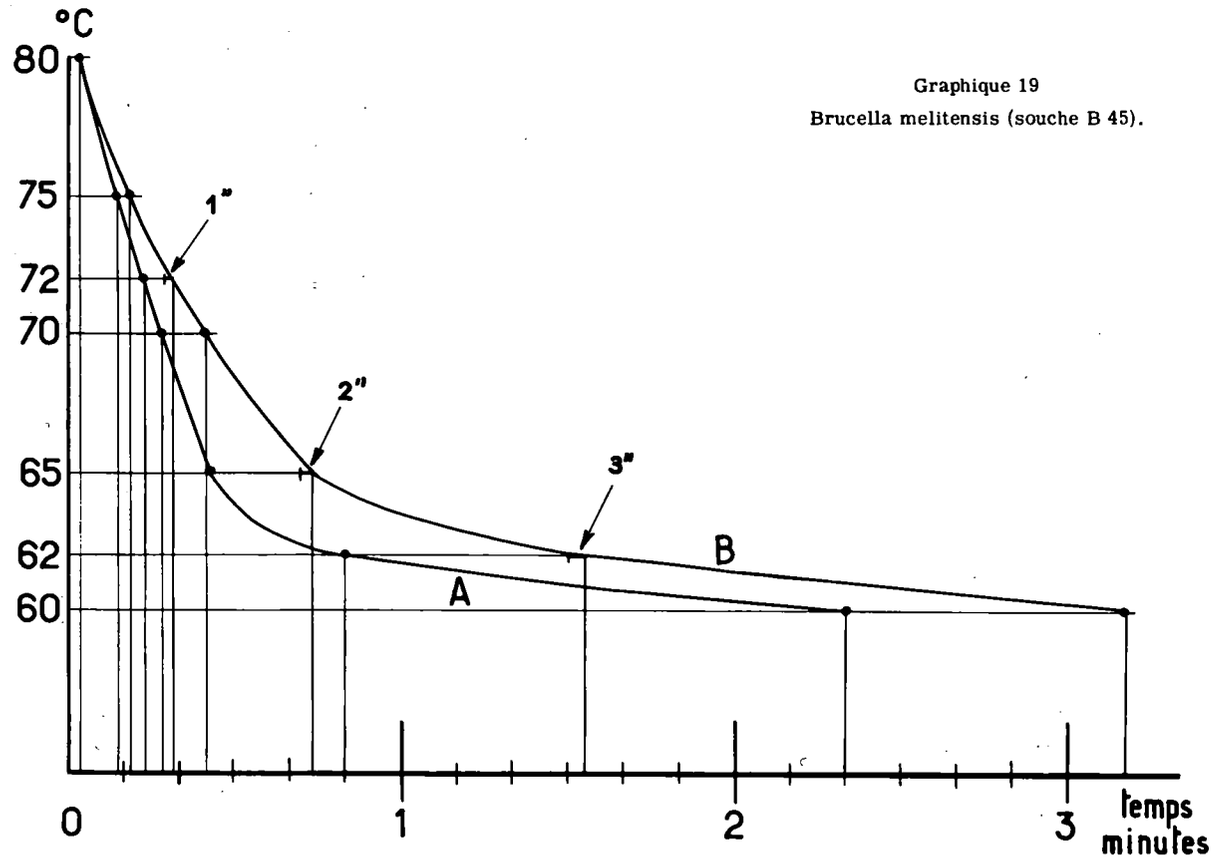


Graphique 17

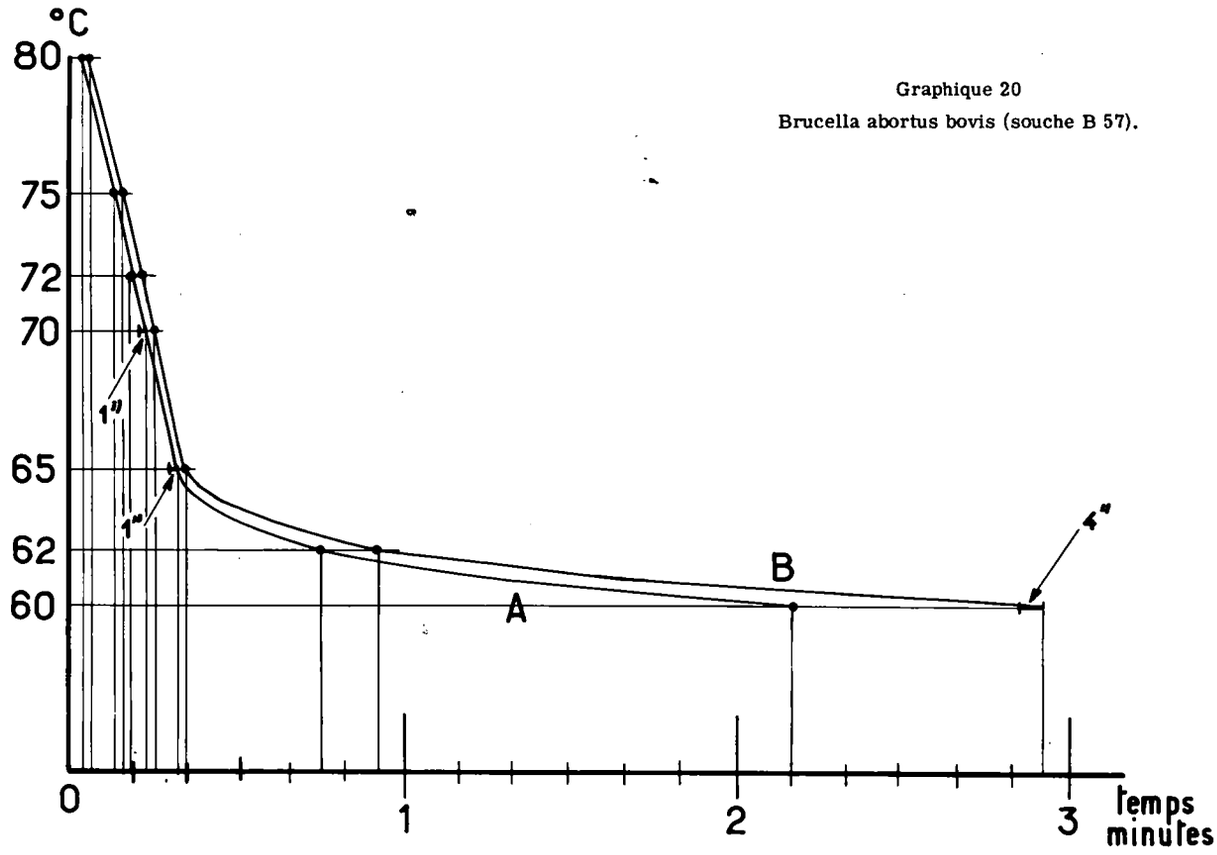
Brucella melitensis (souche B 43).



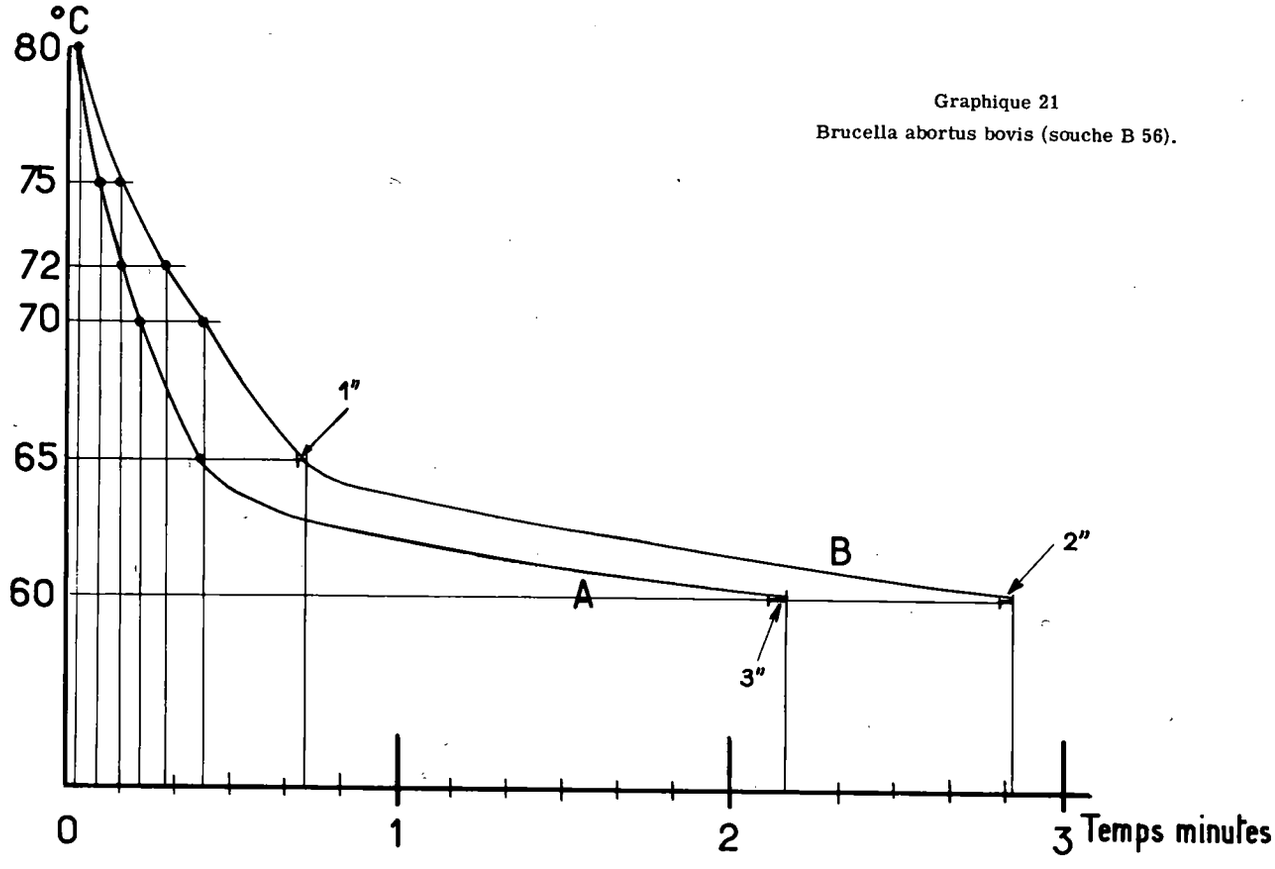
Graphique 18
Brucella melitensis (souche B 44).



Graphique 19
Brucella melitensis (souche B 45).



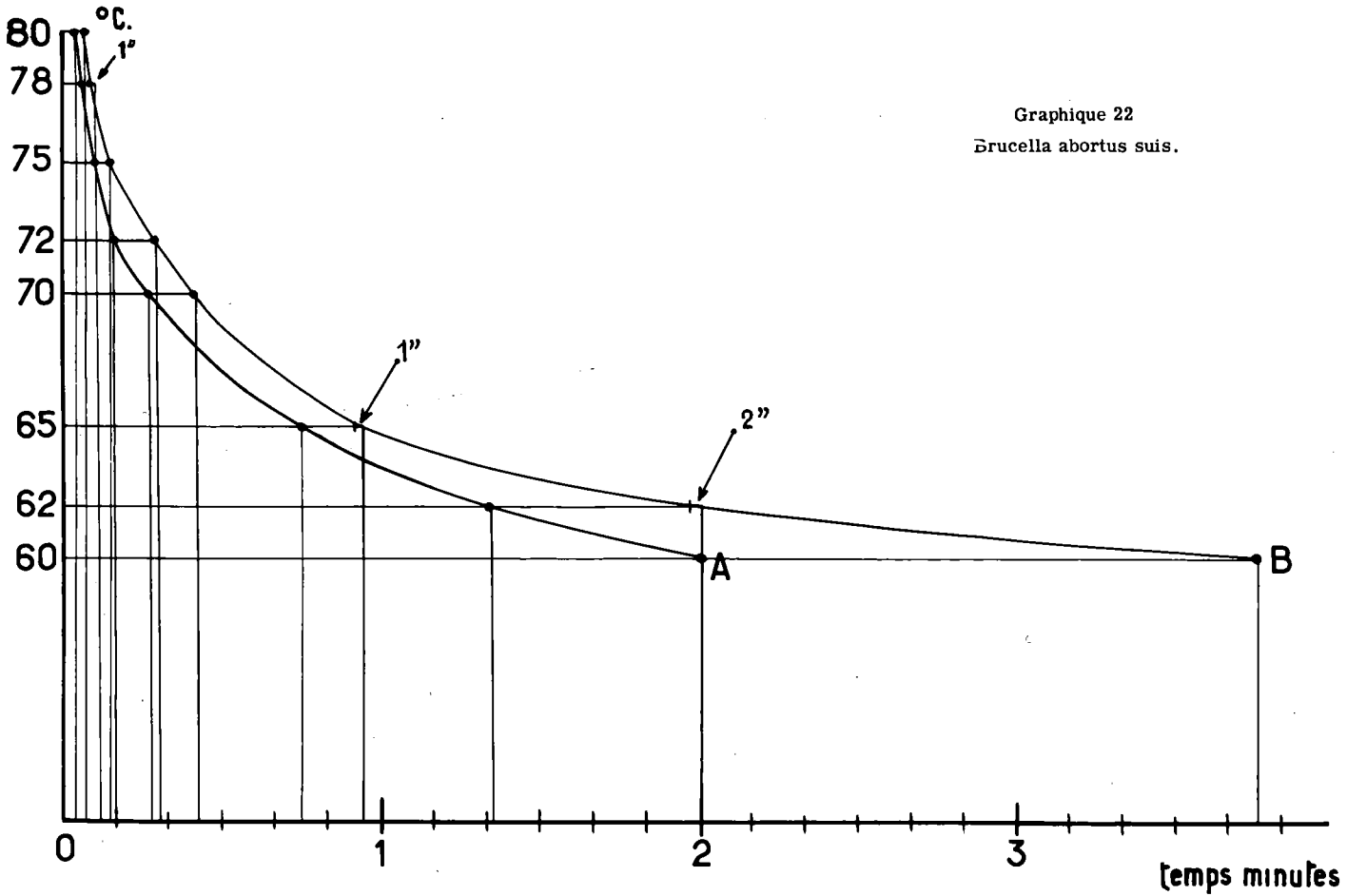
Graphique 20
Brucella abortus bovis (souche B 57).



Graphique 21
Brucella abortus bovis (souche B 56).

Graphique 22

Brucella abortus suis.



BRUCELLA ABORTUS BOVIS

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
80°	2"	2" à 3"
75°	5" à 7"	8" à 9"
72°	10"	12" à 18"
70°	12" à 13"	15" à 25"
65°	18" à 24"	20" à 43"
62°	45" à 62"	55" à 1'45"
60°	2'10"	2'50" à 2'55"

BRUCELLA ABORTUS SUIS

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
80°	3"	4"
78°	4"	5" à 6"
75°	6" à 7"	9"
72°	10"	17"
70°	16"	25"
65°	45"	55" à 56"
62°	1'20"	2'
60°	2'	3'45"

6 - BACILLE TUBERCULEUX

La détermination de la sensibilité à la chaleur des bacilles de Koch a été effectuée, d'une part sur des suspensions de cultures du germe, d'autre part sur des suspensions de broyats de produits pathologiques. Pour la recherche des bactéries survivant aux chauffages, nous avons mis en œuvre conjointement des méthodes de culture et des méthodes d'inoculation au cobaye.

a) Etude de la thermo-résistance de suspensions de cultures de bacilles de Koch

L'expérimentation a porté sur huit souches de la variété humaine du bacille, toutes récemment isolées de crachats ou de liquides de tubage et sur neuf souches de la variété bovine. Ces dernières provenaient, l'une du lait d'une vache atteinte de mammite tuberculeuse, deux de lésions de tuberculose ovine et les six dernières de lésions ganglionnaires caséeuses ou caséo-calcaires de bovins.

Les chauffages ont été effectués sur les suspensions réalisées à partir de cultures, d'une dizaine de jours, en milieu liquide de Dubos au Tween 80, cultures titrant environ 1 mg de bacilles par ml; pour chaque essai, 0,1 ml

a été incorporé à 1,9 ml d'eau physiologique, de lait stérilisé ou de lait cru préchauffé.

Méthode de recherche des bactéries survivant au chauffage :

1. Les suspensions en eau physiologique ou lait stérilisé ont été ensemencées en milieu de Dubos, à raison de 0,5 ml par tube de milieu ; les lectures des résultats ont été faites après 15 jours et 1 mois d'incubation à 37°C. L'appréciation directe du développement d'une culture dans les tubes de milieu ayant reçu comme inoculum une suspension en lait ne pouvant avoir lieu par appréciation de la turbidité, dans ce cas, après les délais d'incubation, la recherche d'une prolifération microbienne a été effectuée parallèlement suivant deux méthodes : par ensemencement d'une goutte du liquide dans un nouveau tube de milieu de Dubos, par adjonction dans chacun des tubes de 0,25 ml d'une solution aqueuse stérile de tellurite de potassium, les Mycobactéries vivantes étant capables de réduire ce sel. Les résultats fournis par les deux méthodes ont été superposables.

Comme il a été précisé antérieurement, la détermination de la sensibilité des bacilles de Koch par recherche des bactéries capables de cultiver in vitro a été effectuée sur les souches pures pour les températures suivantes : 75°, 70°, 65° et 60°C, et sur un mélange de souches pour les températures intermédiaires. Cependant, ont été soumises à des chauffages à ces mêmes températures intermédiaires certaines souches pures présentant les unes par rapport aux autres des différences importantes de sensibilité.

En outre, en matière de détection des bactéries virulentes pour le cobaye, ayant subsisté au chauffage, l'expérimentation n'a porté que sur un mélange des souches. Les suspensions en eau physiologique et lait stérilisé ont été inoculées à raison de 1 ml par voie sous-cutanée au cobaye, un ou deux animaux servant pour chaque essai de chauffage. Les virulences des suspensions microbiennes non chauffées ont été vérifiées; elles étaient telles que, dans le cas de Myc. Tuberculosis Hominis, la mort de deux cobayes est survenue 63 et 75 jours après l'inoculation, dans le cas de Myc. Tuberculosis Bovis, en 54 et 73 jours. Les animaux inoculés avec les produits chauffés et qui n'ont présenté aucun signe clinique de tuberculose n'ont été sacrifiés qu'au cinquième mois suivant l'inoculation, et ont été tuberculinés à deux reprises au préalable (deuxième et quatrième mois).

2. Les suspensions en lait cru ont été, après chauffage, centrifugées; le culot et la crème ont été traités par le procédé à la soude de COLETSOS et ensemencés sur milieu de Löwenstein-Jensen.

L'incubation à 37°C de ces cultures a été au minimum de trois mois dans le cas du bacille tuberculeux humain et de quatre mois dans le cas du bacille tuberculeux bovin.

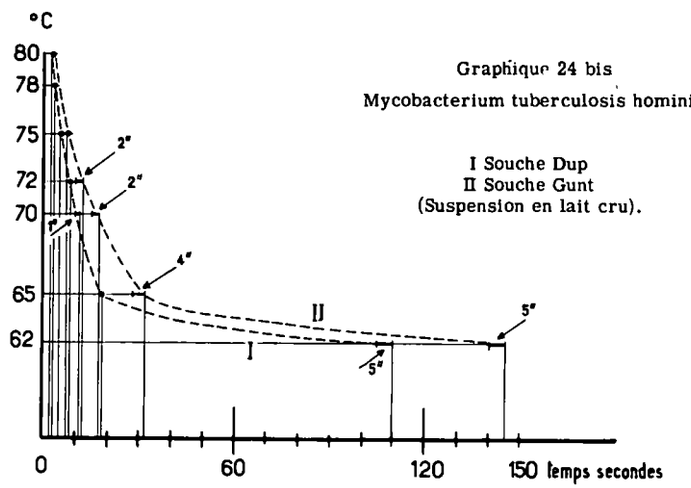
Les suspensions de cultures en lait cru n'ont pas été inoculées à l'animal. Une telle expérimentation ne se justifiait guère, du fait que lors de l'exécution de ces recherches, l'expérience nous avait déjà montré que l'inoculation à l'animal d'une suspension bactérienne non traitée par la soude et la mise en culture de la même suspension traitée par la soude fournissaient des résultats très voisins quant à la détection de quelques unités bacillaires survivant au chauffage [voir (5) et les résultats de l'expérimentation portant sur des laits souillés par des produits pathologiques (cf. page 46) .

Résultats

1. Résultats obtenus par ensemencement :

Des différences relativement importantes, quoique moindres que celles observées pour les brucelles, sont apparues quant à la thermo-résistance des souches de chaque variété de bacille tuberculeux. Ces différences sont flagrantes à la lecture des tableaux figurés ci-dessous. En raison de leur existence, nous joignons à ces tableaux les graphiques correspondant à plusieurs souches pures : deux de la variété humaine, toutes deux isolées de crachats, et trois de la variété bovine; l'une (souche Par) provenant d'un lait de mammite tuberculeuse, les deux autres (souches 64 et 100) provenant de deux cas de tuberculose ovine. Nous avons choisi de faire figurer les cinq graphiques relatifs à ces souches, car ces dernières sont, parmi les dix-sept étudiées, celles qui présentent les thermo-résistances les plus élevées.

L'étude de ces graphiques montre l'existence de deux particularités présentées par plusieurs souches de bacilles tuberculeux : d'une part on remarque sur les graphiques 23, 24, 24 bis, 25 et 26 une angulation des courbes de température de l'ordre de 65°, angulation déjà signalée dans l'étude des Brucelles; sans avoir eu l'occasion de vérifier, dans le cas du bacille tuber-



Graphique 24 bis
Mycobacterium tuberculosis hominis

I Souche Dup
II Souche Gunt
(Suspension en lait cru).

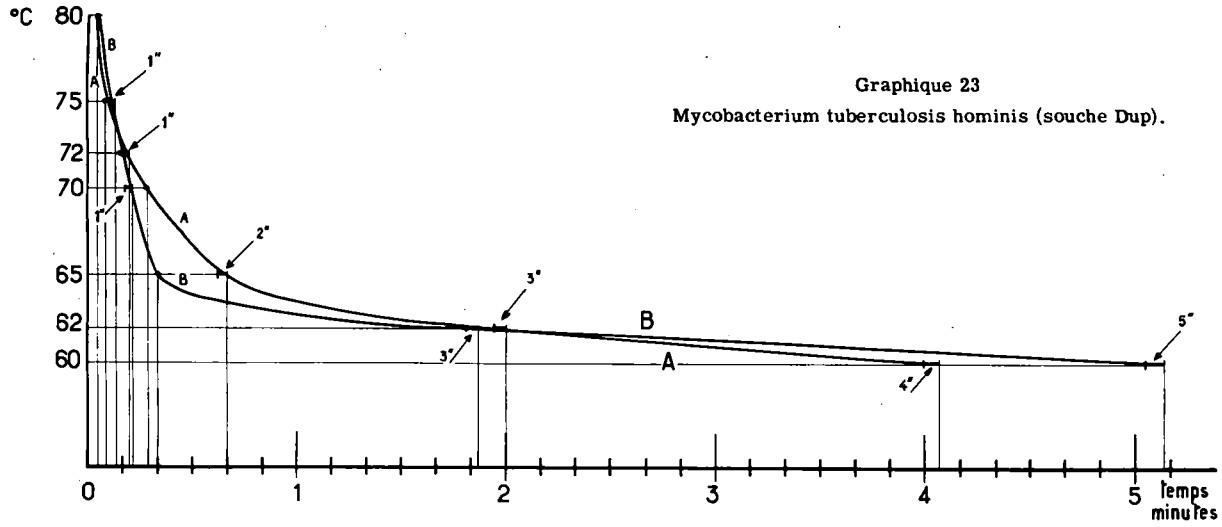
culeux, l'hypothèse que nous avons formulée pour expliquer cette particularité, nous pensons qu'elle doit pouvoir se vérifier. D'autre part, il est à noter que pour certaines souches (souche Dup, souche 100 et souche Par) il existe pour les températures supérieures à 65°C, des différences très importantes entre les degrés de sensibilité à la chaleur des suspensions en eau et en lait.

La destruction de l'ensemble des souches de Myc. Tuberculosis, variété Hominis, étudiées, est assurée par les chauffages suivants :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2" à 3"	2" à 3"
79°	2"	2" à 3"	-
78°	-	-	3" à 5"
75°	4" à 10"	6" à 8"	5" à 8"
72°	10" à 17"	9" à 12"	8" à 12"
70°	15" à 22"	11" à 18"	10" à 17"
65°	32" à 40"	19" à 35"	17" à 32"
62°	1'43" à 1'55"	1'57" à 2'25"	1'45" à 2'25"
60°	3'45" à 4'30"	4'40" à 5'52"	-

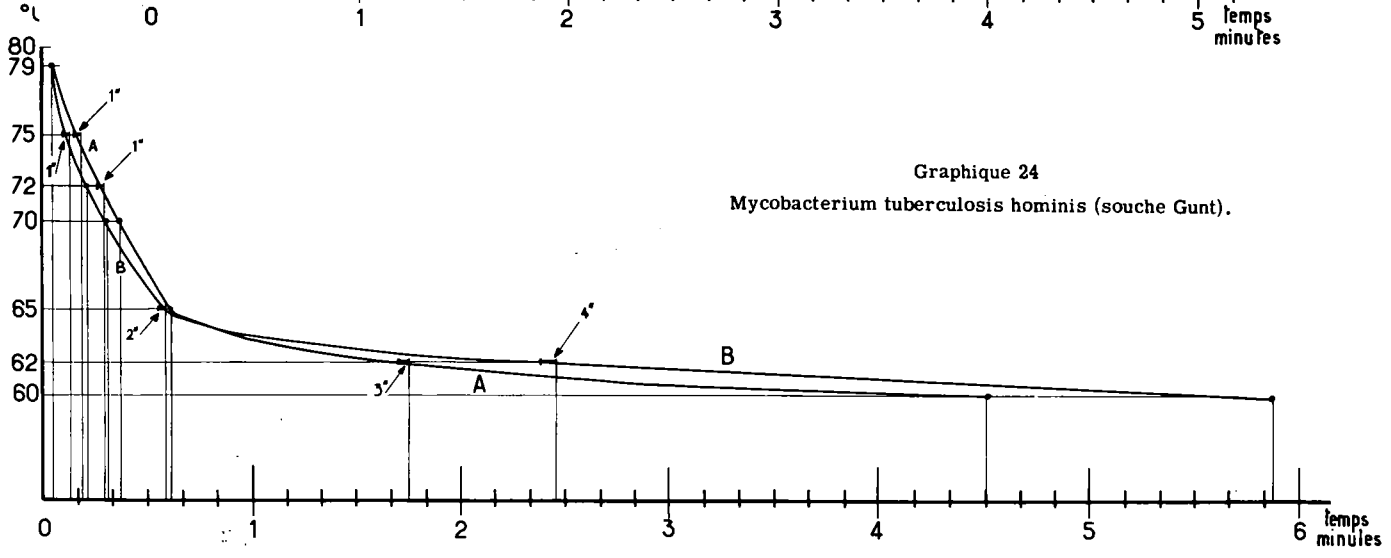
La destruction de l'ensemble des souches de Myc. Tuberculosis Bovis étudiées est assurée par les chauffages suivants :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
78°	2" à 5"	2" à 5"	2" à 3"
75°	2" à 11"	2" à 7"	2" à 5"
72°	4" à 16"	4" à 9"	4" à 8"
70°	5" à 20"	7" à 12"	6" à 11"
65°	16" à 35"	30" à 50"	25" à 40"
62°	1'48" à 2'30"	2'45" à 3'40"	1'55" à 2'30"
60°	3'20" à 5'30"	4'15" à 6'10"	-



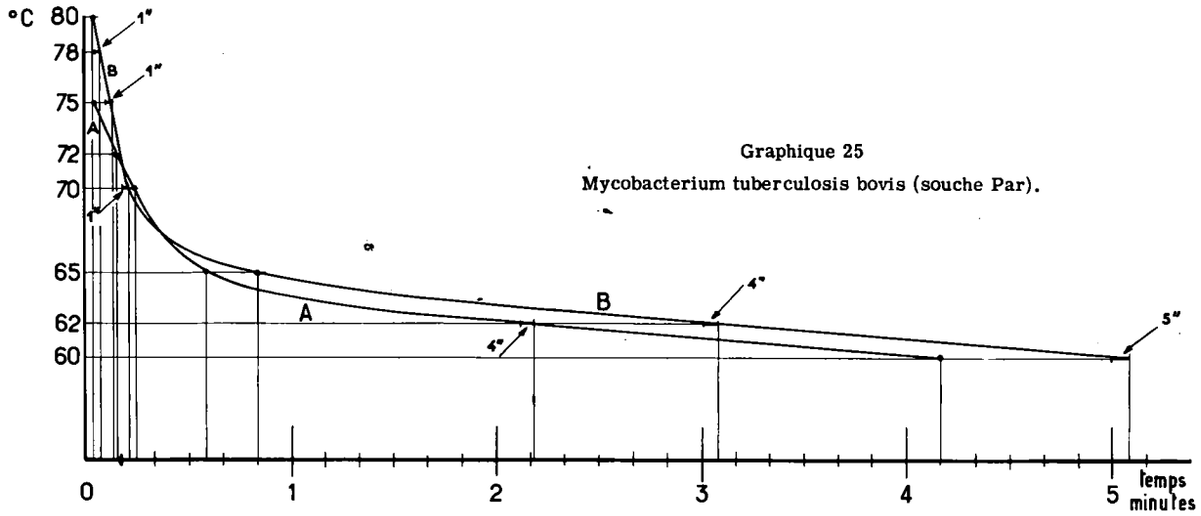
Graphique 23

Mycobacterium tuberculosis hominis (souche Dup).



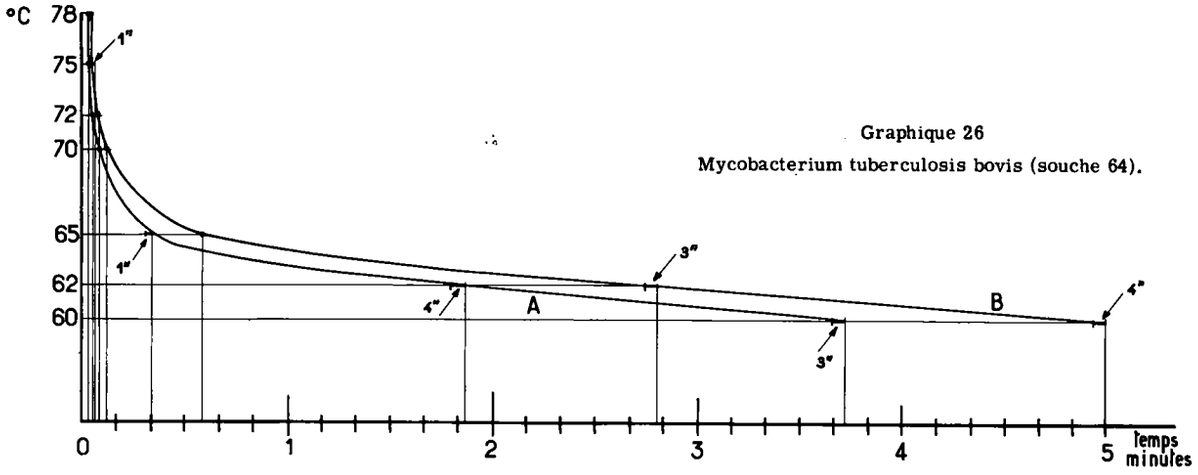
Graphique 24

Mycobacterium tuberculosis hominis (souche Gunt).



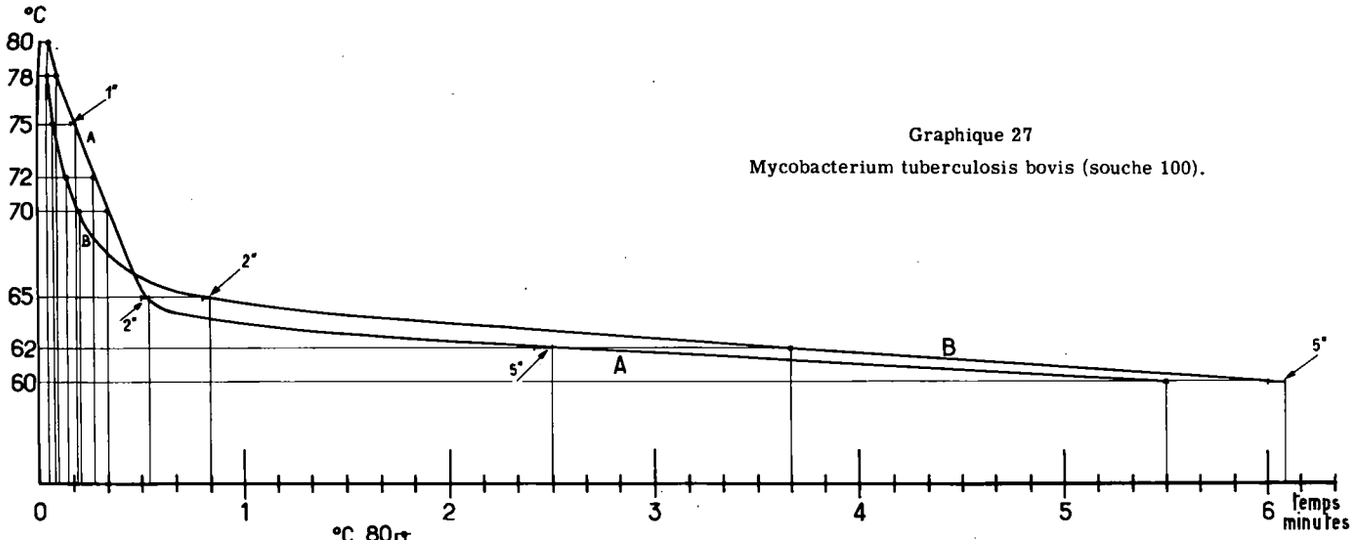
Graphique 25

Mycobacterium tuberculosis bovis (souche Par).



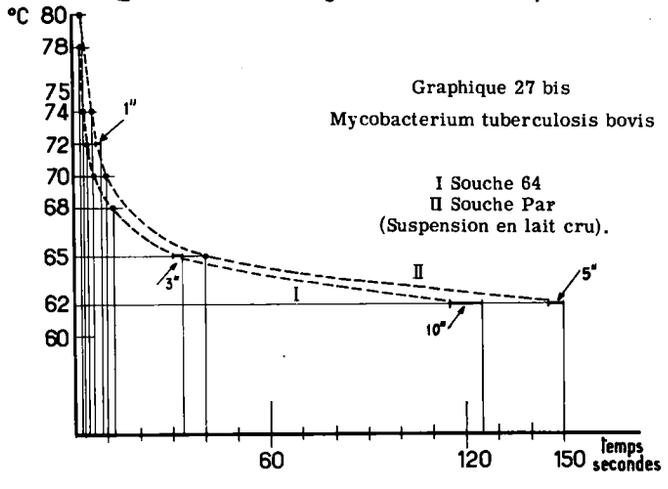
Graphique 26

Mycobacterium tuberculosis bovis (souche 64).



Graphique 27

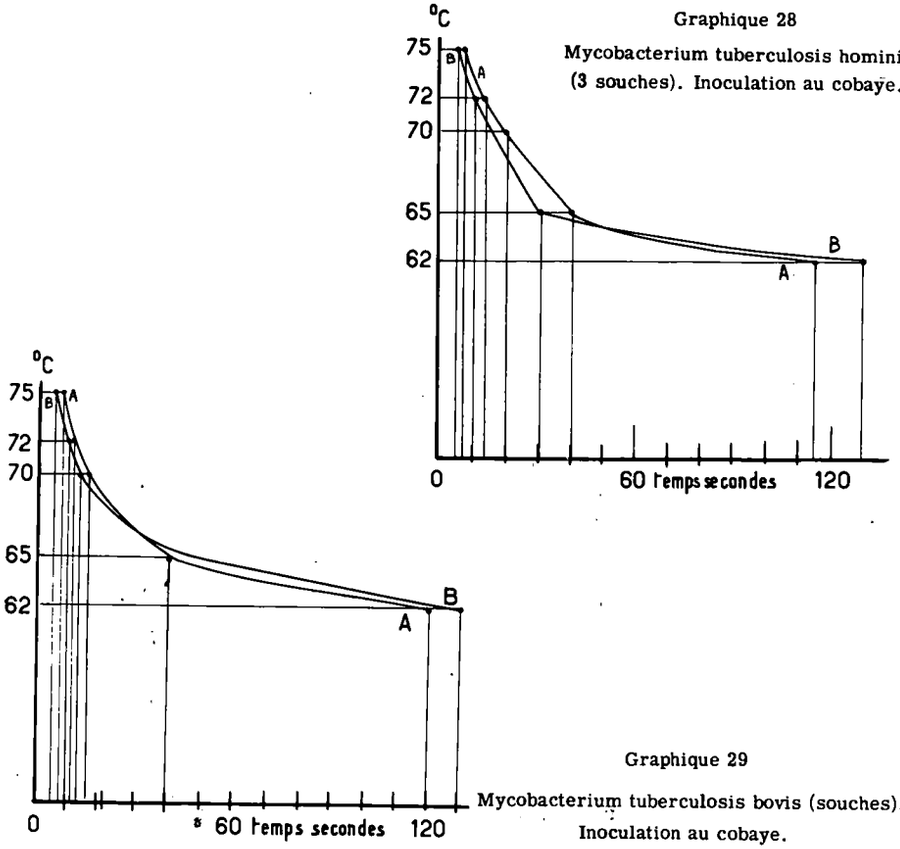
Mycobacterium tuberculosis bovis (souche 100).



Graphique 27 bis

Mycobacterium tuberculosis bovis

I Souche 64
II Souche Par
(Suspension en lait cru).



Graphique 28

Mycobacterium tuberculosis hominis (3 souches). Inoculation au cobaye.

Graphique 29

Mycobacterium tuberculosis bovis (souches). Inoculation au cobaye.

2. Résultats obtenus par inoculations

Les résultats sont consignés dans les deux tableaux ci-après auxquels correspondent les graphiques n° 28 et 29.

BACILLE DE KOCH HUMAIN

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
75°	7"	5"
72°	13"	10"
70°	20"	15"
66°	-	30"
65°	40"	-
62°	1'55"	2'10"

BACILLE DE KOCH BOVIN

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
75°	7"	4"
72°	10"	9"
70°	15"	12"
65°	40"	45"
62°	2'	2'10"

Les imprécisions inhérentes à la méthode expérimentale, commises dans la détermination des valeurs numériques rapportées dans les tableaux, sont de l'ordre de 2" pour les températures de 72°C, 70°C, 65°C, de 5" pour 62°C, les écarts étant ceux différenciant deux chauffages successifs à la même température appliqués aux échantillons des suspensions ultérieurement inoculés au cobaye.

Il est à remarquer que les résultats fournis par la méthode d'inoculation au cobaye sont superposables à ceux obtenus par ensemencement : valeurs numériques proches (quoiqu'il semble que les méthodes d'ensemencement permettent la mise en évidence de quelques unités bactériennes survivant au chauffage et qui ne sont pas susceptibles de tuberculiser le cobaye), même angulation des courbes, mêmes différences des sensibilités à la chaleur entre les émulsions en eau et en lait.

b) Etude de la thermo-résistance de bacilles de Koch contenus dans les produits pathologiques

Les produits pathologiques utilisés ont été, dans le cas du bacille de Koch humain, des expectorations, dans le cas du bacille de Koch bovin, du caseum provenant de lésions ganglionnaires de bovins.

Protocole expérimental :

Quatre produits pathologiques d'origines différentes ont été employés lors de chaque série d'essais. Après broyage au mortier, une partie de ces produits a été traitée par l'acide sulfurique à 14 % et neutralisée, et a servi ultérieurement pour des essais de thermo-résistance en émulsions en eau physiologique stérile. La seconde partie a été utilisée pour contaminer du lait cru. Les modalités de chauffage ont été les mêmes que celles appliquées dans quatre cas de suspensions de cultures de bactéries.

Méthode de recherche des mycobactéries survivant au chauffage

- Les suspensions en eau physiologique ont été ensemencées directement sur milieu de Löwenstein-Jensen, et sur milieu gélosé de Peizer (Difco) à raison de 0,5 ml par tube. Les tubes ensemencés ont subi une incubation à 37°C d'au moins quatre mois.

- Les suspensions en lait cru ont été, d'une part, ensemencées dans les mêmes conditions, mais après centrifugation et traitement du culot et de la crème par la méthode à la soude, d'autre part inoculées par voie sous-cutanée au cobaye à raison de 1 ml par animal.

RÉSULTATS :

1. Les chauffages suivants ont assuré la destruction des bacilles de Koch humains (voir aussi graphique 30) :

Températures	Destruction jugée par ensemencement sur milieu de Löwenstein-Jensen de la suspension en :		Destruction jugée par inoculation de la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait cru	Eau physiologique	Lait cru
80°	-	2"	-	-
78°	3"	3" à 4"	-	-
75°	-	10"	-	-
74°	8"	-	8"	10"
72°	14"	16"	-	12"
70°	21"	22"	20"	18"
68°	30"	30"	28"	25"
65°	47"	42"	-	-
62°	2'20"	3'30"	2'10"	3'30"

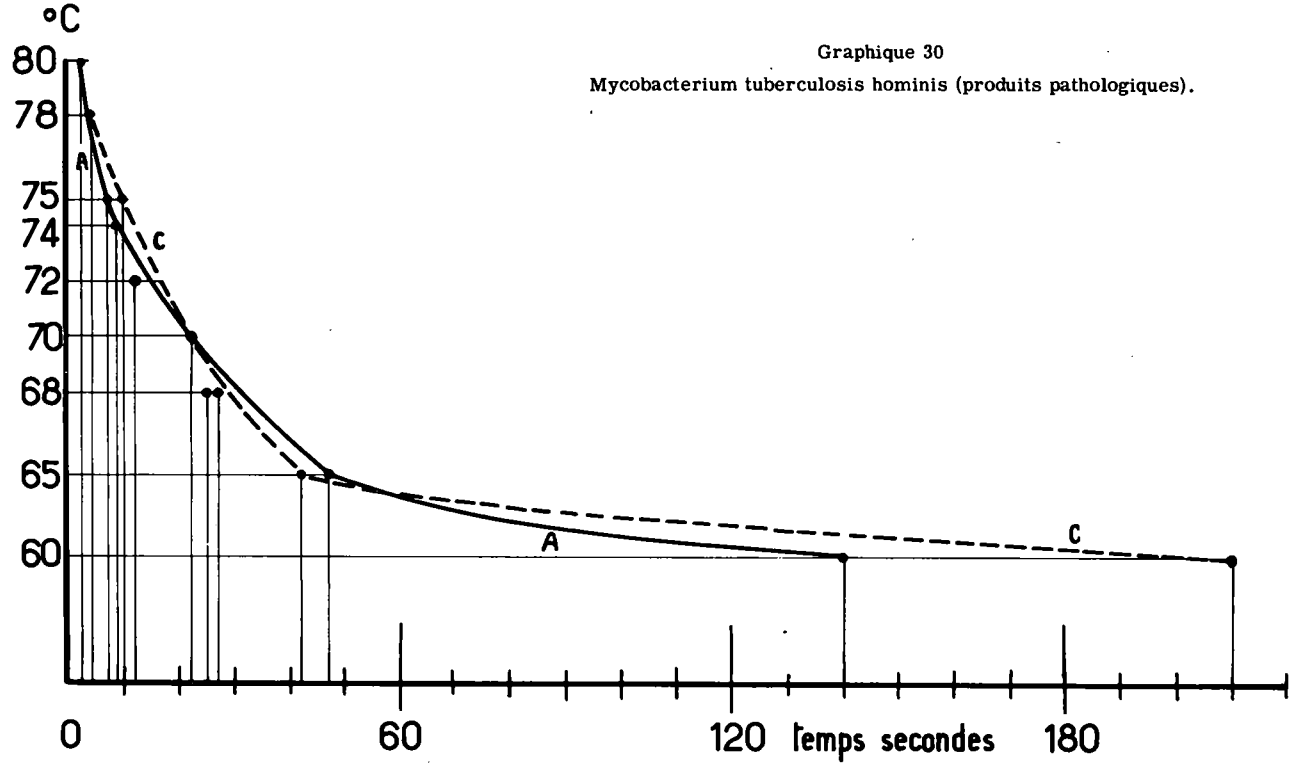
2. Les chauffages suivants ont assuré la destruction des bacilles de Koch bovins (voir aussi graphique n° 31) :

Températures	Destruction jugée par ensemencement sur milieu de Löwenstein-Jensen de la suspension en :		Destruction jugée par inoculation de la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait cru	Eau physiologique	Lait cru
78°	2"	5"	-	-
75°	3"	7"	3"	6"
72°	11"	12"	12"	12"
70°	20"	18"	18"	16"
65°	45"	40" à 43"(1)	-	35"

(1) 2 essais effectués.

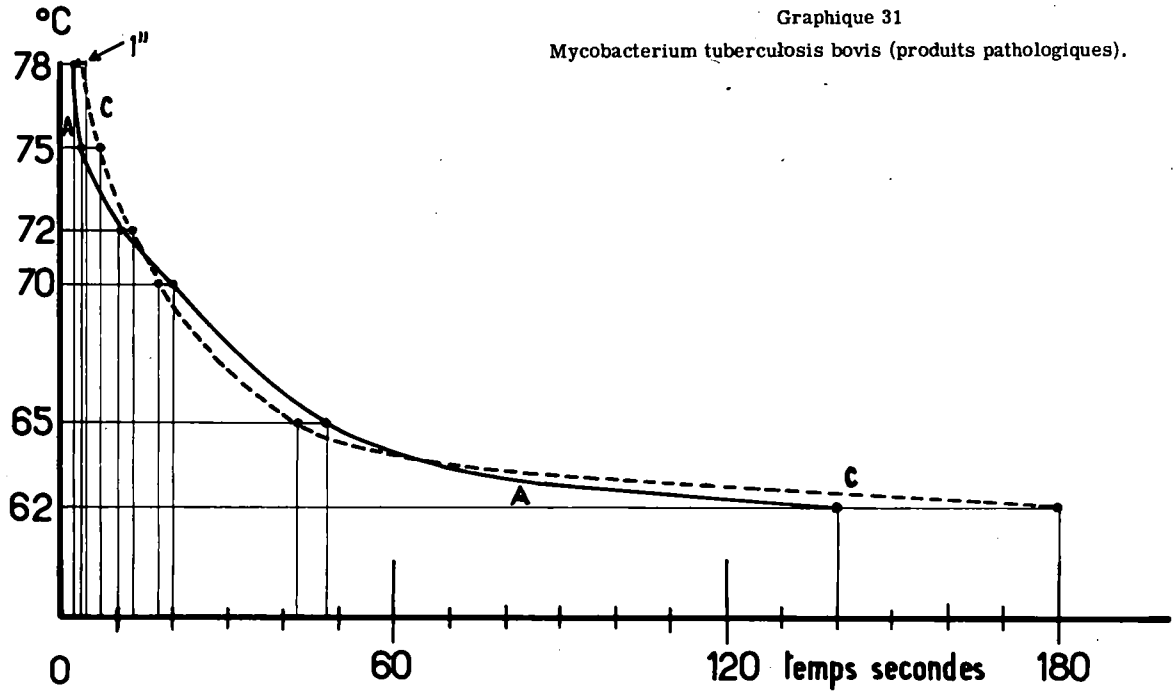
Graphique 30

Mycobacterium tuberculosis hominis (produits pathologiques).



Graphique 31

Mycobacterium tuberculosis bovis (produits pathologiques).



7 - STAPHYLOCOQUES PATHOGÈNES (STAPHYLOCOCCUS PYOGENES)

- Nombre de souches étudiées : cinq.

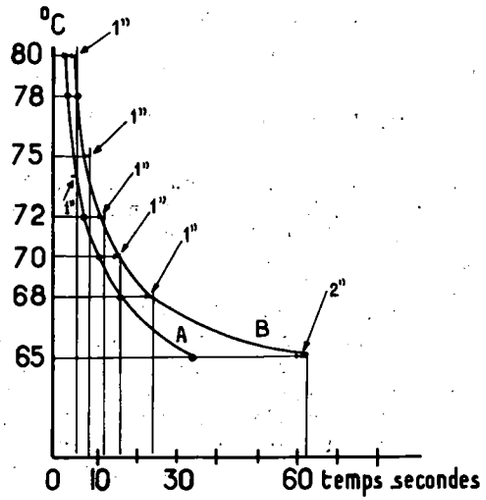
- Provenance des souches: matières fécales de bovins, abcès de bovins, fœtus de truie, pyélonéphrite humaine, prélèvements de gorge.

La richesse des suspensions soumises au chauffage était de l'ordre de 4.10^7 germes/ml.

Après chauffage, les émulsions en eau et en lait stérilisé ont été ensemencées en bouillon glucosé, les émulsions en lait cru ont été ensemencées en bouillon hypersalé mannité de Chapman; la nature des cultures développées dans le milieu de Chapman et l'ayant acidifié a été confirmée par ensemencement sur milieu gélosé de Chapman et recherche de la positivité du test de la staphylocoagulase. Il est à noter qu'ainsi ont été déterminées les limites de résistance au chauffage, non seulement des souches microbiennes ayant servi à polluer les laits crus, mais encore celles de l'ensemble des staphylocoques pathogènes pouvant être présents dans les laits utilisés. La mise en œuvre du test de la staphylocoagulase s'est imposée du fait que, dans les laits crus, on rencontre fréquemment des microcoques aptes à cultiver sur milieux hypersalés et à faire fermenter le mannitol.

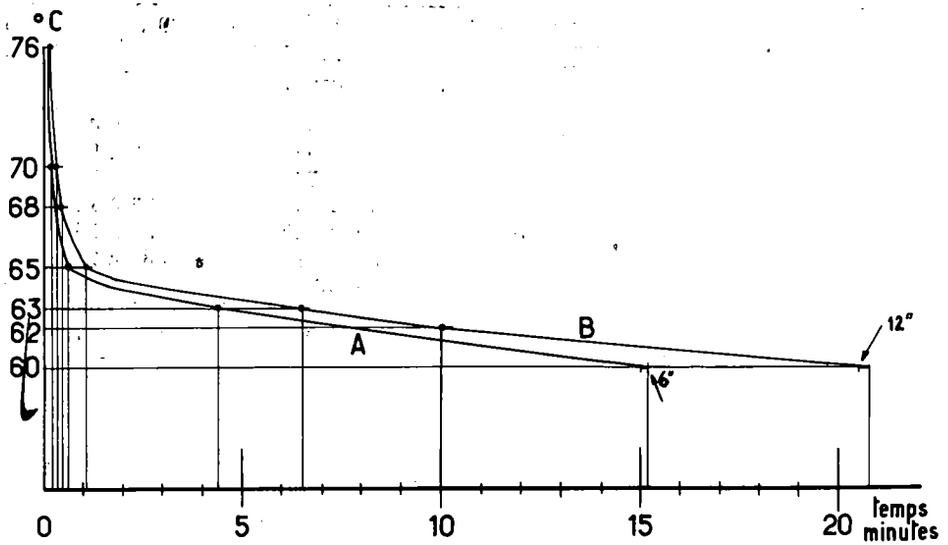
Les chauffages suivants assurent la destruction des staphylocoques pathogènes (cf. graphiques n° 12 et n° 13 - voir aussi graphiques n°s 32, 33, 34 et 35) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	3" à 4"	3" à 4"
78°	2"	4" à 5"	3" à 5"
75°	3" à 4"	5" à 7"	5" à 7"
72°	6" à 7"	10" à 11"	10" à 11"
70°	8" à 10"	13" à 15"	12" à 15"
65°	30" à 34"	56" à 62"	58" à 63"
63°	4'20"	6'30"	-
62°	-	-	11'30"
60°	14' à 15'05"	18'30" à 20'45"	18' à 22'10"



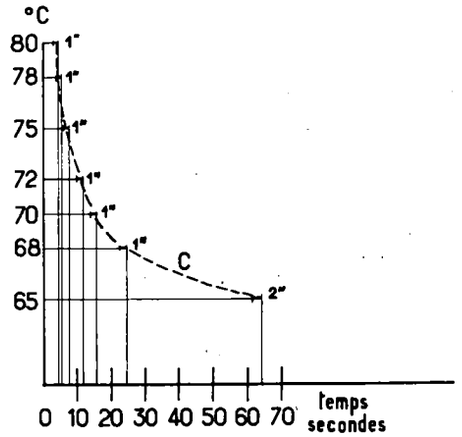
Graphique 32

Staphylococcus pyogenes (souches pathogènes).



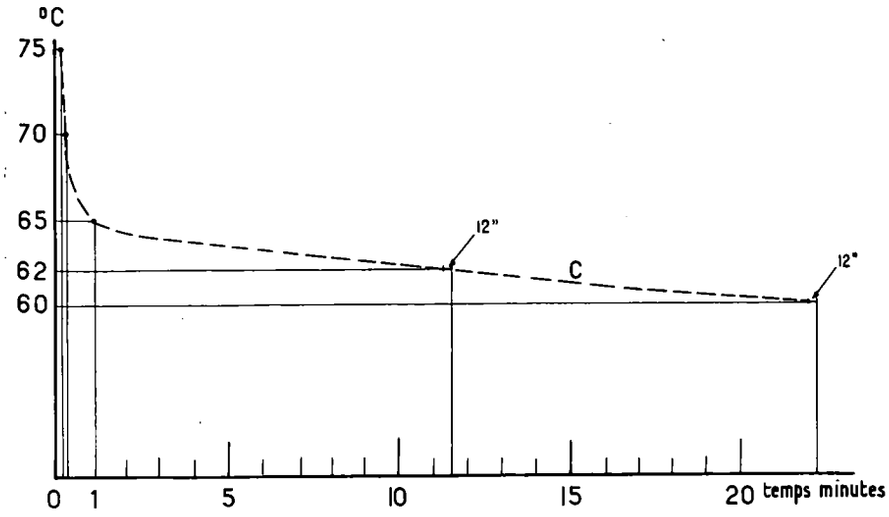
Graphique 33

Staphylococcus pyogenes (souches pathogènes).



Graphique 34

Staphylococcus pyogenes (souches pathogènes).



Graphique 35

Staphylococcus pyogenes (souches pathogènes).

8 - STAPHYLOCOQUES SAPROPHYTES (STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS-WELCH)

- Nombre de souches étudiées : cinq

- Provenance des souches : trois isolées de peaux de bovins, une d'une peau humaine, une d'un prélèvement de gorge. Toutes ces souches ne fermentaient pas le mannitol et n'avaient pas de staphylocoagulase.

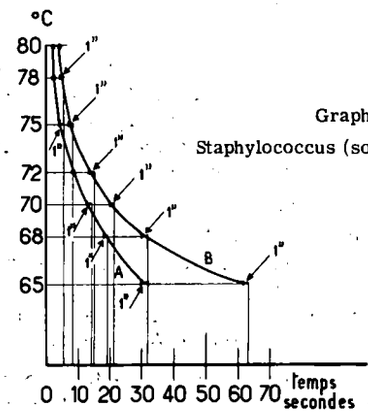
La richesse de la suspension soumise au chauffage était de l'ordre de 4.10^7 germes/ml.

Après chauffage, les émulsions en eau et en lait stérilisés ont été ensemencées en bouillon glucosé, les émulsions en lait cru en milieu de Chapman liquide; les cultures développées dans ce dernier milieu ont été identifiées par ensemencement sur gélose ordinaire et étude des caractères morphologiques.

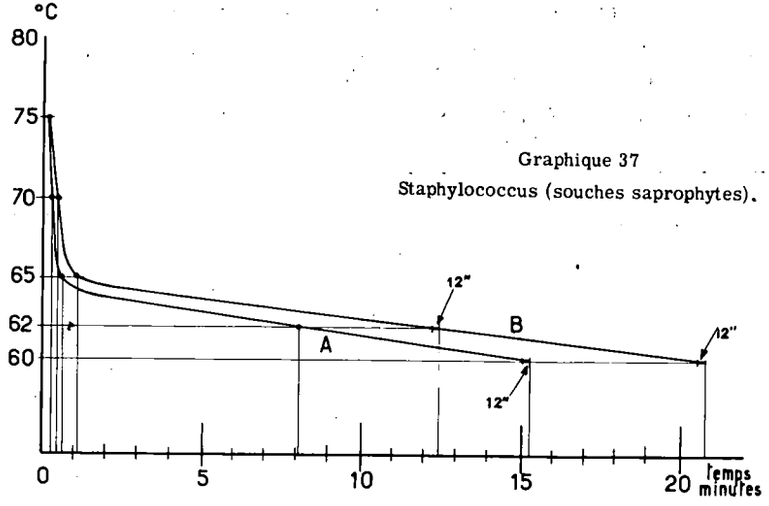
Comme dans le cas des staphylocoques pathogènes l'étude effectuée sur des laits crus a fourni des résultats valables en fait pour la totalité des staphylocoques saprophytes contenus dans les échantillons soumis au chauffage et dont certains ne provenaient pas de la contamination artificielle. Mais les résultats rapportés ci-dessous ne s'adressent, parmi les germes de la famille des Micrococcaceae, qu'à des bactéries présentant des caractères pouvant les classer dans l'espèce "Staphylococcus Epidermidis".

Les chauffages suivants assurent la destruction des staphylocoques saprophytes (cf. graphiques n° 14 et 15; voir aussi graphiques n°36, 37 et 38) :

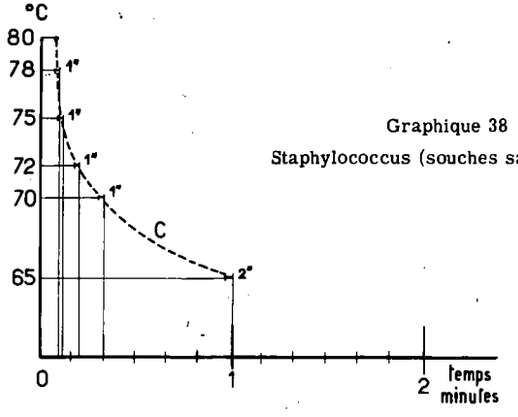
Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	3" à 4"	3" à 4"
78°	2"	4" à 5"	4" à 5"
75°	4" à 5"	6" à 8"	5" à 6"
72°	8"	14" à 15"	10" à 11"
70°	11" à 14"	18" à 21"	15" à 19"
68°	18" à 19"	30" à 31"	30"
65°	26" à 31"	55" à 63"	53" à 60"
60°	14' à 15'10"	19' à 20'55"	19'20"



Graphique 36
Staphylococcus (souches saprophytes).



Graphique 37
Staphylococcus (souches saprophytes).



Graphique 38
Staphylococcus (souches saprophytes).

9 - STREPTOCOQUES

L'expérimentation a porté uniquement sur des souches de streptocoques β hémolytiques, car seuls des germes présentant ce caractère peuvent être les agents infectieux déterminant des angines imputables à l'ingestion de laits crus (6, 7 et 8). A partir de telles angines, ont été isolés, soit des streptocoques humains, soit des streptocoques d'origine animale.

Dans nos expériences, nous avons utilisé deux souches de Streptococcus Pyogenes du groupe A de Lancefield, isolées l'une d'une angine, l'autre d'un phlegmon péripharyngien, deux souches de Streptococcus pyogenes du groupe C de Lancefield isolées de laits provenant de vaches atteintes de mammite et deux souches de Streptocoques β hémolytiques, isolées de prélèvements de gorge et n'appartenant pas aux groupes A, B ou C de Lancefield.

Les essais de chauffage n'ont été effectués qu'en utilisant des suspensions microbiennes en eau physiologique et en lait préalablement stérilisé, en raison des difficultés d'isolement de ces germes et de l'absence de milieux sélectifs. Ces suspensions contenaient environ $2,5.10^7$ germes/ml.

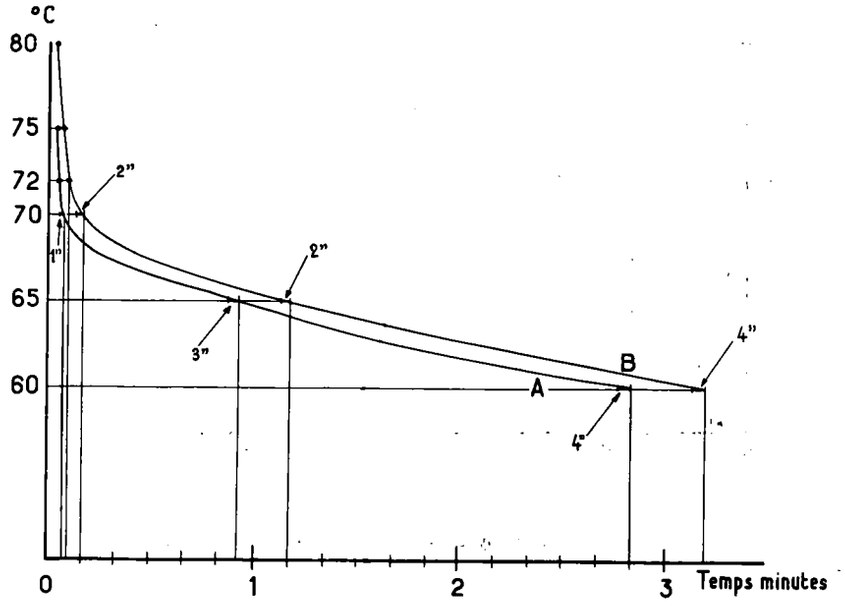
Après chauffage, les ensemencements ont été effectués dans un milieu semi-synthétique très favorable à la culture des streptocoques (9).

Les chauffages suivants assurent la destruction des streptocoques du groupe A (voir aussi graphique n° 39) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
80°	2"	2"
78°	2"	3"
75°	2"	4" à 5"
72°	3"	5" à 7"
70°	3" à 4"	8" à 10"
65°	48" à 53"	65" à 70"
62°	1'48" à 1'55"	2'15" à 2'24"
60°	2'40" à 2'50"	3' à 3'12"

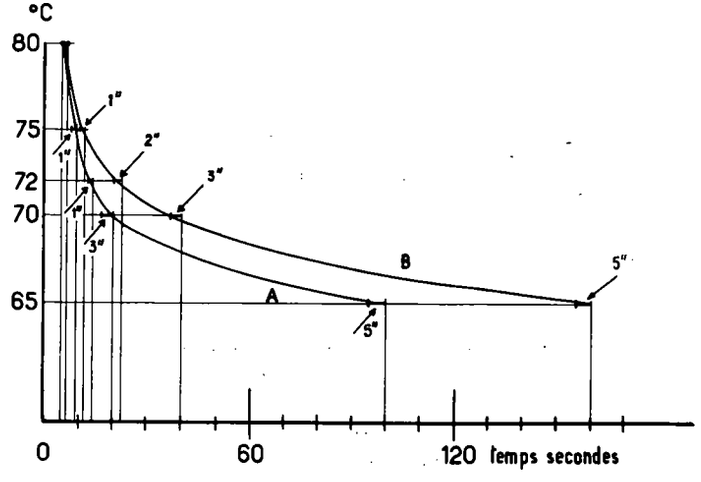
Les chauffages suivants assurent la destruction des streptocoques du groupe C (voir aussi graphiques n° 40 et 41) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
80°	5"	6"
78°	5"	6" à 7"
75°	8" à 9"	9" à 11"
72°	12" à 14"	19" à 22"
70°	17" à 20"	35" à 40"
65°	1'30" à 1'40"	2'30" à 2'40"
62°	3'30"	6'
60°	5'	9'30" à 10'



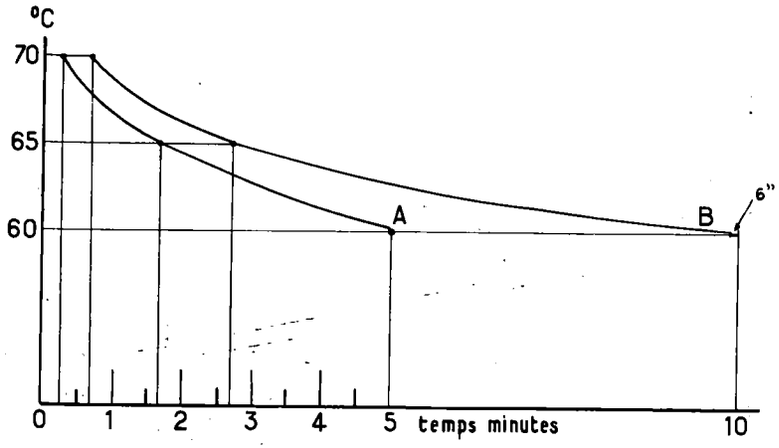
Graphique 39

Streptococcus pyogenes (groupe A de Lancefield).



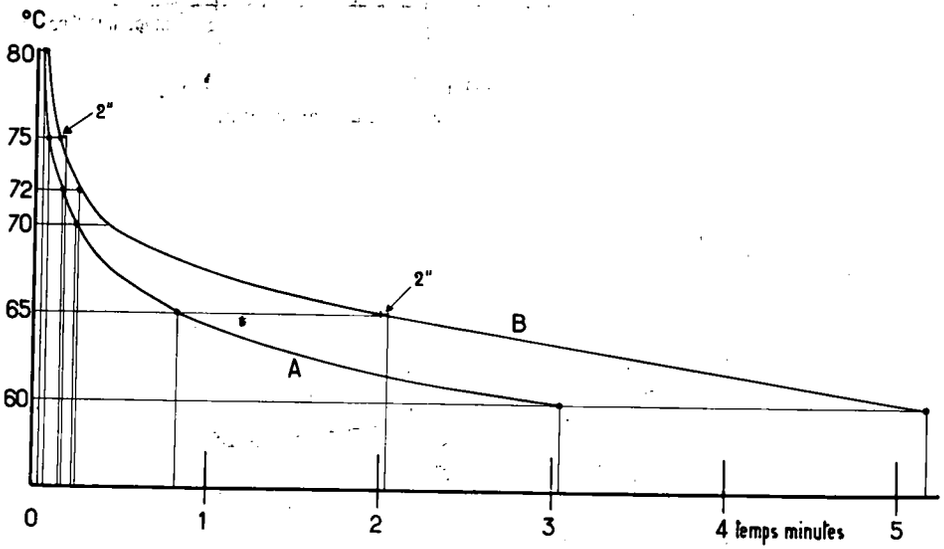
Graphique 40

Streptococcus pyogenes (groupe C de Lancefield).



Graphique 41

Streptococcus pyogenes (groupe C de Lancefield).



Graphique 42

Streptocoques β hémolytiques.

Les chauffages suivants assurent la destruction de streptocoques β hémolytiques n'appartenant pas aux groupes A, B ou C de Lancefield (voir aussi graphique n° 42)

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
80°	2" à 3"	4"
78°	3"	5"
75°	4" à 5"	6" à 8"
72°	8" à 9"	14"
70°	11" à 13"	22" à 25"
65°	50" à 55"	2' à 2'10"
62°	2'	3'35"
60°	3' à 3'12"	4'40" à 5'10"

10 - ENTÉROCOQUE (STREPTOCOQUE DU GROUPE D DE LANCEFIELD)

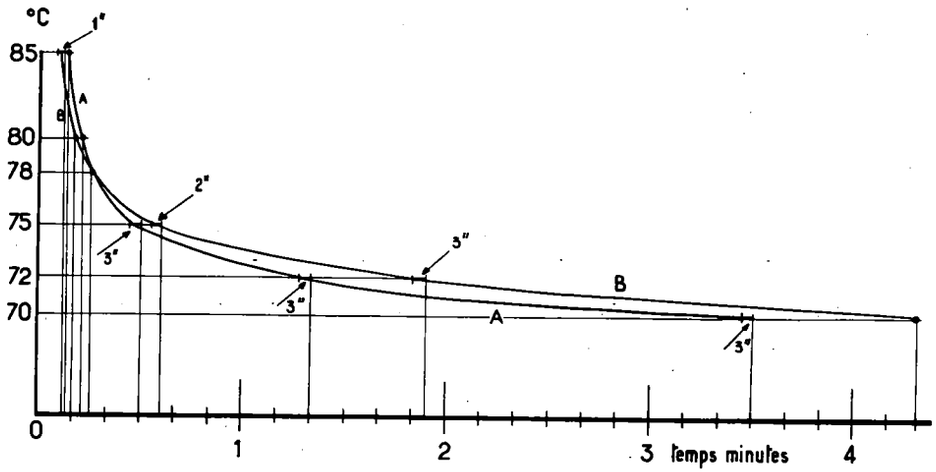
- Nombre de souches étudiées : neuf :
  - quatre Streptococcus fœcalis
  - trois Streptococcus Zymogenes
  - un Streptococcus Durans
  - deux souches inclassables
- Provenance des souches :
  - quatre isolées de matières fécales de bovins,
  - deux de matières fécales humaines,
  - deux de cas de pyélonéphrite humaine.

La richesse de la suspension soumise au chauffage était de l'ordre de 4.10^7 germes/ml.

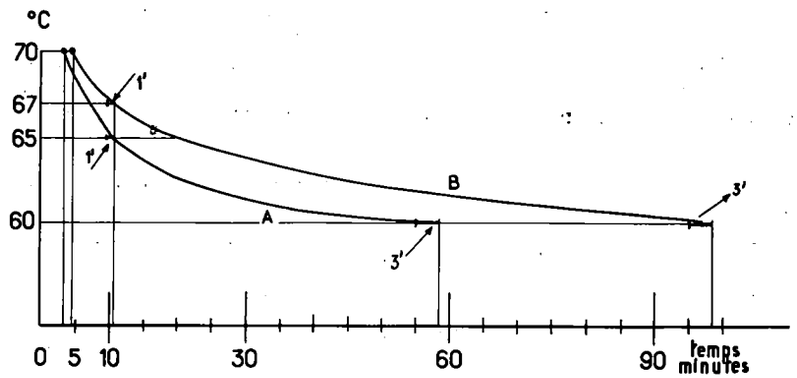
Après chauffage, les suspensions en eau et en lait stérilisés ont été ensemencées en bouillon glucosé, les émulsions en lait cru, en milieu de Perry et Hajna à l'azoture de sodium; la nature des cultures développées dans ces milieux liquides a été vérifiée, après un deuxième ensemencement sur gélose ordinaire, par la recherche des caractères biochimiques propres à l'entérocoque.

Les chauffages suivants assurent la destruction des entérocoques (voir aussi graphiques n° 43, 44, 45 et 46).

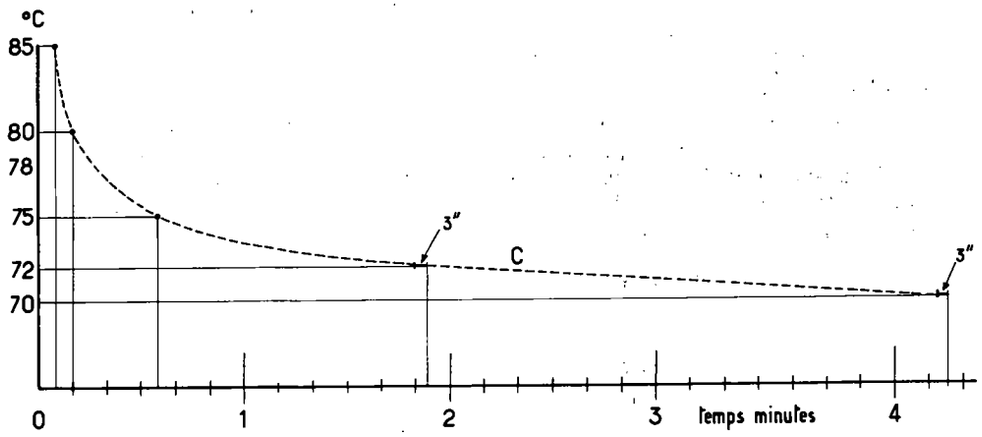
Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
85°	7"	5" à 6"	5"
80°	11" à 12"	9" à 10"	8" à 10"
78°	15"	15"	16"
75°	25" à 30"	32" à 35"	30" à 35"
72°	77" à 80"	110" à 113"	110" à 113"
70°	3'20" à 3'30"	4'05" à 4'20"	4' à 4'15"
67°	6'30"	9'30" à 10'30"	
65°	9'30" à 10'30"	18'30" à 19'	18'30" à 19'
60°	52' à 58'	90' à 98'	85' à 90'



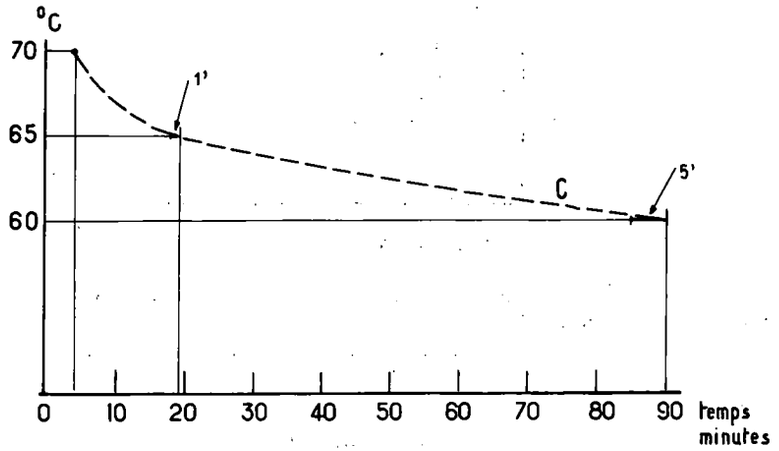
Graphique 43
Streptococcus (groupe D de Lancefield).



Graphique 44
Streptococcus (groupe D de Lancefield).



Graphique 45
Streptococcus (groupe D de Lancefield).



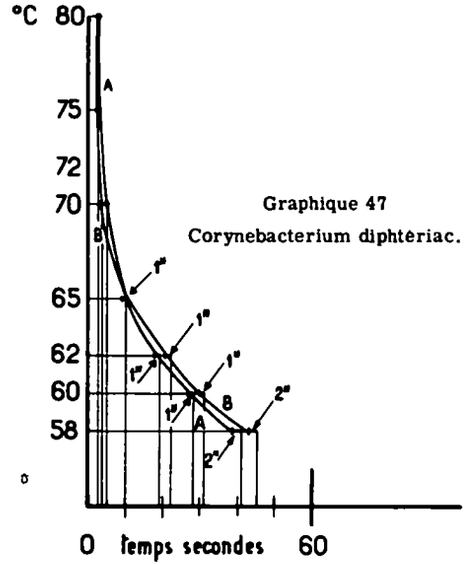
Graphique 46
Streptococcus (groupe D de Lancefield).

11 - BACILLE DIPHTÉRIQUE (CORYNEBACTERIUM DIPHTERIÆ)

- Nombre de souches étudiées :
  - deux souches récemment isolées d'angines diphtériques
  - une souche de collection.

Les essais de chauffage ont été effectués sur les suspensions microbiennes en eau physiologique et en lait stérilisé. Ces suspensions étaient obtenues à partir de cultures de 24 heures en bouillon glycériné et titraient environ 2.10^7 germes/ml.

Après chauffage, les bactéries survivantes ont été recherchées par ensemencement en bouillon glucosé. L'expérimentation n'a pas compris d'essai effectué avec des laits crus en raison des difficultés qu'aurait rencontrées la mise en culture du bacille diphtérique à partir de produits fortement contaminés par d'autres espèces bactériennes.



Graphique 47
Corynebacterium diphteriae.

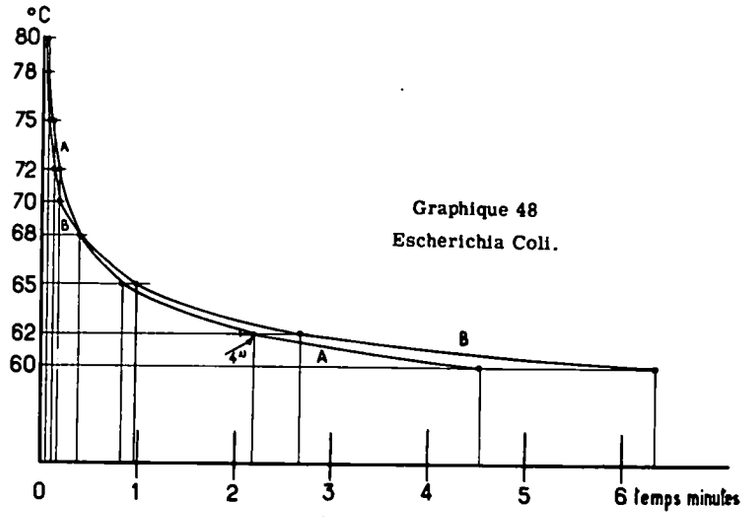
Les chauffages suivants assurent la destruction des bacilles diphtériques (voir aussi graphique n° 47)

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :	
	Eau physiologique	Lait stérilisé
80°	2"	2"
75°	2"	2"
72°	3"	2"
70°	5"	3"
65°	9" à 10"	9" à 10"
62°	18" à 19"	20" à 21"
60°	25" à 28"	28" à 31"
58°	39" à 41"	43" à 45"

12 - COLIBACILLE (ESCHERICHIA COLI)

- Nombre de souches étudiées : dix
- Provenance des souches :
  - une souche isolée de matières fécales humaines,
  - trois de matières fécales de bovins,
  - quatre d'urines pathologiques humaines,
  - une d'un lait cru,
  - une provenant d'une hémoculture.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : 4.10^7 germes/ml environ.

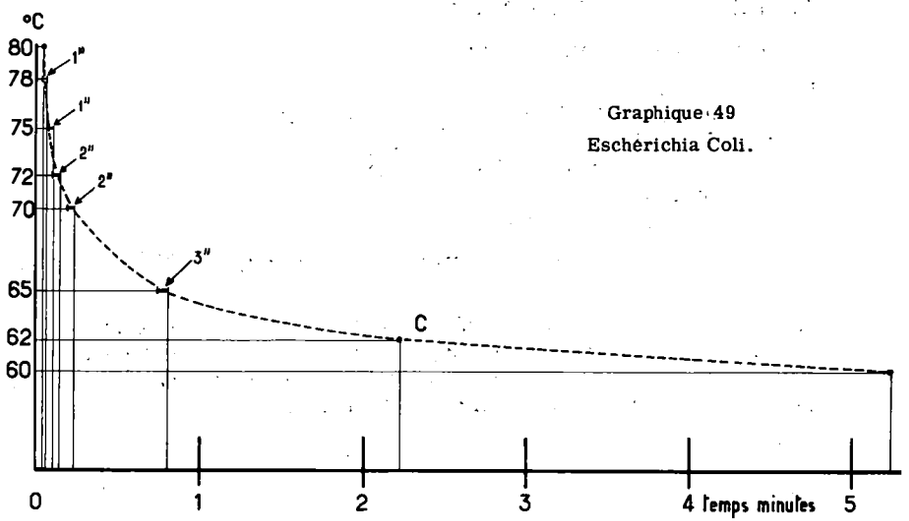
Après chauffage, les suspensions en eau et en lait stérilisés ont été ensemencées en bouillon glucosé, les suspensions en lait cru, en bouillon lactosé additionné de bile et de vert brillant (voir formule page 105), les cultures développées dans ce milieu ont été ensuite identifiées.



Graphique 48
Escherichia Coli.

Les chauffages suivants assurent la destruction des colibacilles (voir aussi graphiques n° 48 et 49) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
78°	2" à 3"	2"	2" à 3"
75°	4" à 6"	4"	3" à 5"
72°	9" à 10"	8"	5" à 6"
70°	10" à 13"	8" à 12"	7" à 12"
65°	45" à 50"	52" à 60"	44" à 48"
62°	2'08"	2'40"	2'12"
60°	4'05" à 4'30"	6' à 6'20"	4'55" à 5'15"



Graphique 49
Escherichia Coli.

13 - COLIBACILLES PATHOGÈNES (VAR. 026 B 6, 055 B 5, 0 111 B 4.)

- Nombre de souches étudiées : 1 de chaque variété.
- Provenance des souches : souches de collection.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : $2,5.10^7$ germes/ml.

Après chauffage, les suspensions en eau physiologique et en lait stérilisés ont été ensemencées en bouillon glucosé, les suspensions en lait cru en bouillon lactosé additionné de bile et de vert brillant; la nature des cultures développées dans ce dernier milieu a été confirmée par isolement sur gélose EMB (Difco) et, ultérieurement, par la recherche des caractères sérologiques.

Les germes appartenant à ces trois variétés de colibacille présentent des thermo-résistances voisines les unes des autres, la variété 0111B4 étant cependant la plus sensible à la chaleur. Les colibacilles pathogènes sont détruits par les chauffages indiqués ci-dessous (voir aussi graphique n°50, 51, 52, 53, 54, 55) :

ESCHERICHIA COLI 026B6

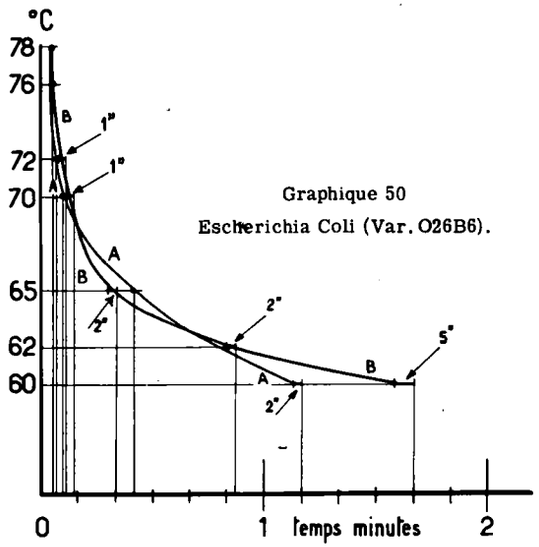
Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
78°	2"	2"	2"
76°	2" à 3"	2" à 3"	-
75°	-	-	3"
72°	4"	6"	5" à 7"
70°	6"	7" à 8"	9"
65°	25"	18" à 20"	16" à 17"
62°	50"	50" à 52"	42"
60°	1'08"	1'35" à 1'40"	1'40" à 1'42"

ESCHERICHIA COLI 055B5

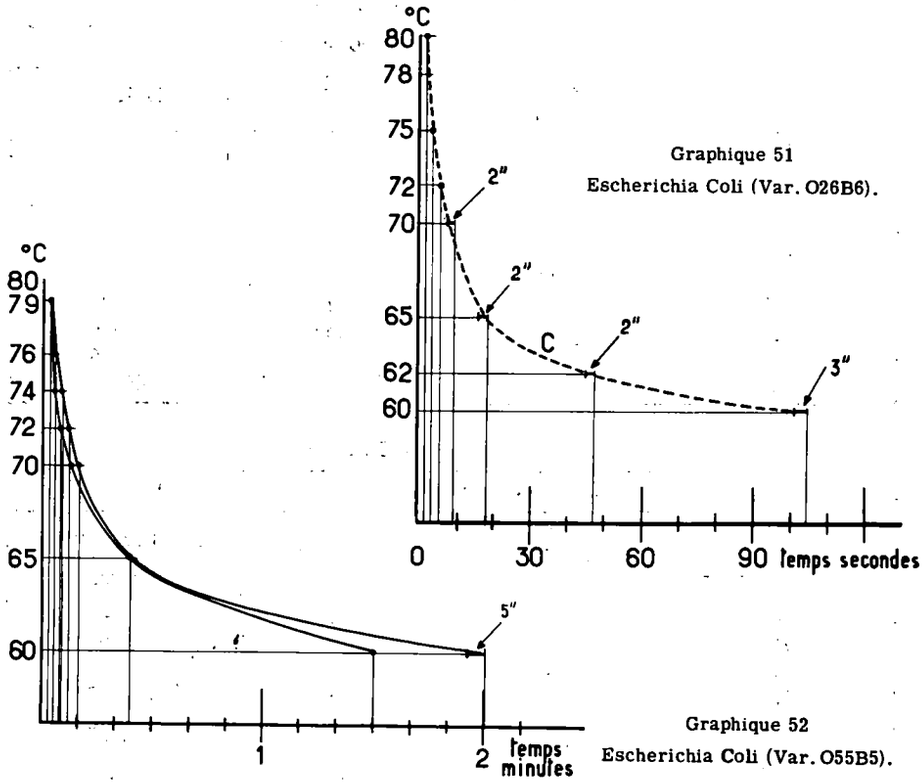
Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	-	-	2"
79°	2"	2"	
78°	-	-	3"
76°	3"	3"	-
75°	-	-	4"
74°	3"	5"	-
72°	5"	7"	7"
65°	25"	25"	18"
62°	-	-	47" à 48"
60°	1'28" à 1'30"	1'55" à 2'00"	2'05"

ESCHERICHIA COLI 0111B4

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
78°	2"	-	2"
76°	3"	2"	-
75°	-	-	3"
74°	5"	4"	-
72°	6"	5"	5" à 6"
70°	8"	6"	7" à 8"
65°	25"	28"	16"
62°	50"	55"	35"
60°	1'05"	1'25"	1'28" à 1'30"

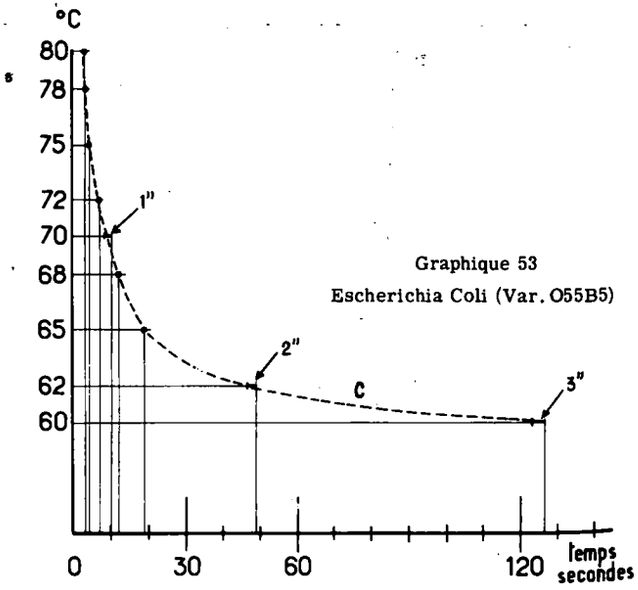


Graphique 50
Escherichia Coli (Var. O26B6).

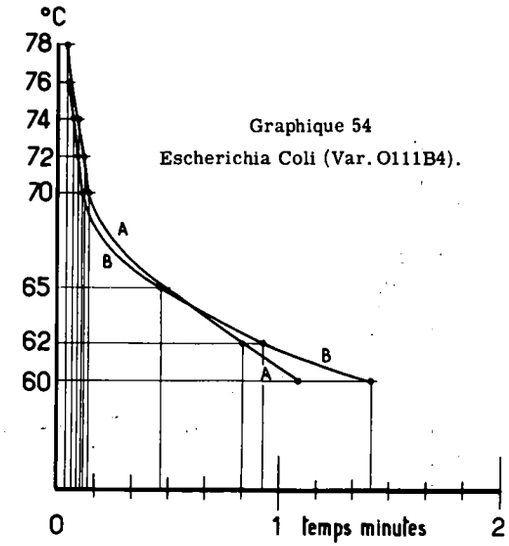


Graphique 51
Escherichia Coli (Var. O26B6).

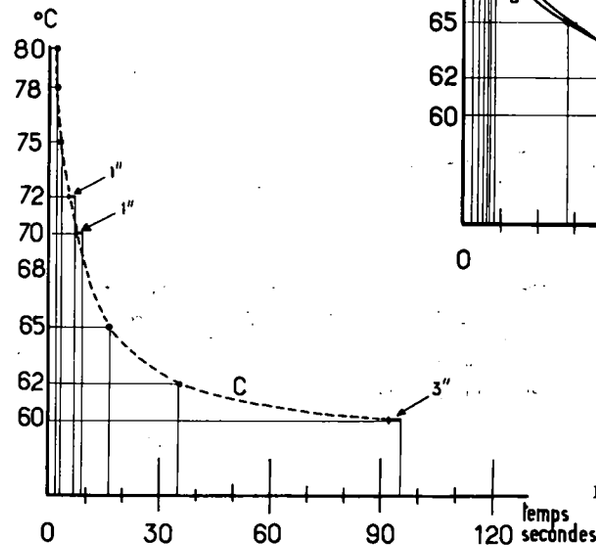
Graphique 52
Escherichia Coli (Var. O55B5).



Graphique 53
Escherichia Coli (Var. O55B5)



Graphique 54
Escherichia Coli (Var. O111B4).



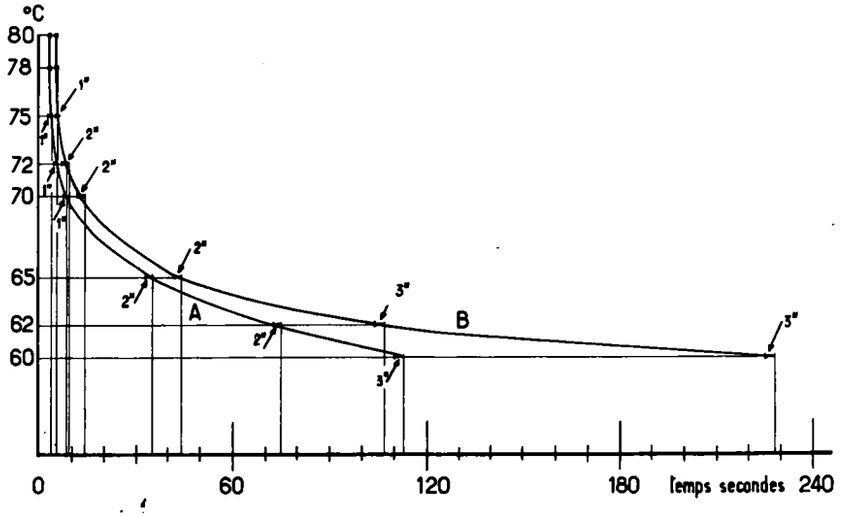
Graphique 55
Escherichia Coli (Var. O111B4).

14 - BACILLES PARACOLI AEROGENES

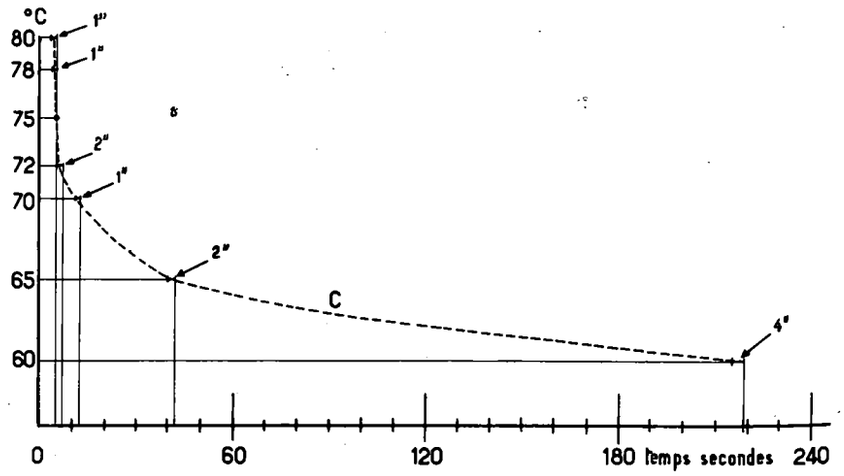
- Nombre de souches étudiées : deux.
- Provenance des souches :
  - une isolée de matières fécales de bovin
  - une autre isolée de pyélonéphrite humaine.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : $3,5.10^7$ germes/ml.

Pour paracoli aerogenes, après chauffage, les suspensions microbiennes en eau et lait stérilisés, ont été ensemencées en bouillon glucosé, les suspensions en lait cru d'une part sur milieu au tergitol 7 additionné de chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium (1), d'autre part, en bouillon glucosé bilié additionné de vert brillant (voir formule page 108) à raison de 0,5 ml par tube. A partir des cultures développées dans le dernier milieu, des isolements ont été pratiqués sur gélose au tergitol 7, et l'identification par procédés biochimiques a confirmé la nature des colonies caractéristiques.

(1) Cf. "Difco Manual".



Graphique 56
Paracoli aerogenes.



Graphique 57
Paracoli aerogenes.

Les chauffages suivants assurent la destruction des paracoli aerogenes (voir aussi graphiques n° 56 et 57) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	3"	4" à 5"	4" à 5"
78°	3"	5"	4" à 5"
75°	3" à 4"	5" à 6"	5"
72°	5" à 6"	7" à 8"	5" à 6"
70°	7" à 9"	11" à 13"	10" à 12"
65°	32" à 35"	39" à 44"	37" à 42"
62°	72" à 74"	104" à 106"	-
60°	1'45" à 1'51"	3'40" à 3'47"	3'35" à 3'39"

15 - BACILLES PARACOLI ANAEROGENES

- Nombre de souches étudiées : deux
- Provenance des souches :
  - une de matières fécales de bovins
  - l'autre d'une urine humaine.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : 3.10^7 germes/ml environ.

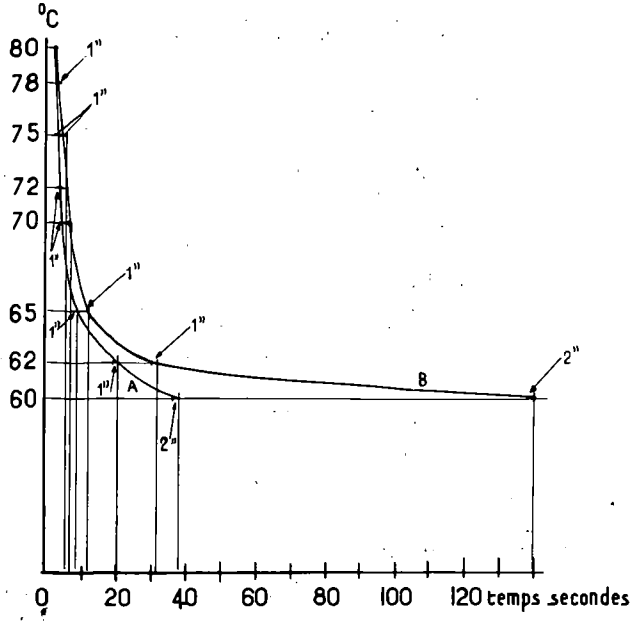
Après chauffage, la recherche des bactéries survivantes a été effectuée par les mêmes méthodes que celles utilisées dans le cas des bacilles paracoli aerogenes.

Les chauffages suivants assurent la destruction des paracoli anaerogenes : (voir aussi graphiques n° 58 et 59) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
78°	2"	2" à 3"	2" à 3"
75°	2" à 3"	3" à 4"	3" à 4"
72°	2" à 3"	4"	4"
70°	4" à 5"	5" à 7"	5" à 6"
68°	-	-	6" à 7"
65°	6" à 8"	9" à 11"	9" à 11"
62°	19" à 20"	30" à 31"	28" à 29"
60°	34" à 38"	2'10" à 2'20"	2'08" à 2'15"

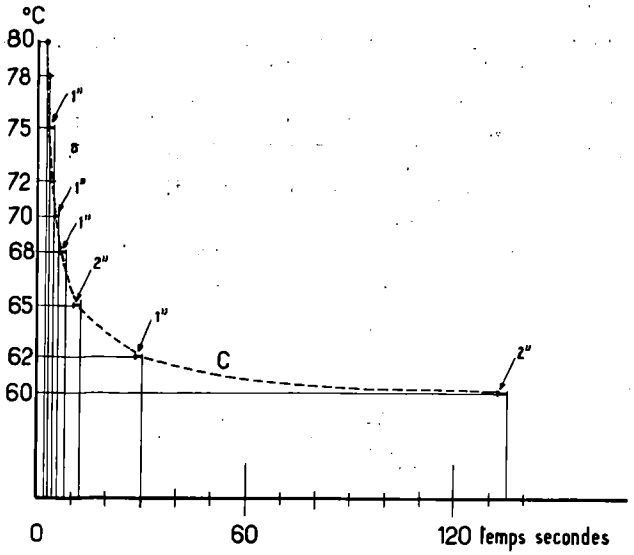
16 - ARIZONA

- Nombre de souches : une
- Provenance de la souche : vésicule biliaire de porc.
- Richesse des émulsions soumises au chauffage : $2,5.10^7$ germes/ml.



Graphique 58

Paracoli anaerogenes.



Graphique 59

Paracoli anaerogenes.

Mêmes méthodes de recherche des bactéries survivantes que dans le cas des bacilles paracoli.

Les chauffages suivants assurent la destruction des Arizona (voir aussi graphiques n° 60 et 61) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2" à 3"	2"
78°	2"	3"	2"
75°	3"	4"	3"
72°	4" à 5"	5" à 6"	4" à 5"
70°	5" à 6"	7"	5" à 6"
65°	9" à 10"	11"	10"
62°	19" à 20"	28" à 29"	26" à 27"
60°	30" à 32"	93" à 95"	90"

17 - PROVIDENCIA (29.911)

- Nombre de souches étudiées : une
- Provenance de la souche : vésicule biliaire de bovin.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : $2,8.10^7$ germes/ml.

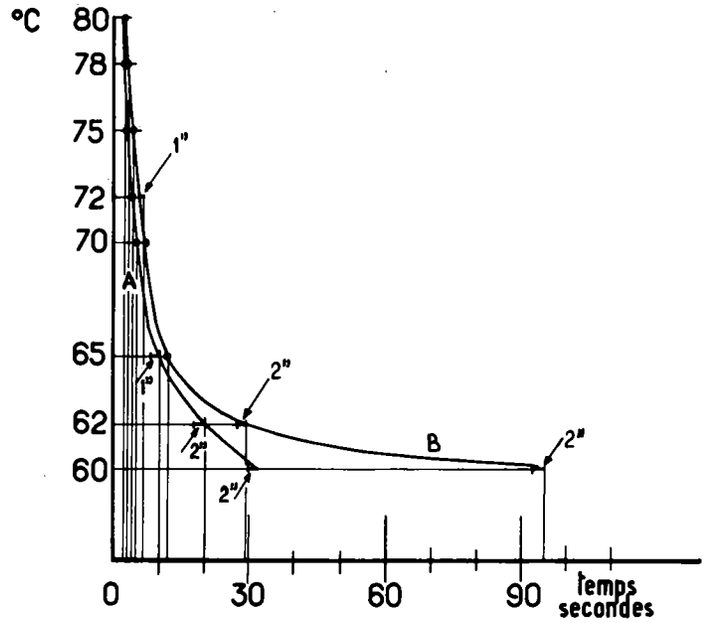
Mêmes méthodes de recherche des bactéries survivantes que dans le cas des paracoli.

Les chauffages suivants assurent la destruction de ces germes (voir aussi graphiques n° 62 et 63) :

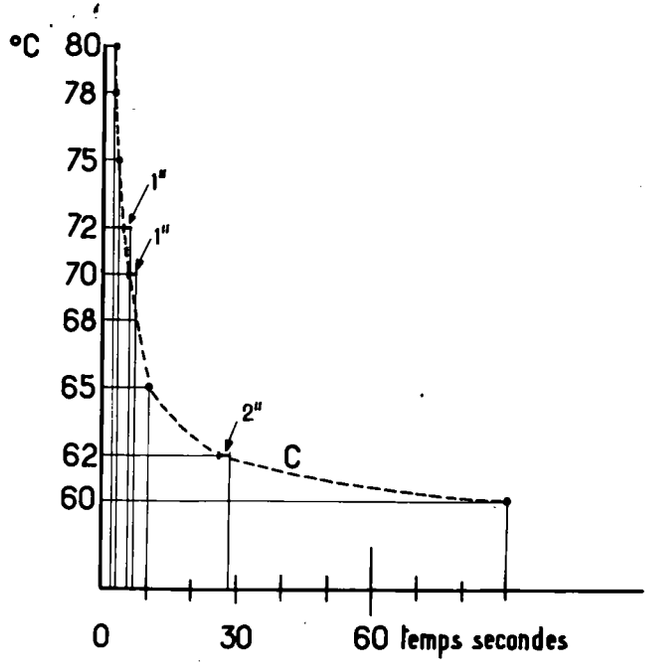
Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
75°	2"	3"	3"
72°	4" à 5"	6" à 7"	5" à 6"
70°	7" à 8"	10" à 11"	9"
68°	-	-	13" à 14"
65°	17" à 19"	34" à 35"	32" à 33"
62°	40"	1'10" à 1'12"	-
60°	1'10"	2' à 2'02"	1'55"

18 - KLEBSIELLA AEROGENES

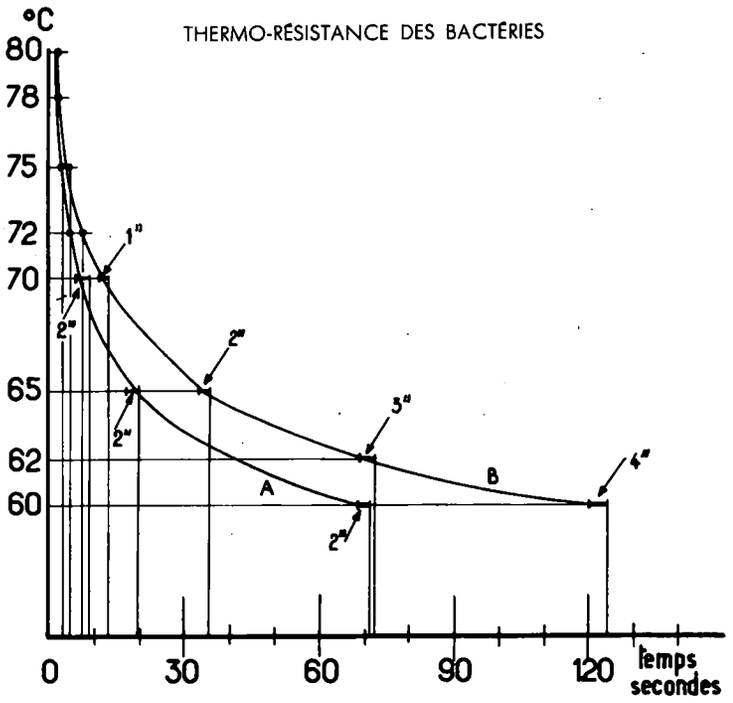
- Nombre de souches : quatre
- Provenance des souches :
  - deux isolées de laits
  - deux de matières fécales de bovins.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : de l'ordre de 4.10^7 germes/ml.



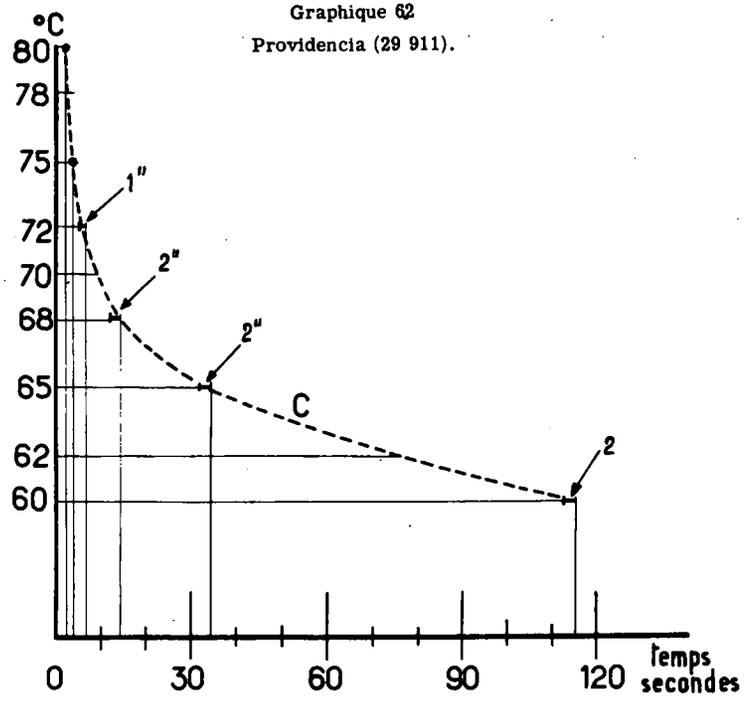
Graphique 60 Arizona.



Graphique 61 Arizona.



Graphique 62
Providencia (29 911).



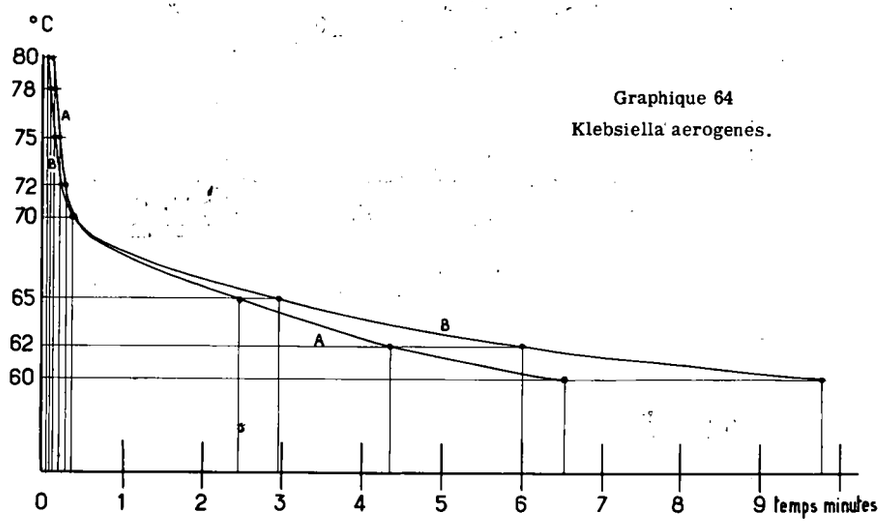
Graphique 63
Providencia (29 911).

Les bactéries survivant au chauffage ont été mises en évidence par :

- ensemencement des suspensions en eau et lait stérilisés en bouillon glucosé,

- ensemencement des suspensions en lait cru, d'une part sur gélose EMB Difco, d'autre part en bouillon lactosé bilié (voir formule page 105). Les germes qui se sont développés dans ce dernier milieu ont été identifiés après isolement.

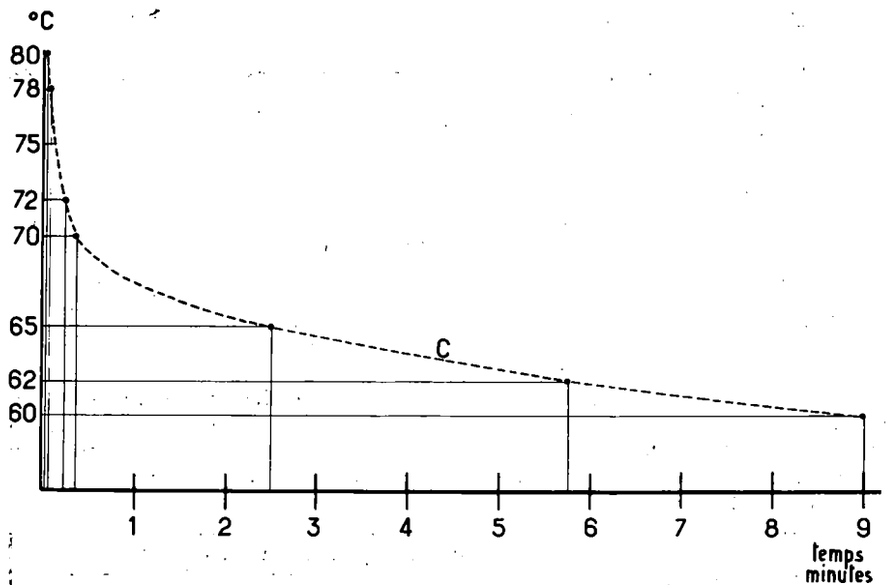
Il est à noter que les résultats obtenus dans l'expérimentation portant sur les suspensions en lait cru, correspondent en fait, à la destruction globale non seulement des germes artificiellement introduits dans le lait cru, mais encore à ceux qui pouvaient s'y trouver naturellement.



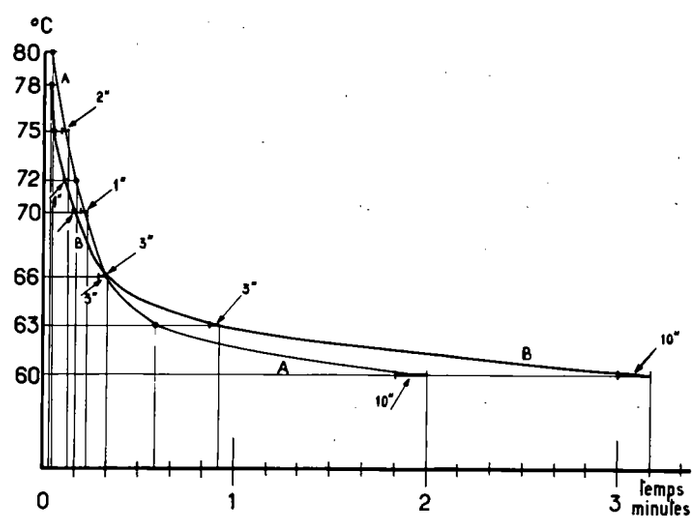
Graphique 64
Klebsiella aerogenes.

Les chauffages suivants assurent la destruction de Klebsiella aerogenes (voir graphiques n° 64 et 65) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	4"	2"	2"
78°	5"	4" à 5"	4"
75°	8" à 10"	8" à 10"	7"
72°	16"	12"	12" à 14"
70°	17" à 20"	16" à 20"	17" à 20"
65°	2'15" à 2'25"	2'40" à 2'55"	2'30"
62°	4'20"	6'	5'30" à 5'45"
60°	6'15" à 6'30"	9'10" à 9'40"	8'40" à 9'



Graphique 65
Klebsiella aerogenes.



Graphique 66
Klebsiella pneumoniae.

19 - KLEBSIELLA PNEUMONIÆ

- Nombre de souches étudiées : trois souches de pneumobacille de Friedländer.
- Provenance des souches :
  - une souche de collection
  - deux souches récemment isolées :
    - l'une d'une expectoration humaine
    - l'autre du lait d'une vache atteinte de mammite.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : 3.10^7 germes/ml.

Les méthodes de recherche des germes survivants ont été les mêmes que celles employées dans le cas de Klebsiella aerogenes.

Les chauffages suivants assurent la destruction des pneumobacilles de Friedländer (voir aussi graphique n° 66 - Nous n'avons pas fait figurer de graphique relatif à la suspension en lait cru, les essais portant sur cette suspension n'ayant pas été réalisés systématiquement à toutes les températures désirables) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	-	2"
78°	-	2"	2"
75°	5" à 7"		3"
72°	10"	6" à 7"	-
70°	10" à 13"	8" à 10"	7" à 10"
66°	16" à 20"	17" à 20"	-
63°	35"	52" à 55"	-
60°	1'40" à 2'	2'50" à 3'10"	-

20 - PROTEUS

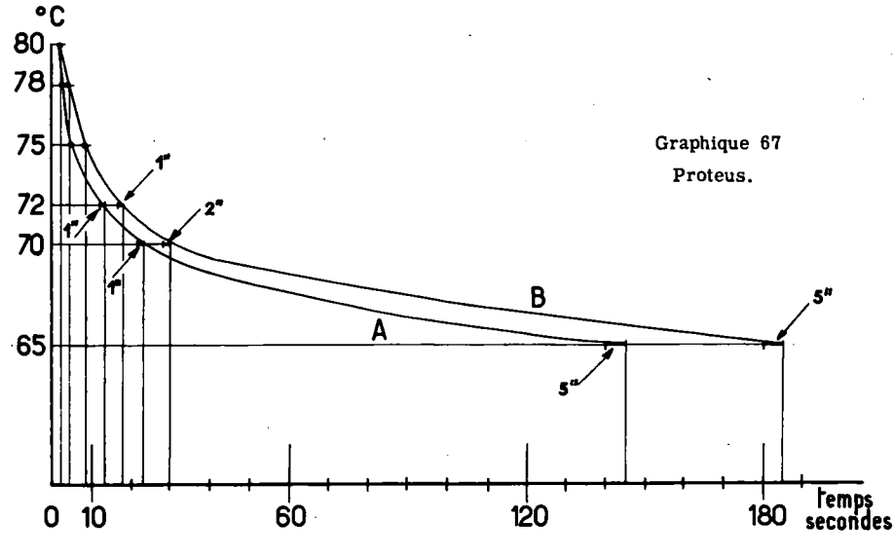
- Nombre de souches étudiées : sept
- Provenance des souches :
  - quatre souches de Proteus mirabilis :
    - trois provenant de sols d'étables,
    - une d'un cas de pyélonéphrite humaine,
  - trois souches de Proteus vulgaris :
    - deux isolées d'abcès de veau,
    - une d'urine pathologique humaine.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : environ 4.10^7 germes/ml.

Après chauffage, les bactéries survivantes ont été mises en évidence par ensemencement des suspensions en eau et lait stérilisés dans du bouillon glucosé et ensemencement des suspensions en lait cru sur gélose au tergitol 7 additionné de 2-3-5 triphényltétrazolium. (Il est à noter que, bien que les souches utilisées soient très mobiles, le simple ensemencement dans l'eau

de condensation était insuffisant, le chauffage pouvant inhiber la mobilité des germes, sans détruire leur vitalité).

Les chauffages suivants assurent la destruction des proteus (voir aussi graphiques n°67 et 68 - Ces graphiques correspondent à celle de nos souches qui a montré la thermo-résistance la plus élevée; il s'agissait d'une souche de Proteus mirabilis) :

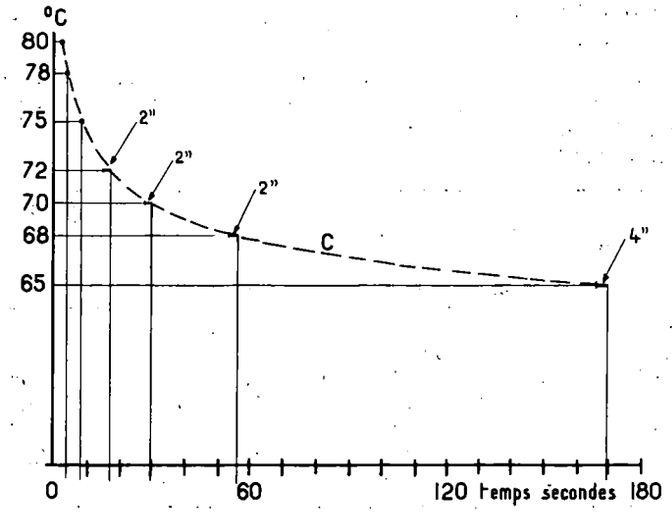
Températures	Durée du chauffage pour une suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2"	2"	2"
78°	3"	4"	4"
75°	4" à 5"	6" à 8"	6" à 8"
72°	12" à 13"	17" à 18"	15" à 17"
70°	18" à 22"	25" à 30"	20" à 25"
65°	2'05" à 2'25"	2'45" à 3'05"	2'30" à 2'50"
60°	8' à 9'	14' à 15'	-



Graphique 67
Proteus.

21 - BACILLE PYOCYANIQUE (PSEUDOMONAS AERUGINOSA)

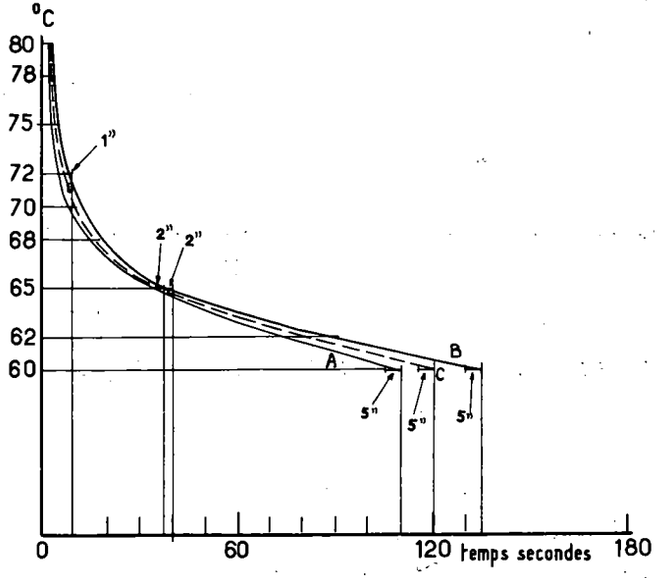
- Nombre de souches étudiées : trois
- Provenance des souches :
  - une isolée de matières fécales de bovin,
  - deux d'urines pathologiques humaines.
- Richesse des suspensions soumises au chauffage : environ 3.10 germes/ml.



Graphique 68

Proteus.

Après chauffage, les suspensions microbiennes en eau et lait stérilisés ont été ensemencées en bouillon glucosé, les suspensions en lait cru, d'une part sur gélose EMB Difco, d'autre part en bouillon. Les cultures développées dans ce dernier milieu ont subi un isolement sur gélose EMB et la nature des colonies caractéristiques obtenues a été vérifiée.



Graphique 69 Bacille pyocyanique.

Les chauffages suivants assurent la destruction des bacilles pyocyaniques (voir aussi graphique n° 69) :

Températures	Durée du chauffage pour la suspension en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
80°	2" à 3"	3"	3"
75°	4"	4" à 6"	4" à 6"
72°	5"	7" à 8"	7"
70°	6" à 8"	9" à 10"	9" à 10"
65°	33" à 37"	35" à 40"	35" à 40"
60°	1'42" à 1'50"	2'05" à 2'15"	1'50" à 2'

22 - BACILLES ANAÉROBIES

L'expérimentation a porté sur cinq souches de collection de Welchia perfringens, sur deux souches de Streptococcus anaerobius et sur une souche de B. Fundiliformis.

Les essais n'ayant pas été aussi nombreux que ceux concernant les espèces bactériennes aérobies, nous rapporterons simplement :

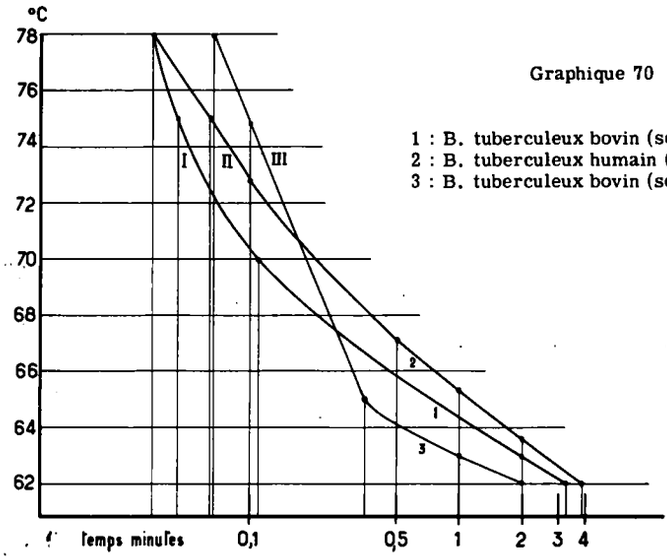
- que Welchia perfringens n'est pas détruit par un chauffage de 60 secondes à 80°C (spores revivifiables mises en évidence par ensemencement en gélose profonde au sulfite de sodium),

- que Streptococcus anaerobius et Bacillus Fundiliformis sont détruits par les chauffages suivants : 80°C/2", 75°C/4" et 70°C/8".

1) COURBES REPRÉSENTATIVES DE LA THERMO-RÉSISTANCE TRACÉES EN COORDONNÉES SEMI-LOGARITHMIQUES.

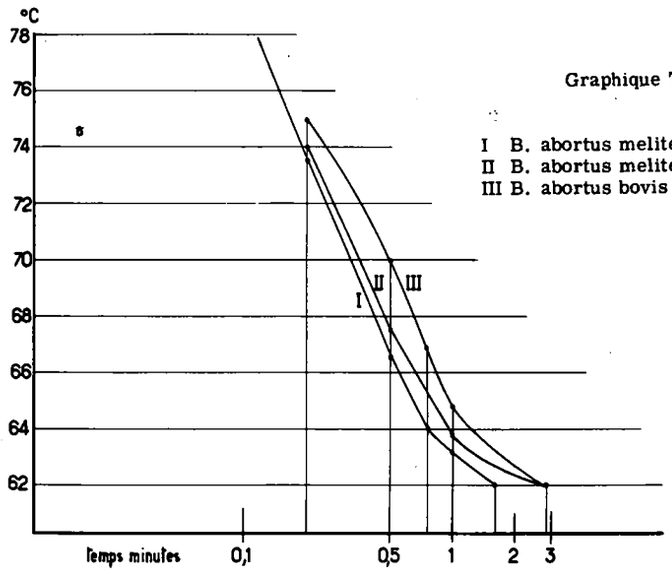
Pour les nombreux auteurs ayant étudié la thermo-résistance des bactéries (1, 2, 3 et 10), il a été d'usage courant de représenter les variations de ce caractère sur des graphiques à coordonnées semi-logarithmiques. Pour les températures variant entre 60°C et 75°C, il a ainsi été admis que le logarithme du temps de chauffage nécessaire pour détruire la vitalité des bactéries appartenant à la même espèce est une fonction linéaire de la température.

Sur les graphiques n°s 70, 71, 72 et 73, nous avons reproduit, en coordonnées semi-logarithmiques, certaines courbes figurant les résultats obtenus lors de nos expériences. Il apparaît qu'aucune de ces courbes ne représente des variations suivant des fonctions linéaires. Cette divergence entre les résultats admis comme valables et les nôtres, pourrait, en matière de bacilles tuberculeux et de brucelles, trouver une explication facile dans le



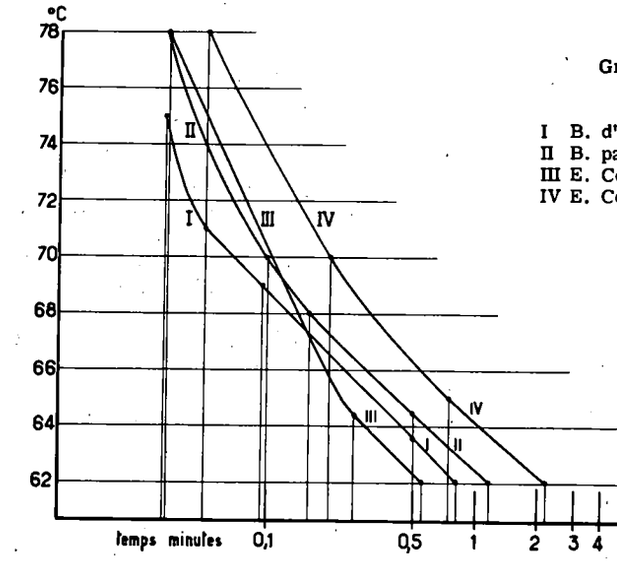
Graphique 70

1 : B. tuberculeux bovin (souche 64)
2 : B. tuberculeux humain (souche Dup)
3 : B. tuberculeux bovin (souche 100).



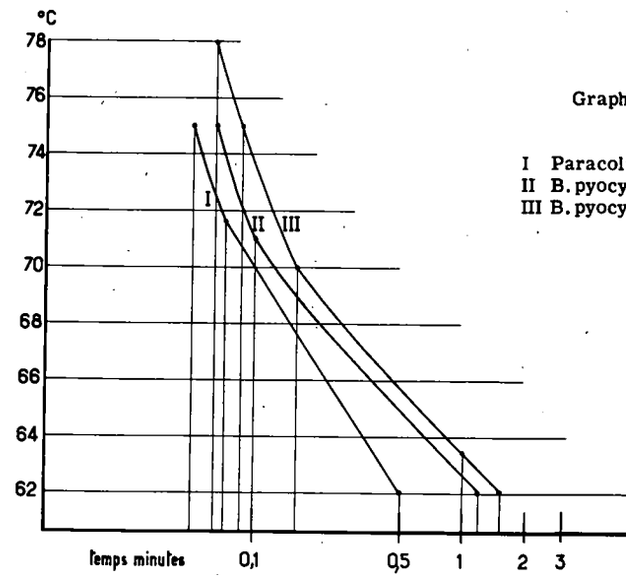
Graphique 71

I B. abortus melitensis (B43)
II B. abortus melitensis (B44)
III B. abortus bovis (B56)



Graphique 72

I B. d'Eberth
II B. paratyphique B
III E. Coli (Var. O111B4)
IV E. Coli.



Graphique 73

I Paracoli Arizona
II B. pyocyanique (en eau)
III B. pyocyanique (en lait)

fait que la plupart des souches, appartenant à ces espèces et utilisées dans notre expérimentation, se comportent du point de vue de leur thermo-résistance, non comme des souches pures, mais comme des mélanges d'au moins deux types différents de bactéries; nous avons déjà insisté sur ce phénomène. Mais par contre, il est beaucoup plus malaisé de lier cette divergence à une même hétérogénéité des souches, lorsqu'il s'agit de salmonelles, de colibacille, de bacille pyocyanique ou de bacille Arizona (cf. graphiques n°s 72 et 73). Nous pensons qu'en fait elle est imputable à des différences de conditions expérimentales et que sa mise en évidence n'a été que le résultat de l'application d'un protocole de travail comportant pour chaque température des essais de chauffage pendant des temps s'échelonnant de seconde en seconde, et nous ayant ainsi permis d'obtenir des valeurs numériques plus précises. La méthode de chauffage que nous avons utilisée nous a, d'autre part rendu possible la détermination de la sensibilité à la chaleur des bactéries pour des chauffages à températures élevées, pendant des temps très courts ; c'est la position des points figuratifs, correspondant à de tels chauffages, qui fait que, dans la plupart des cas, sur les graphiques en coordonnées semi-logarithmiques, la courbe représentative du phénomène n'est pas une droite. Il semble donc qu'il soit erroné d'admettre que l'on puisse définir des valeurs de la thermo-résistance des bactéries pour des chauffages brefs à des températures élevées (supérieurs à 70°C) en extrapolant à partir des résultats acquis par une expérimentation mettant en œuvre des chauffages à des températures moins élevées. Les valeurs ainsi définies sont inférieures aux valeurs réelles, que nous avons obtenues dans nos expériences.

2) HÉTÉROGÉNÉITÉ D'UNE POPULATION MICROBIENNE QUANT A SA THERMO-RÉSISTANCE.

Toutes les valeurs numériques figurant dans les tableaux ou sur les graphiques précédemment présentés correspondent à la destruction de la totalité des germes des suspensions soumises au chauffage. En fait, pour des chauffages inférieurs, du point de vue durée ou température, à ceux réalisant cette destruction, un fort pourcentage des bactéries a déjà perdu sa vitalité. L'effet progressif de la chaleur a été mis en évidence en particulier dans le cas du bacille de Koch lors d'ensemencements des suspensions chauffées sur des milieux de culture solides. Il se reflète, par exemple, dans les nombres des colonies apparues dans des séries de tubes de milieu de Lowenstein-Jensen ayant tous reçu des inoculums de volumes identiques.

Dans les tableaux suivants sont consignés les nombres moyens de colonies développées à partir d'une suspension en lait cru de bacilles tuberculeux, soumis à différents chauffages :

BACILLE DE KOCH HUMAIN

Températures de chauffage	Durée du chauffage :							
	4"	6"	8"	10"	12"	14"	16"	17"
72°	32	19	7	2	0	-	-	-
70°	52	55	33	27	16	5	4	0
Remarque : A partir d'un inoculum de même volume de la suspension non chauffée, on obtenait 68 colonies.								

BACILLE DE KOCH BOVIN

Températures de chauffage	Durée du chauffage :								
	2"	4"	5"	6"	7"	8"	9"	10"	11"
72°	58	30	9	4	2	0	-	-	-
70°	60	57	30	25	16	5	1	1	0
Remarque : A partir d'un inoculum de même volume de la suspension non chauffée, on obtenait 105 colonies.									

3) INFLUENCE DE LA VARIATION DES DIVERS PARAMÈTRES SUR LA SENSIBILITÉ D'UNE SUSPENSION MICROBIENNE A LA CHALEUR. *

Dans toute l'expérimentation précédemment rapportée, et comme il a été déjà précisé, chaque essai de chauffage (sauf exception pour le bacille de Koch et les Brucelles) a été effectué sur des suspensions microbiennes titrant au moins 1.10^7 germes/ml et réalisées à partir de cultures ayant 24 heures d'incubation à 37°C.

Pour les suspensions en lait cru, il a été employé un lait dont l'acidité était de l'ordre de 16°D à 18°D.

Nous avons recherché au cours d'essais complémentaires, l'effet que pouvait avoir sur la thermo-résistance des bactéries, leur plus ou moins grande abondance dans le liquide chauffé, leur "âge" et d'autre part, l'acidité du milieu.

a) Etude de l'effet de la dilution de la suspension microbienne sur la thermo-résistance

L'intérêt de cette étude se justifie du fait que, naturellement, la pollution du lait ne peut être aussi forte que celle que nous avons artificiellement créée dans nos expériences précédentes. Nous avons réalisé pour certaines espèces bactériennes, en utilisant les mêmes souches que dans nos premiers essais, des suspensions contenant de 4.10^3 à 2.10^3 germes/ml. Dans ces conditions, la destruction totale des bactéries a été effective pour les chauffages suivants :

* Pour toutes les espèces microbiennes dont les thermorésistances en lait stérilisé et en lait cru ont pu être étudiées, il apparaît que les suspensions dans ces deux liquides présentent des sensibilités au chauffage très voisines ; d'une manière générale, la suspension en lait cru semble présenter une thermorésistance légèrement plus faible que celle en lait stérilisé. Aussi peut-on admettre, sans risquer de commettre de fortes erreurs, qu'il en est de même dans le cas des espèces bactériennes chez lesquelles, pour des raisons techniques, la thermorésistance en lait cru n'a pu être étudiée.

Températures	Destruction totale de la suspension (2.10^3 à 4.10^3 germes/ml) en :		
	Eau physiologique	Lait stérilisé	Lait cru
Colibacilles :			
75°	4" à 5"	3" à 4"	3" à 5"
72°	6" à 9"	7"	5" à 6"
70°	9" à 12"	8" à 11"	6" à 9"
65°	40" à 46"	55"	42" à 48"
62°	2'	2'30"	2'10"
Bacille typhique			
75°	2"	2"	2"
72°	3"	3" à 4"	4"
70°	4"	4"	5"
65°	10" à 12"	15" à 18"	15" à 18"
62°	20" à 24"	28" à 32"	34" à 38"
Bacille paratyphique B :			
75°	2" à 3"	2" à 3"	3"
72°	4" à 5"	4"	4"
70°	5" à 7"	5" à 6"	5"
65°	22" à 24"	22" à 24"	21" à 24"
62°			1'
Streptocoques pyogenes du groupe A :			
75°	2"	4"	-
72°	3"	5"	-
70°	3" à 4"	8"	-
65°	45" à 50"	60" à 65"	-
Staphylocoques pathogènes :			
75°	3"	5"	5" à 6"
70°	8"	10" à 13"	11" à 13"
65°	25" à 30"	48" à 52"	48" à 55"

Ces résultats montrent que la dilution d'une suspension microbienne entraîne, d'une manière générale, une diminution légère de la thermo-résistance des bactéries.

b) Etude de l'effet de l'âge des bactéries sur leur thermorésistance

Pour la plupart des espèces microbiennes étudiées, la recherche des variations de la thermo-résistance en fonction de l'âge des germes a été entreprise. Nos expériences ont porté sur des suspensions microbiennes obtenues à partir de cultures en bouillon âgées de 3 jours et de 8 jours.

Ces suspensions ont montré une thermo-résistance égale ou parfois très légèrement inférieure à celle des suspensions contenant des bactéries âgées de 18 et 24 heures. Les différences enregistrées n'ont jamais excédé une seconde pour des températures comprises entre 70° et 75°C, quatre secondes pour des températures de l'ordre de 60°C.

c) Etude de l'effet du degré de la phase dispersante de la suspension sur la thermorésistance des bactéries

Il est généralement admis que la sensibilité à la chaleur des bactéries augmente lorsque le pH diminue (11 et 12), mais ces conclusions ont été tirées d'expériences effectuées sur des bactéries en suspension dans un liquide ne contenant pas de protéines.

Nous avons procédé à une série d'essais de chauffage de suspensions de bacilles typhiques, de bacilles paratyphiques B, de colibacilles, de staphylocoques dans des laits crus présentant différents degrés d'acidité (16, 18, 20, 22 et 24°D). Les valeurs numériques obtenues montrent que, d'une façon générale, l'acidité du lait, lorsqu'elle est inférieure à 20°D, n'a pas d'influence sur la thermo-résistance des bactéries. Par contre, les acidités de l'ordre de 22 ou 24°D provoquent une légère augmentation apparente de la résistance des germes à la chaleur. Cette augmentation est, pour des chauffages à 72°C de l'ordre de 1" pour l'ensemble des germes étudiés; pour les chauffages à 65°C, elle atteint 4" dans le cas des staphylocoques et n'a jamais dépassé 3" pour les espèces à Gram négatif sur lesquelles ont porté les essais. Les observations que nous rapportons ne sont pas totalement en contradiction avec les conclusions mentionnées précédemment quant à l'effet de l'acidité. En fait, lorsqu'il s'agit de suspensions microbiennes en lait, deux phénomènes doivent se manifester, qui ont des effets opposés :

- d'une part, l'acidité qui augmente la sensibilité des germes,

- d'autre part, le fait que cette même acidité favorise les phénomènes de précipitation des protéines et la formation, sur la surface des corps microbiens, d'une couche organique protectrice.

ÉTUDE DE L'INACTIVATION DE LA PHOSPHATASE ALCALINE DU LAIT

En opérant suivant le même protocole expérimental que celui mis en œuvre pour effectuer les chauffages des suspensions microbiennes, nous avons recherché quelles étaient les conditions qui entraînaient l'inactivation de la phosphatase alcaline du lait cru. Pour ce faire, 0,1 ml de lait cru a été ajouté à 1,9 ml de lait préchauffé. Après refroidissement, l'activité enzymatique a été révélée par la méthode d'Ashaffenburg-Muellen. Sur le graphique n° 74 (page 84), sont figurés les temps de chauffage qui, à des températures supérieures à 70°C, provoquent, dans les conditions expérimentales définies, l'inactivation totale de la phosphatase.

Ces chauffages sont les suivants :

85°	2"
80°	7" à 8"
75°	20" à 23"
70°	38" à 42"
68°	50"

*

* *

CONCLUSION

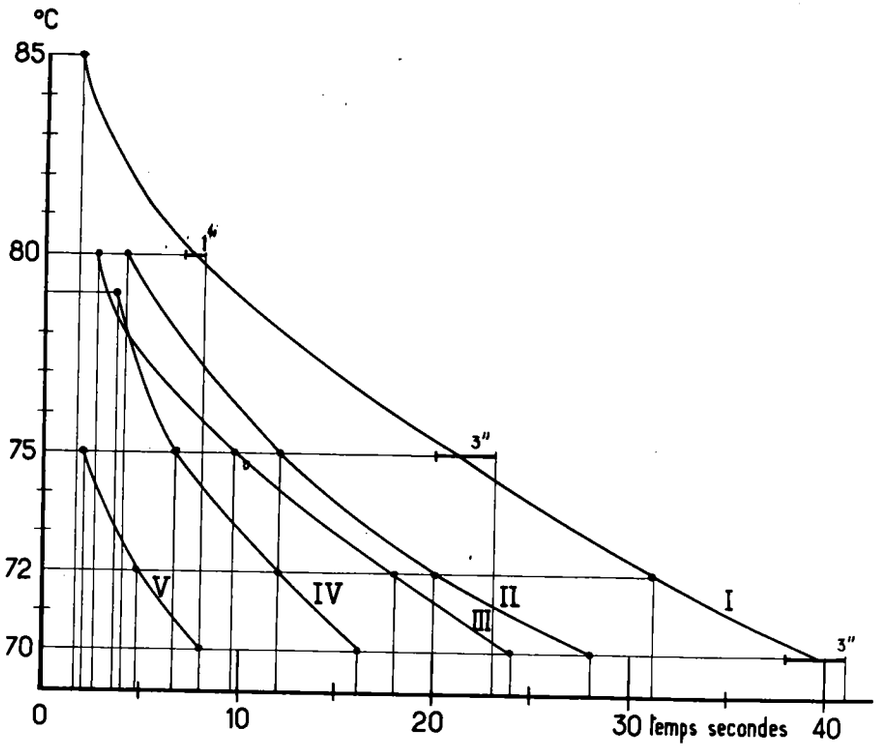
De l'ensemble de cette expérimentation, il ressort que :

- Les espèces bactériennes dont la présence dans le lait constitue un danger certain pour le consommateur se classent par ordre de thermorésistance croissante de la façon suivante : Salmonelles, Bacilles Tuberculeux, Brucelles.

- Les variétés humaines et bovines du Bacille de Koch présentent des sensibilités à la chaleur très voisines.

- L'inactivation de la phosphatase alcaline du lait n'est complète qu'après des chauffages qui assurent la destruction de toutes les espèces bactériennes pathogènes.

L'ensemble de ces faits est figuré sur le graphique n° 74. L'échelle des températures de ce graphique est limitée à la zone utilisable en pasteurisation de type H. T. S. T.



Graphique 74

I Inactivation de la phosphatase
II Destruction des Brucelles
III - des bacilles de Kock (V. humaine)
IV - - - - - (V. bovine)
V - des bacilles d'Eberth.

III - ÉTUDE DE LA DESTRUCTION DES BACTÉRIES PATHOGÈNES OU COMMENSALES DANS DES CONDITIONS DE CHAUFFAGE VOISINES DE CELLES RÉALISABLES DANS L'INDUSTRIE LAITIÈRE

MÉTHODE EXPÉRIMENTALE

L'ensemble des travaux relatés sous ce titre a été effectué en utilisant, pour le traitement thermique de laits artificiellement pollués, une installation expérimentale de pasteurisation comparable, quant à son principe de fonctionnement, aux appareils industriels de type H.T.S.T. Cette installation permettant de réaliser une pasteurisation continue offre les possibilités suivantes :

- utilisation de volumes de l'ordre de 40 litres par série d'essais,

- détermination aisée et rigoureuse des variations de température tout au long du circuit emprunté par le lait,

- réalisation de chauffages différents par adoption de plusieurs combinaisons de température - durée de chauffage.

1 - DESCRIPTION DE L'INSTALLATION EXPÉRIMENTALE

L'ensemble de l'installation comprend :

- un échangeur thermique alimenté en eau chaude, assurant l'élévation de la température du lait;
- une série de récipients hermétiquement clos jouant le rôle de chambreurs;
- un second échangeur thermique parcouru par un courant d'eau froide destiné à abaisser la température du lait;
- un système d'alimentation en lait permettant d'assurer un débit constant sous une certaine pression.

Sur le schéma n° 2 est figuré l'ensemble de cette installation.

a) Echangeurs thermiques

Chacun de ces éléments est constitué par un tube cylindrique en aluminium de 5 mm de diamètre intérieur, dans lequel passe le lait. Ce tube est placé dans l'axe d'une canalisation métallique de 5 cm de diamètre, calorifugée extérieurement, et dans laquelle circule le liquide destiné soit à réchauffer soit à refroidir le lait. En certains points (B, C, D et E, fig. 2), la

canalisation intérieure se dégage de son enveloppe chauffante et présente un léger renflement destiné à loger le bulbe d'un thermomètre de précision.

b) Les chambreurs

A la sortie de l'échangeur thermique assurant le chauffage du lait, la canalisation conduisant le liquide se divise en cinq branches, chacune munie d'une vanne et aboutissant à la partie inférieure d'une ampoule en verre jouant le rôle de chambreur. Cette ampoule présente deux orifices supérieurs, l'un lui permettant de recevoir un thermomètre, l'autre raccordé à la canalisation axiale de l'échangeur thermique de refroidissement. Les cinq ampoules en verre ont des sections et des volumes différents calculés de telle façon que le lait les traverse respectivement en 2, 5, 10, 20 et 30 secondes. Un sixième chambreur de 60 secondes peut équiper l'installation;

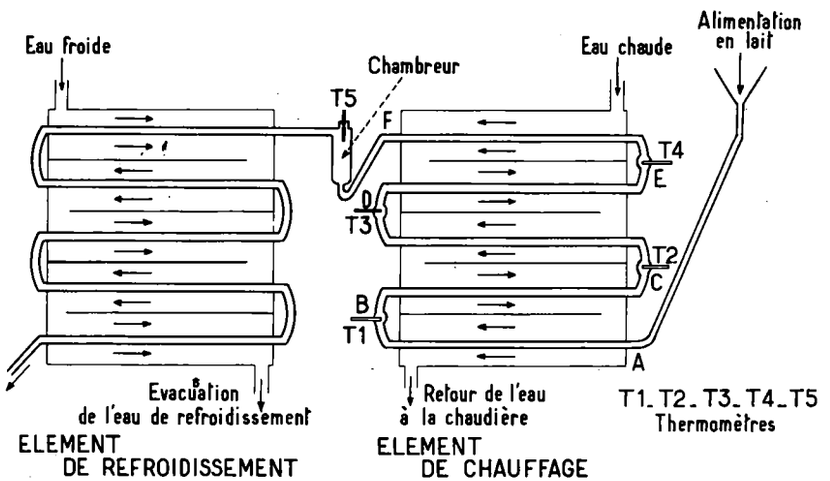


Fig. 2

nous ne l'avons utilisé que rarement et cela pour deux raisons : d'une part un chambrage aussi long n'est pas courant en pasteurisation industrielle de type H.T.S.T, d'autre part, lorsque l'installation fonctionne avec ce chambreur, le diagramme de chauffage du lait ne peut être déterminé avec autant de précision que lors de la mise en service de chambreurs plus petits, des variations assez importantes se manifestant d'un essai au suivant.

c) L'alimentation en lait

Elle est réalisée par le montage suivant : un entonnoir placé au départ de la canalisation de lait reçoit un tube de verre traversant le bouchon de caoutchouc d'un ballon de 5 litres disposé, renversé, au-dessus de l'entonnoir. Les positions de l'entonnoir et du ballon étant réglables, il est ainsi possible de faire varier la vitesse de circulation du lait dans l'installation et la pression sous laquelle circule ce lait.

2 - CONDITIONS DE FONCTIONNEMENT DE L'INSTALLATION

Tous les essais ont été conduits en règlant la position du système d'alimentation de façon à obtenir un débit, à la sortie de l'élément de refroidissement, de 1 000 ml en 100 secondes. Cette condition étant fixée, le calcul de la vitesse de circulation du lait dans l'installation a fourni les valeurs numériques suivantes :

- temps de franchissement des distances égales AB, BC, CD, DE, EF (voir fig. 2) : 3,5 secondes;
- temps de franchissement de l'élément chauffant : 17,5 secondes;
- temps de franchissement de l'élément de refroidissement (de même taille que l'élément de chauffage) : 17,5 secondes.

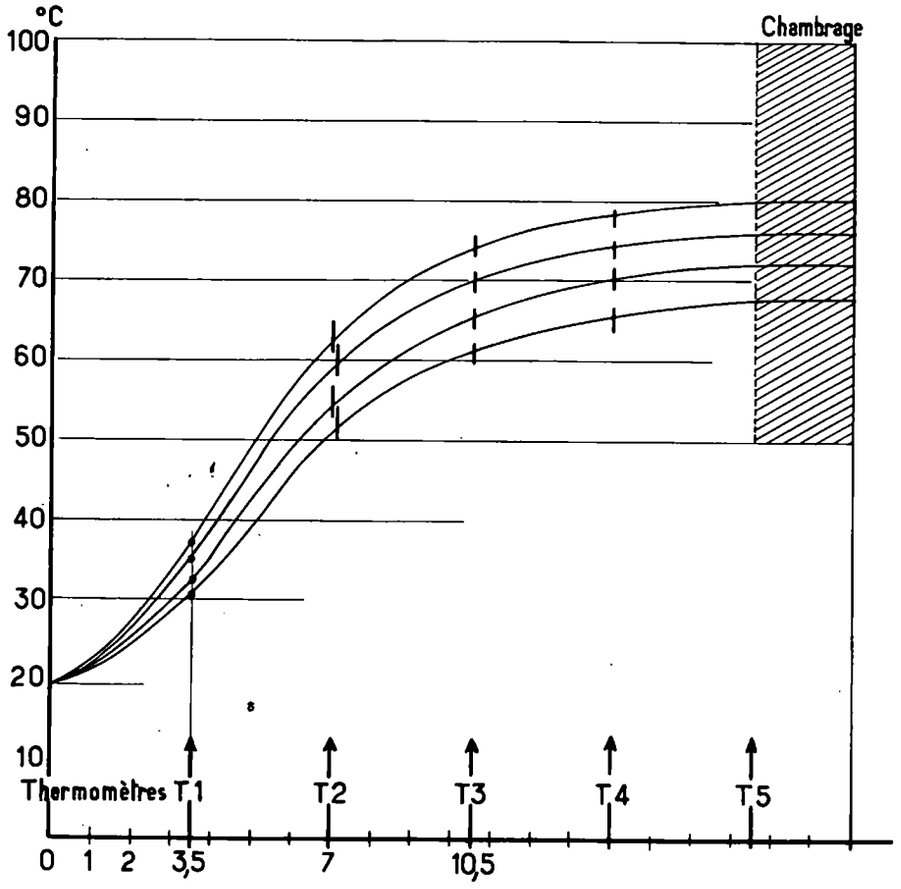
Pour obtenir cette vitesse de passage du lait dans la canalisation de l'appareil, la dénivellation à respecter entre le niveau du lait dans l'entonnoir d'alimentation et le tube supérieur de chaque échangeur thermique est de l'ordre de 1,20 m. Cette dénivellation est suffisante pour empêcher tout phénomène de moussage du lait dans l'appareil.

La circulation du lait dans l'installation de pasteurisation étant réglée de façon à respecter les conditions précédemment énoncées, la lecture des températures sur les thermomètres T1, T2, T3, T4 et T5 (cf. fig. 2) permet de tracer le diagramme, représentatif en fonction du temps, des variations de température auxquelles est soumis le lait. Sur le graphique n° 75, nous avons fait figurer 4 courbes représentant ces variations au cours de la phase de chauffage et correspondant à des températures de chambrage assez proches de celles utilisables dans l'industrie. Chacun des points figuratifs permettant de tracer ces courbes correspond à la valeur moyenne calculée sur un minimum de vingt déterminations. Il est à noter que la dispersion des valeurs numériques relevées par lecture des thermomètres T2, T3 et T4 est faible; en effet, pour ces valeurs, le calcul des écarts-types donne les résultats suivants :

Température de chambrage	Lectures sur les thermomètres					
	T4		T3		T2	
	Valeurs moyennes	σ	Valeurs moyennes	σ	Valeurs moyennes	σ
80°	78,2	0,9	74	1,5	63	2,31
76°	74	1,1	70	1,84	60	2,3
72°	70,7	1,5	65,8	1,4	55	2,2
65,5	65,5	1,4	60,8	1,6	52	2,5

Quant aux valeurs fournies par lecture du thermomètre T1, elles présentent un degré de dispersion un peu plus fort, les écarts-types étant de 2° à 3°,3.

La détermination des modalités du refroidissement du lait dans le second échangeur thermique, n'a pas été effectuée d'une façon précise. La circulation d'eau froide dans cet élément a toujours été suffisante pour que le lait soit à une température comprise entre 12° et 18°C à la sortie de l'installation. Il a été vérifié à plusieurs reprises qu'en fait, cette tempéra-



Graphique 75

ture est atteinte par le lait aux 4/5 de son parcours dans l'échangeur thermique. Il est certain, en effet, que le refroidissement du lait est plus rapide que son chauffage étant donné que, dans le premier échangeur thermique, les deux fluides circulent à contre-courant tandis que, dans le second, l'eau froide et le lait sont canalisés en deux courants de même sens.

En résumé, le fonctionnement de l'appareil expérimental utilisé est très comparable à celui d'une installation industrielle de pasteurisation: élévation progressive de la température du lait dans des temps du même ordre de grandeur (17,5 secondes), chauffage du lait sous pression afin d'éviter tout moussage. Il en diffère cependant par les points suivants :

- le diamètre de la canalisation conduisant le lait est supérieur, d'au moins 1 mm, à l'épaisseur de la couche de lait réalisée dans les appareils industriels à plaques (cf. chapitre I);
- la circulation du lait se fait avec des phénomènes de turbulence moindres;
- le refroidissement est beaucoup plus brutal.

Ces trois derniers facteurs peuvent avoir eu une influence sur la valeur des résultats que nous avons obtenus en matière de destruction des bactéries contenues dans le lait, mais il est évident que cette influence ne peut se traduire que par un effet moindre du traitement thermique réalisé dans l'installation expérimentale par rapport à ce qui peut être obtenu avec un appareil industriel.

3 - PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

L'expérimentation relative à chaque espèce microbienne a comporté une ou plusieurs séries d'essais. Pour chacune de ces séries, le volume du lait employé a été de l'ordre de 40 litres (laits de mélange) et ces opérations ont été conduites dans l'ordre suivant :

- réglage du débit de lait dans l'appareil;
- chauffage à des températures décroissantes; pour chaque température, emploi successif de chambreurs de tailles régulièrement décroissantes;
- entre chaque chauffage, lavage des canalisations empruntées par le lait, d'abord par de l'eau javelisée, puis de l'eau et enfin par du lait;
- au cours de chaque chauffage, contrôle des températures indiquées par les thermomètres.

La contamination du lait a été réalisée, sauf exceptions concernant les bacilles tuberculeux, exceptions qui seront mentionnées ultérieurement, de la manière suivante :

100 ml d'une culture en milieu liquide sont mélangés, après incubation de 24 heures à 37°C, à un volume 9 fois supérieur de lait cru. Ce mélange est laissé quelques heures à la température du laboratoire et est ensuite ajouté à 40 litres de lait cru destiné à l'expérience de pasteurisation. Après chaque essai de chauffage, l'échantillon de lait traité d'un volume de 40 ml, a été placé au froid pendant quelques heures. Après ce laps de temps, la mise en évidence des bactéries survivantes au chauffage a été effectuée, soit par ensemencement sur milieu de culture approprié, soit dans certains cas par inoculation à l'animal. Pour la plupart des germes, le reste de l'échantillon a été placé à 37° pendant 24 heures, ceci afin d'obtenir un enrichissement microbien dans le lait lui-même.

EXPÉRIMENTATION RELATIVE A CHAQUE ESPÈCE MICROBIENNE TECHNIQUES ET RÉSULTATS [1]

1 - BACILLE TYPHIQUE (S. TYPHI)

L'expérimentation a comporté trois séries successives d'essais, deux mettant en œuvre les chauffages aux températures comprises entre 82°C et 60°C figurant sur le tableau n° 1, III, et une troisième ne comportant que des chauffages compris entre 72°C et 60°C.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 16°D et 17°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de quatre souches de bacille d'Eberth.
- Origine des souches : Deux souches de collection, deux souches récemment isolées de matières fécales humaines.
- Degré de contamination du lait : de 1.10^6 à $1,5.10^6$ germes/ml (degré de contamination apprécié par ensemencement sur gélose au tergitol 7 additionnée de chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium (2).
- Méthode de recherche des bactéries survivantes :
  - Ensemencement des échantillons de lait frais ou incubés à 37°C pendant 24 heures à raison de :
    - 0,1 ml sur gélose au tergitol 7 et au chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium,
    - 0,5 ml en bouillon lactosé bilié type Mac Conkey ou en bouillon glucosé.
  - Après incubation de 24 heures à 37°C, lecture des résultats de l'ensemencement sur gélose au tergitol 7 et ensemencement sur ce même milieu d'isolement de 0,1 ml de chacune des cultures développées dans les milieux liquides ensemencés la veille.
  - Lecture définitive des résultats après incubation de 24 heures à 37°C, avec, dans certains cas, confirmation de la nature des colonies développées par recherche des caractères biochimiques et immunologiques des germes qui les constituent.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus lors des trois séries d'essais sont rapportés dans le tableau n°1, III. La lecture de ce tableau montre que la méthode de recherche des bactéries survivantes par ensemencement d'échantillons de lait ayant subi une incubation à 37°C, se justifie ainsi que celle, souvent fastidieuse, consistant à ensemencer le lait dans des milieux de culture non sélectifs pour les Salmonelles.

(1) Dans les tableaux rapportant les résultats obtenus ne sont distingués que deux cas : absence totale ou présence de bactéries survivantes (les nombres des bactéries survivantes au chauffage ne sont indiqués que dans le cas des bacilles de Koch). L'expérimentation a souvent comporté plusieurs essais de chauffages identiques pour une même espèce bactérienne; lorsque les ensemencements des différents échantillons provenant d'un de ces essais ont fourni des résultats semblables, il n'est porté qu'un seul signe dans le tableau correspondant (0 ou +); au contraire, dans le cas où ces résultats étaient dissemblables, chacun d'eux est consigné séparément.

(2) Formule correspondant à celle donnée par "Difco Manual".

TABLEAU n°1, III : BACILLE TYPHIQUE

Température de chambrage	Durée de chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
82°	0	0			
80°	0	0			
78°	0	0			
75°5	0	0	0		
72°	0	0	0		
70°	0	0	0	0	
68°	0 + +(2)	0	0	0	
67°	+ +(1) +	0	0	0	0
66°	+	0 0 +(2)	0	0	0
60°	+	+	+	0 + +(2)	0

(1) Pas de culture développée en milieu au sélénite de Leifson, mais culture en bouillon glucosé ou bouillon lactosé bilié.

(2) Culture développée uniquement sur les milieux ensemencés à partir d'échantillons de lait ayant subi une incubation de 24 heures à 37°.

2 - BACILLE PARATYPHIQUE A (SALMONELLA PARATYPHI A)

Deux séries d'essais comportant des chauffages aux températures portées sur le tableau n° 2, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 18°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de deux souches de S. paratyphi A.
- Origine des souches : souches de collection.
- Degré de contamination du lait : dans une série d'essais, le lait contenait environ 5.10^5 germes/ml, dans une seconde série 1.10^5 germes/ml (degré de contamination apprécié par ensemencement sur gélose au tergitol 7 et chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium).
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : même méthode que celle utilisée lors des essais portant sur le bacille d'Eberth, mais le milieu d'isolement a été, soit la gélose au tergitol 7, soit le milieu EMB (Difco).

RÉSULTATS

Ils sont rapportés dans le tableau n°2, III. On peut formuler les mêmes observations, relatives aux valeurs comparées des méthodes employées, que celles indiquées dans le cas du bacille d'Eberth.

TABLEAU n°2, III : BACILLE PARATYPHIQUE A

Température de chambrage	Durée de chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
80°	0	0			
78°	0	0			
75°	0	0			
73°	0	0	0		
71°	0	0	0	0	
68°	0	0	0	0	0
65°	+	0	0	0	0
62°	+	+	0 0 +(2)	0	0
60°	+	+	+	0 +(1)	0 +(1)

(1) Culture en bouillon glucosé et bouillon lactosé bilié. Pas de culture en milieu de Leifson.

(2) Culture développée uniquement sur les milieux ensemencés à partir d'échantillons de lait incubés 24 heures à 37°.

3 - BACILLE PARATYPHIQUE B (SALMONELLA PARATYPHI B)

Deux séries d'essais comportant des chauffages aux températures portées sur le tableau n° 3, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 18°D.

- Contamination des laits par un mélange à parties égales de trois souches de S. paratyphi B.

- Origine des souches : deux souches récemment isolées, l'une de matières fécales humaines, l'autre d'un liquide céphalo-rachidien (cas de méningite chez un nourrisson) et d'une souche de collection.

- Degré de contamination du lait : environ 1.10^6 germes/ml (résultats fournis par dénombrement sur gélose au tergitol 7 et chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium).

- Méthode de recherche des bactéries survivantes : même méthode que celle utilisée dans le cas de S. Paratyphi A.

RÉSULTATS

Ils sont rapportés dans le tableau n° 3, III.

TABLEAU n°3, III : BACILLE PARATYPHIQUE B

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
81,5°	0	0			
78°	0	0			
76°	0	0			
72,5°	0	0			
68°	0	0	0		
66,5°	0	0	0	0	
65°	0	0	0	0	0
64°	0 +(2)	0	0	0	0
61°	+	+	+ +(2)	0 +(1) et (2)	0

(1) Idem tableau n°1, III
(2) Idem tableau n°1, III.

4 - BACILLE PARATYPHIQUE C (SALMONELLA PARATYPHI C)

Deux séries d'essais comportant des chauffages aux températures portées sur le tableau n° 4, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 16°D et 18°D.

- Contamination du lait par un mélange à parties égales de deux souches de S. paratyphi C.

- Origine des souches : une souche de collection, une souche isolée de matières fécales.

- Degré de contamination du lait : environ $1,5.10^6$ germes/ml (résultats fournis par dénombrement sur gélose au tergitol 7 et chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium).

- Méthode de recherche des bactéries survivantes : même méthode que celle utilisée dans le cas de S. paratyphi A.

RÉSULTATS

Ils sont rapportés dans le tableau n° 4, III.

TABLEAU n°4, III : BACILLE PARATYPHIQUE C

Température de chambrage	Durée de chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
75°	0	0			
72°	0	0	0		
70°	0	0	0		
67°	0	0	0	0	
65°	0 +	0	0	0	0
63°	+	+	+ +(2)	0	0

(2) Idem tableau n° 1, III.

5 - BRUCELLA MELITENSIS

L'expérimentation a comporté trois séries d'essais au cours desquels les chambrages ont été effectués aux températures indiquées sur le tableau n°5, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 16°D et 17°D.

- Contamination du lait par un mélange à parties égales de trois souches de Brucella Melitensis (mêmes souches que celles utilisées dans l'expérimentation faite en laboratoire, voir page 27).

- Origine des souches : souches de collection.

- Degré de contamination du lait : environ 2.10^5 germes/ml lors de deux séries d'essais, et 5.10^4 germes/ml lors de la troisième série (résultats fournis par dénombrement après ensemencement sur des milieux solides dont les formules sont indiquées ci-après). Les souches utilisées étaient âgées de 5 jours.

- Méthode de recherche des bactéries survivantes : La recherche des germes survivant au chauffage a été faite uniquement sur des échantillons frais conservés quelques heures au froid après l'épreuve de chauffage. Elle a été effectuée soit sur l'échantillon de lait, soit sur une dilution de celui-ci en eau physiologique, soit pour certains chauffages - et ceci afin de pouvoir vérifier l'absence de germes revivifiables dans 10 ml de lait - sur le culot de centrifugation et la crème d'un tel volume de l'échantillon.

Nous avons procédé à la recherche des bactéries survivantes par ensemencement d'un volume de 0,1 ml de lait sur des milieux sélectifs, soit le milieu préconisé par CARRERE, ROUX et SUIRE (13) - gélose glycérinée additionnée de Sunoxol, d'éosine, de nystatine, de polymyxine B et de bacitracine - soit sur un milieu que nous avons mis au point (1).

L'ensemencement sur le milieu de CARRERE et Coll. nous a fréquemment fourni des résultats de lecture très difficile, voire impossible, du fait du développement, en particulier, de colonies envahissantes de Bacillus. Par contre, sur le second milieu, après 5 jours d'incubation à 37°C, outre les brucelles, ne se sont développés à partir des inoculums de laits, que des germes appartenant au genre Klebsiella et, en aucun cas, des bactéries à Gram positif. Il semble même que toutes les variétés de Klebsiella ne soient pas aptes à cultiver sur ce milieu; de toute façon, la présence des colonies de ces germes n'a, en aucun cas, empêché la lecture des résultats.

La valeur de notre milieu pour l'isolement des brucelles a été préalablement jugée en s'en servant concurremment avec une gélose glycérinée ou une gélose à la macération de foie pour procéder à des dénombrements par ensemencement de dilutions successives d'émulsion de Brucelles. Nous avons pu ainsi mettre en évidence l'absence totale d'activité bactériostatique du mélange tyrothricine-spiramycine, aux doses utilisées dans le milieu d'isolement, vis-à-vis des brucelles.

L'inoculum de lait, de crème ou du culot de centrifugation a été de 0,1 ml pour chaque échantillon; l'incubation à 37°C d'au moins 5 jours (2).

RÉSULTATS

Ils sont présentés dans le tableau n° 5, III.

TABLEAU n° 5, III : BRUCELLA MELITENSIS

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
78°	0	0	0		
75°5	0	0	0		
72°	0 0 +	0	0	0	
70°5	+	0	0	0	0
69°(1)	+	+	0	0	0
68°	+	+	+	+	0

(1) Un seul essai effectué à cette température.

(1) La formule de préparation de ce milieu est la suivante : Préparer 500 grammes de macération de foie de bœuf (450 gr de foie + 500 gr d'eau distillée; porter 24 heures à 37°C; filtrer); y ajouter 10 gr de bacto-peptone Difco, 5 gr NaCl, 500 ml d'eau distillée, 20 gr d'agar. Ajuster le pH à 7,2. Répartir. Stériliser à 110°C, 30 minutes. Avant l'emploi, ajouter à 25 ml de ce milieu de base en surfusion :
- Tyrothricine base (en solution alcoolique 10°) : 1 mg 250
- Spiramycine base (en solution alcoolique 10°) : 1 mg 250.

(2) Nous avons procédé à des essais d'ensemencement du lait dans un milieu liquide (bouillon nutritif à la macération de foie, additionné de 50 γ et 100 γ par ml de tyrothricine et de spiramycine), afin d'essayer d'obtenir un enrichissement en brucelles. En fait, si la multiplication de ces germes a lieu dans ce milieu, par contre s'y développent aussi des Klebsiella, beaucoup plus facilement que sur le milieu solide contenant les mêmes quantités d'antibiotiques, ce qui fait perdre tout intérêt à cette manipulation.

6 - BACILLE DE BANG (BRUCELLA ABORTUS BOVIS)

L'expérimentation a comporté trois séries d'essais au cours desquels les chambrages ont été effectués aux températures indiquées sur le tableau n° 5, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 16°D, 17°D et 18°D.
- Contamination du lait par un mélange de deux souches à parties égales (mêmes souches que celles utilisées dans l'expérimentation faite au laboratoire, voir page 27).
- Origine des souches : souches de collection.
- Degré de contamination du lait : environ 2.10^5 germes/ml (résultats fournis par dénombrement après ensemencement sur les milieux solides utilisés pour Brucella Melitensis).
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : cette méthode a été en tous points semblable à celle utilisée pour l'expérimentation sur Brucella Melitensis. La lecture des résultats des ensemencements a été effectuée après 5 jours d'incubation à 37°C sous atmosphère contenant 10% de CO^2.

RÉSULTATS

Ils sont précisés dans le tableau n° 6, III.

TABLEAU n° 6, III : BACILLE DE BANG

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
78°	0				
76°	0	0	0		
72°	0	0		0	
70°	+	0	0	0	
68°	+	+	0	0	
	0	+			
	+	+			
65°	+	+	+	+	+

7 - BACILLE TUBERCULEUX HUMAIN (MYC. TUBERCULOSIS VAR. HOMINIS)

Les essais de chauffage ont été effectués sur des laits contaminés, les uns par des suspensions de bacilles provenant de cultures, d'autres par des broyats de produits pathologiques.

a) Laits contaminés par des cultures de bacilles

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

L'expérimentation a comporté deux séries d'essais, utilisant des laits crus entiers titrant 16°D et 17°D et mettant en œuvre les chauffages figurant au tableau n° 7, III.

- Contamination du lait par un mélange à parties égales de sept souches de bacille de Koch. Cette contamination a été réalisée de la manière suivante : 12 heures avant l'expérience, un litre de lait cru a été additionné d'une émulsion en eau physiologique de cultures développées sur milieux de Löwenstein-Jensen et âgées de vingt jours; les émulsions titraient environ 6 mg de bacilles par ml. Après contamination, le lait a été placé à une température voisine de 18°C; il a été mélangé, immédiatement avant l'essai de pasteurisation aux 40 litres de lait cru, nécessaires à l'expérience. Dans ces conditions, la teneur en bacilles de Koch viables du lait soumis au chauffage était comprise entre 2.10^4 et 1.10^4 germes/ml (valeurs numériques obtenues par ensemencement de dilutions successives sur milieu de Löwenstein-Jensen, après traitement de purification par le procédé à la soude à 4 %).
- Origine des souches : Six souches récemment isolées de crachats ou de liquides de tubage et une souche de collection (Brévannes). La virulence de ces souches pour le cobaye a été vérifiée.
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : Les échantillons de laits (40 ml) prélevés à la sortie de l'appareil de pasteurisation ont été centrifugés et ont servi, par parties égales, pour les ensemencements et les inoculations aux cobayes. Seule la fraction destinée à la mise en culture a subi un traitement de purification par la soude. L'ensemencement a été effectué sur milieux de Löwenstein-Jensen et sur gélose à l'œuf de Peizer (1), à raison de 0,5 ml par tube.

Les inoculations aux cobayes ont été faites par voie sous-cutanée en utilisant deux animaux pour chaque échantillon de lait.

RÉSULTATS

a) Les résultats obtenus par ensemencement sont rapportés dans le tableau n°7, III. Les nombres figurant dans ce tableau sont ceux des colonies développées à partir de chaque échantillon sur l'ensemble des milieux de culture ensemencés et conservés à l'étuve à 37°C pendant trois mois et le nombre de colonies développées dans les tubes témoins ensemencés avec une dilution au 1/500 de lait non chauffé (dilution par effet du traitement à la soude comprise) :

- essai n° 1 : 23-30 - 16 - 14 - 21 - 9 - 31 - 17; soit en moyenne 20 colonies;
- essai n° 2 : 4 - 12 - 11 - 9 - 15 - 7 - 17 - 5 - 10; soit en moyenne 10 colonies.

(1) "Peizer TB Medium" Difco.

TABLEAU n° 7, III : BACILLE TUBERCULEUX HUMAIN

N° de l'essai	Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
		2"	5"	10"	20"	30"
1 et 2	78°5	0	0	0		
1 et 2	74°5	0	0	0	0	
1 et 2	72°	0	0	0	0	
1 et 2	70°	0	0	0	0	
1	69°	2	0	0	0	0
1	68°	0	0	0	0	0
2		3	0	0	0	0
1	65°		43	11	4	0
2			21	5	5	0

b) Les résultats obtenus par inoculation à l'animal figurent sur le tableau n°8, III. Sur ce tableau, le signe 0 correspond à une survie des animaux supérieure à 3 mois, et à l'absence de réaction tuberculinique positive pendant cette période, le signe + à un développement d'affection tuberculeuse; le nombre qui suit le signe + correspond au nombre de jours compris entre la date de l'inoculation et celle de la mort de l'animal.

TABLEAU n° 8, III : BACILLE TUBERCULEUX HUMAIN

N° de l'essai	Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
		2"	5"	10"	20"	30"
1 et 2	74°5	0	0			
1 et 2	72°	0	0			
1 et 2	70°	0	0	0		
1	68°	0		0		
1	65°		+70 +90	+91	+97 +108	0
2			+88		+113	0

3 cobayes témoins inoculés avec des échantillons de laits non chauffés sont morts en 66 et 73 jours (essai n°1) et 81 jours (essai n° 2).

b) Laits contaminés par un broyat de produits pathologiques

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

L'expérimentation a comporté un essai utilisant 30 litres de lait cru titrant 17°D et contaminés par environ 30 ml d'expectorations humaines riches en bacilles de Koch, provenant de dix malades différents; cette contamination, à en juger par le nombre de colonies développées sur milieu de Löwenstein-Jensen après ensemencement, était de l'ordre de 10 germes/ml.

Les échantillons de lait prélevés après chauffage ont été centrifugés. Les culots et la crème ont servi pour moitié, après traitement par la soude, à des cultures sur milieu de Löwenstein-Jensen et gélose de Peizer, et pour moitié, à des inoculations par voie sous-cutanée au cobaye. Il est à noter que la contamination du lait étant relativement faible, les échantillons sur lesquels ont porté les examens étaient deux fois plus volumineux que ceux couramment utilisés.

RÉSULTATS

a) Les résultats des ensemencements sont rapportés dans le tableau n°9, III, les nombres qui y figurent correspondent au nombre de colonies de bacille de Koch développées après trois mois d'inoculation à 37°, sur l'ensemble des milieux ensemencés avec chaque échantillon de lait.

b) Les inoculations à l'animal ont fourni les résultats consignés dans le tableau n° 10, III (les annotations portées ont les mêmes significations que celles relatives au tableau n° 9, III).

TABLEAU n° 9, III : BACILLE TUBERCULEUX HUMAIN

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
74°	0	0			
72°	0	0			
69°	0	0	0	0	
67°	15	0	0	0	
64°	57	73	26	7	0

Institut National d'Études Démographiques
BIBLIOTHÈQUE
23-25, Av^e Franklin Roosevelt
PARIS

TABLEAU n°10, III : BACILLE TUBERCULEUX HUMAIN

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
72°	0				
69°	0	0			
67°	+84	0	0		
64°	+91		+110 +129	+139	0
Deux animaux témoins inoculés avec le lait pollué non chauffé sont morts en 69 et 86 jours.					

8 - BACILLE TUBERCULEUX BOVIN (MYC. TUBERCULOSIS BOVIS)

a) Laits contaminés par des cultures de bacilles

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

L'expérimentation a comporté deux séries d'essais utilisant des laits crus entiers titrant 17°D et 19°D et mettant en œuvre les chauffages figurant sur le tableau n° 11, III.

Le protocole expérimental a été, en tous points, semblable au point de vue des manipulations, à celui exposé dans le chapitre relatif au bacille de Koch humain.

- La contamination du lait a été réalisée par un mélange, à parties égales, de suspensions microbiennes en eau physiologique effectuées à partir de cultures sur milieu solide de neuf souches de bacille de Koch virulentes pour le cobaye. 7 de ces souches étaient très récemment isolées, l'une d'un lait cru, une seconde de lésions méningées de bovin, les cinq autres de lésions ganglionnaires de bovins; les deux autres souches avaient été isolées quatre ans au préalable de lésions de tuberculose ovine.

- Degré de contamination : environ $3,5.10^4$ germes/ml.

RÉSULTATS

Ils sont consignés dans le tableau n° 11, III, sur lequel sont portés les nombres de colonies de Myc. Tuberculosis développées après ensemencement de chaque échantillon (les tubes ensemencés ont été laissés quatre mois à 37°).

Les résultats des inoculations sont consignés dans le tableau n°12, III (les signes 0 et + et les nombres figurant sur ce tableau ont les mêmes significations que ceux du tableau n° 9, III).

TABLEAU n° 11, III : BACILLE TUBERCULEUX BOVIN

N° de l'essai	Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
		2"	5"	10"	20"	30"
1 et 2	78°	0	0	0		
1 et 2	75°/74°5	0	0	0		
1 et 2	72°	0	0	0		
1 et 2	70°/69°8		0	0	0	0
1	65°		53	13	0	0
2	64°5		31	3	0	0

TABLEAU n° 12, III : BACILLE TUBERCULEUX BOVIN

N° de l'essai	Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
		2"	5"	10"	20"	30"
1 et 2	78°	0				
1 et 2	75°/74°8	0	0			
1 et 2	72°	0	0	0		
1 et 2	70°/69°8		0	0	0	
1	65°		+81 +93	+110 + (1)	0	0
2	64°5		+102	+91 +107	+111	0
Les animaux témoins inoculés avec les échantillons non chauffés sont morts en 51, 62 et 91 jours.						
(1) L'animal sacrifié au 120ème jour présentait une adénite précrurale (près du point d'inoculation), minime, calcifiée, mais aucune autre lésion.						

b) Laits contaminés par des broyats de produits pathologiques

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Une série d'essais a été effectuée en utilisant des laits crus, titrant 18°D, contaminés par une suspension en eau physiologique de broyats de lésions tuberculeuses de bovins. Quatre lésions provenant de quatre animaux différents ont été utilisées : deux lésions ganglionnaires caséeuses et deux lésions pulmonaires, dont une présentait des zones purulentes.

Le protocole expérimental a été le même que celui adopté pour le bacille de Koch humain.

Le degré de contamination, à en juger par le nombre de colonies développées sur milieu de Löwenstein-Jensen par ensemencement d'un échantillon non chauffé, était de l'ordre de 20 à 30 bacilles viables au ml.

RÉSULTATS

a) Les résultats des ensemencements sont rapportés sur le tableau n°13, III. (Ils sont exprimés en nombre de colonies développées après ensemencement de chaque échantillon de lait; les résultats définitifs ont été notés après quatre mois d'incubation à 37°).

TABLEAU n° 13, III : BACILLE TUBERCULEUX BOVIN

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
75°	0	0			
73°	0	0	0		
70°	0	0	0	0	
68°	3	0	0	0	
64°	124	115	47	6	0

b) Résultats des inoculations : ils figurent sur le tableau n° 14, III, avec le même système d'annotations que celui du tableau n° 12, III.

TABLEAU n° 14, III : BACILLE TUBERCULEUX BOVIN

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
75°	0				
73°	0	0	0		
70°		0	0	0	
64°		+95 +109	+104 + (1)	+ (2)	0

Deux animaux témoins sont morts de tuberculose en 75 et 90 jours.

(1) Animal sacrifié au 120ème jour, ayant présenté une intradermo-réaction à la tuberculine positive; à l'autopsie, les lésions relevées de nature tuberculeuse étaient très minimes intéressant les ganglions précruraux.

(2) Animal ayant présenté une intra-dermo-réaction positive à la tuberculine et qui a été sacrifié au 120ème jour. A l'autopsie, aucune lésion n'a été relevée, à l'exception de traces de calcification dans le tissu conjonctif sous-cutané au niveau du point d'inoculation.

9 - STAPHYLOCOQUES PATHOGÈNES

Deux séries d'essais ont été effectuées, comportant les chauffages aux températures portées sur le tableau n°15, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur les laits crus titrant 16°D et 17°D.

- Contamination du lait par un mélange à parties égales de 6 souches de Staphylocoques (toutes présentant les deux caractères positifs suivants : fermentation de la mannite - coagulation du plasma).

- Origine des souches : matières fécales de bovins - fœtus de truie - pyélonéphrite humaine - prélèvement de gorge - prélèvement nasal.

- Degré de contamination du lait: environ 9.10^5 germes/ml, cette valeur correspondant à un dénombrement des germes effectué par ensemencement et culture sur gélose hypersalée mannitée de Chapman.. La culture sur ce milieu ne permet de relever que les 2/3 environ des Staphylocoques viables, cultivables en gélose nutritive, comme nous l'avons vérifié.

- Méthode de recherche des bactéries survivantes : Ensemencement des échantillons de lait cru en milieu liquide hypersalé de Chapman - le milieu étant préparé de telle sorte qu'après inoculation de 1 ml de lait dans 9 ml, la concentration finale en chlorure de sodium soit de 75‰. Incubation : 48 heures à 37°C. Après cette incubation, l'isolement est pratiqué sur milieu gélosé de Chapman à partir de toutes les cultures développées en milieu liquide et ayant provoqué une acidification. Certains microcoques rencontrés

dans le lait cultivent sur milieu hypersalé et font fermenter la mannite; aussi, dans les cas où les caractères morphologiques des colonies étaient insuffisants pour faire le diagnostic du germe, la recherche de la staphylocoagulase a été pratiquée.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus dans les deux séries d'essais sont rapportés dans le tableau n° 15, III.

TABLEAU n° 15, III : STAPHYLOCOQUES PATHOGÈNES

Température de chambrage	Durée de chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
80°	0	0			
75°	0	0			
73°	0	0			
70°	0	0	0	0	
67°	+	0 +	0	0	0
64°	+	+ 0	0	0	0

10 - STREPTOCOQUES PYOGÈNES (STREPTOCOCCUS PYOGENES)

L'expérimentation a comporté deux séries d'essais mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant sur le tableau n°16, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 16°D et 17°D.

- Contamination du lait par un mélange à parties égales de 5 souches de streptocoques, toutes β hémolytiques :

  - 3 appartenant au groupe A de Lancefield et provenant de prélèvement de gorge.
  - 2 autres étant des souches dont le groupe de Lancefield n'a pas été déterminé, provenant d'abcès de veau.

- Degré de contamination : de l'ordre de 1.10^6 germes/ml (valeur déterminée par ensemencement sur les milieux utilisés pour la recherche des bactéries survivantes).

- Méthode de recherche des bactéries survivantes : ensemencement de 0,1 ml de l'échantillon frais sur :

  - une gélose additionnée de sérum, de tellurite de potassium à 0,0004% et d'azoture de sodium à 0,25
  - un milieu gélosé (préconisé par LAFONT (9)) additionné de tellurite de potassium à 0,004 %.

Incubation 24 heures à 37°C.

La simple lecture des cultures développées sur ces milieux sur lesquels cultivent électivement les streptococcaceae, permet d'apprécier les variations globales du nombre de bactéries survivantes au cours de chauffages progressifs. Pour les cultures ne semblant constituées que de streptococcaceae provenant des laits crus utilisés lors des essais, l'appartenance d'un certain nombre de colonies au groupe D de Lancefield a été recherchée par les caractères propres à ces germes, entre autres leur survie après chauffage à 60° pendant 30 minutes. Dans ces conditions, les résultats que nous mentionnerons correspondent, non seulement à la flore microbienne de contamination artificielle, mais encore à l'ensemble des streptococcaceae pouvant être contenus dans le lait et qui ne sont ni des entérocoques ni des streptocoques lactiques.

RÉSULTATS

Ils sont mentionnés sur le tableau n° 16, III.

TABLEAU n° 16, III : STREPTOCOQUES PYOGÈNES

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
75°	0	0			
72°	0	0			
70°	0	0	0		
69°	+	0	0		
67°	+	0	0		
63°	+	+	+	+	0

11 - ENTÉROCOQUE (STREPTOCOCCUS GROUPE D DE LANCEFIELD)

Deux séries d'essais ont été effectuées, comportant les chauffages aux températures portées sur le tableau n°17, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 17°D et 18°D.

- Contamination du lait par un mélange à parties égales de 9 souches d'entérocoques.

- Origine: 4 souches provenant de matières fécales de bovins, 2 souches de matières fécales humaines, 2 de pus de pyélonéphrite humaine et une isolée d'un produit de charcuterie.

- Degré de contamination du lait : environ 1.10^6 germes/ml. (Cette valeur correspondant à un dénombrement des germes effectué par ensemencement de dilutions successives en milieu de Perry et Hajna). Le nombre réel des germes revivifiables, dénombrables par ensemencement sur gélose nutritive, était environ 1,5 fois plus élevé.

- Méthode de recherche des bactéries survivantes : Ensemencement de 0,5 ml de lait, dans 8 ml de milieu de Ferry et Hajna. La validité des résultats a été confirmée par isolement des germes à partir de certaines cultures développées dans ce milieu et recherche des caractères typiques des entérocoques.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus lors des deux séries d'essais sont rapportés dans le tableau n° 17, III.

TABLEAU n° 17, III : ENTÉROCOQUE

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes					
	2"	5"	10"	20"	30"	60"
90°5	0	0				
88°	0	0	0			
85°3	0 +(1)	0	0			
83°	0 +(1)	0	0			
80°	0 +	0	0	0		
76°	+	+	+	0	0	0
72°		+	+	+	+	+
68°				+	+	+

(1) Culture développée uniquement à partir d'échantillons de lait ayant subi une incubation de 24 heures à 37°C.

12 - BACILLE DIPHTÉRIQUE (CORYNEBACTERIUM DIPHTERIÆ)

L'expérimentation a comporté deux séries d'essais mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant sur le tableau n°18, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 16°D et 17°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de deux souches de corynebacterium diphteriae.
- Origine des souches : deux souches récemment isolées d'angines.
- Degré de contamination du lait : environ de 3 à 5.10^5 germes/ml.
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : Cette recherche a été pratiquée par ensemencement de 0,5 ml de chaque échantillon frais. Après incubation de 24 heures à 37° en bouillon glucosé tamponné additionné de tellurite de potassium à 1/2 500, il a été procédé, à partir des cultures développées, à des isolements sur le même milieu gélosé. Les résultats

obtenus par cette méthode d'isolement n'ont pas toujours été d'interprétation très facile du fait du développement sur les milieux utilisés de cocci à Gram positif. Ces résultats ont cependant permis de mettre en évidence que le chauffage le plus élevé supporté par Corynebacterium diphteriae était de 60° pendant 10" ; à 65°, le germe est détruit même pour un chambrage de 2".

RÉSULTATS

Ils sont consignés sur le tableau n° 18, III.

TABLEAU n° 18, III : BACILLE DIPHTÉRIQUE

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes		
	2"	5"	10"
72°	0	0	0
68°	0	0	0
65°	0	0	0
60°	+	+	0 +

13 - COLIBACILLE (ESCHERICHIA COLI)

L'expérimentation a comporté deux séries d'essais mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant au tableau n° 19, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 17°D et 19°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de onze souches de colibacille.
- Origine des souches: 3 souches isolées de matières fécales de bovins - 1 souche de matières fécales humaines, 3 souches d'urines pathologiques humaines, 3 souches de laits crus, 1 souche provenant d'hémoculture.
- Degré de contamination du lait : environ $1,2.10^6$ germes/ml. (Degré de pollution estimé par dénombrement de dilutions successives sur gélose au Tergitol 7 et au chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium). Le dénombrement microbien par cette méthode fournit des valeurs numériques légèrement inférieures à celles obtenues par ensemencement en gélose nutritive.
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : ensemencement de 0,5 ml d'échantillon frais et 0,5 ml d'échantillon ayant subi une incubation de 24 heures à 37°C en bouillon lactosé bilié (1).

(1) Bouillon lactosé bilié :

- Peptone trypsique.....	10 gr
- Lactose	10 gr
- Bile desséchée	20 gr
- Vert brillant (solution à 1/1 000)	1 ml,3
- Rouge de phénol.....	0 gr,025
- Eau distillée	1 000 ml

Ajuster à pH 7,4.
Répartir en tube de Durham.
Stérilisation 112°C pendant 30 minutes.

- Incubation à 37°C pendant 24 heures.

- Ensemencement d'une goutte de liquide sur milieu au tergitol 7 à partir de toutes les cultures en milieu lactosé bilié présentant une fermentation du lactose.

RÉSULTATS

Ils sont rapportés dans le tableau n°19, III. Il est à noter qu'il n'y a pas eu d'enrichissement du lait en colibacilles par étuvage des échantillons à 37°.

TABLEAU n° 19, III : COLIBACILLE

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes					
	2"	5"	10"	20"	30"	60"
80°	0	0				
75°	0	0	0			
73°	0	0	0			
72°(1)	0	0	0	0		
70°	0	0	0	0		
69°(1)	+	0	0	0		
67°	+	+	0 +	0	0	
65°	+	+	+	+	+	0
(1) Un seul essai a été effectué à cette température						

14 - COLIBACILLES PATHOGÈNES (VARIÉTÉS 0 111 B 5, 055 B 5, 026 B 6)

L'expérimentation a comporté pour chaque variété un essai mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant au tableau n°20, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 18°D.

- Contamination du lait : pour chaque variété, les essais ont porté sur un lait contaminé par une émulsion d'une seule souche microbienne. Cette contamination a été, dans chaque cas, de l'ordre de 1.10^6 germes/ml. (Appréciation par dénombrement sur les milieux d'isolement utilisés pour la recherche des bactéries survivantes).

- Origine des souches : les trois souches employées étaient des souches de collection.

- Méthode de recherche des bactéries survivantes : méthodes identiques à celles décrites pour les autres colibacilles; les isolements à partir des cultures développées en bouillon lactosé bilié ont été pratiqués soit sur gélose au tergitol, soit sur gélose EMB Difco.

Les colonies typiques développées sur ces milieux solides ont été reprises sur gélose nutritive et l'appartenance des germes aux trois variétés sérologiques étudiées a été recherchée par agglutination.

RÉSULTATS

Ils sont consignés dans le tableau n°20, III. La lecture de ce tableau montre que les destructions des trois types de colibacille sont obtenues pour des chauffages voisins les uns des autres; cependant, la souche 0 111 B 4 paraît un peu plus sensible, ce que nous avions déjà constaté (voir page 60).

TABLEAU n° 20, III : COLIBACILLES PATHOGÈNES

Variétés de Colibacilles	Température de chambrage	Durée de chambrage en secondes				
		2"	5"	10"	20"	30"
Les trois : 0 111 B 4, 0 55 B 5, 0 26 B 6	80°	0	0			
	77°	0	0	0		
	75°	0	0	0		
0 111 B 4	71°5	0	0	0	0	
0 55 B 5		+	0	0	0	
0 26 B 6		+	0	0	0	
0 111 B 4	70°	+	+	0	0	
0 55 B 5		+	+	0	0	
0 26 B 6		+	+	0	0	
0 111 B 4	67°	+	+	+	0	0
0 55 B 5		+	+	+	0	0
0 26 B 6		+	+	+	0	0

15 - PARACOLI AEROGENES

L'expérimentation a comporté un essai mettant en œuvre des chauffages aux températures figurant sur le tableau n° 21, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essai effectué sur un lait cru titrant 18°D.

- Contamination du lait par un mélange à parties égales de deux souches.

- Origine des souches : une souche isolée de matières fécales de bovin et une souche isolée d'un pus de pyélonéphrite humaine.

- Degré de contamination : environ $1,2.10$ germes/ml^6 (apprécié par ensemencement sur les milieux d'isolement utilisés pour la recherche des bactéries survivantes).

- Méthode de recherche des bactéries survivantes :
  - Ensemencement de 0,5 ml de chaque échantillon en bouillon glucosé bilié, additionné de vert brillant - même formule que le bouillon lactosé bilié (voir page 107), mais le lactose est remplacé par du glucose - et réparti en tubes de Durham, et de 0,1 ml sur gélose au Tergitol 7 et au chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium.
  - Incubation pendant 24 heures à 37°C.
  - A partir des tubes de bouillon glucosé dans lesquels une culture s'était développée avec production de gaz, on a pratiqué un isolement sur milieux solides (gélose EMB ou gélose au tergitol 7).
  - Identification, par procédés biochimiques, des colonies développées sur ces milieux.

RÉSULTATS

Ils sont consignés sur le tableau n° 21, III.

TABLEAU n° 21, III : PARACOLI AEROGENES

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
81°	0	0			
76°	0	0	0		
72°	0	0	0	0	
70°	+(1)	0	0	0	
68°	+	+	+(2)	0	0
68°		+	+	+	+

(1) Bactéries isolées uniquement sur un échantillon de lait incubé à 37°C pendant 24 heures.
(2) Développement d'une culture de paracoli aerogenes en bouillon glucosé bilié, mais pas sur gélose au tergitol 7.

16 - PARACOLI ANAEROGENES

L'expérimentation a comporté un essai mettant en œuvre des chauffages aux températures figurant sur le tableau n° 22, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essai effectué sur un lait cru titrant 18°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de trois souches.
- Origine des souches : deux souches isolées de matières fécales bovines, la troisième d'une urine humaine.
- Degré de contamination du lait : environ $1,2.10^6$ germes/ml (apprécié par ensemencement sur les milieux d'isolement pour la recherche des bactéries survivantes).
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : Ensemencement des échantillons suivant les mêmes modalités et sur les mêmes milieux que lors de l'essai portant sur les paracoli aerogenes. Toute culture développée en bouillon glucosé bilié a été réensemencée sur milieu solide d'isolement.

RÉSULTATS

Ils sont consignés dans le tableau n° 22, III.

TABLEAU n° 22, III : PARACOLI ANAEROGENES

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
76°	0	0			
72°	0	0	0		
70°	+	0	0		
68°	+	+	0	0	0
65°	+	+	+	0	0

17 - ARIZONA

L'expérimentation a comporté une série d'essais mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant sur le tableau n° 23, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 17°D.
- Contamination du lait : une souche de paracoli Arizona isolée d'une vésicule biliaire de porc.
- Degré de contamination du lait : environ $1,2.10^6$ germes/ml (apprécié par ensemencement sur les milieux d'isolement pour la recherche des bactéries survivantes).
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : mêmes méthodes que celles utilisées lors des essais portant sur paracoli anaerogenes.

RÉSULTATS

Ils sont consignés dans le tableau n° 23, III.

TABLEAU n° 23, III : PARACOLI ARIZONA

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
78°	0	0			
75°	0	0			
72°	0	0	0		
70°	0	0	0		
68°	+	0	0	0	0
65	+	+	+(1)	0	0

(1) Bactéries isolées seulement à partir de l'échantillon de lait incubé pendant 24 heures à 37°.

18 - PROVIDENCIA (29.911)

L'expérimentation a comporté une série d'essais mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant sur le tableau n° 24, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur un lait cru titrant 17°D.
- Contamination du lait par une souche provenant d'une vésicule biliaire de bovin.
- Degré de contamination : environ 1.10^6 germes/ml.
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : Ensemencement des échantillons suivant les mêmes méthodes que celles employées pour bacille Arizona.

RÉSULTATS

Ils sont consignés sur le tableau n° 24, III.

TABLEAU n° 24, III : PROVIDENCIA

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
76°	0	0			
72°	0	0	0		
70°	+(1)	0	0		
67°	+	+	0	0	
65°	+	+	+	0	0
62°		+	+	+	+

(1) Bactéries isolées seulement de l'échantillon de lait incubé pendant 24 heures à 37°C.

19 - KLEBSIELLA AEROGENES

L'expérimentation a comporté une série d'essais mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant sur le tableau n° 25, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur un lait cru titrant 18°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de quatre souches.
- Origine des souches : deux souches isolées du lait et deux souches de matières fécales de bovin.
- Degré de contamination : $1,5.10^6$ germes/ml.

- Méthode de recherche des bactéries survivantes :
  - Ensemencement des échantillons de lait cru en bouillon lactosé bilié (voir page 105) en tube de Durham, à raison de 0,5 ml par tube, et sur milieu au tergitol 7 à raison de 0,1 ml.
  - Incubation de 24 heures à 37°C.
  - Isolement sur gélose au tergitol effectué à partir des cultures développées en bouillon lactosé présentant une fermentation du glucose avec production de gaz.

RÉSULTATS

Ils sont consignés dans le tableau n° 25, III.

TABLEAU n° 25, III : KLEBSIELLA AEROGENES

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
78°	0	0	0		
75°	0	0	0		
72°5	+	+(1)	0	0	
70°	+	+	+	0	0
68°		+	+	+	0

(1) Bactéries isolées seulement à partir de l'échantillon de lait incubé 24 heures à 37 °C.

20 - PNEUMOBACILLE DE FRIEDLÄNDER (KLEBSIELLA PNEUMONIÆ)

L'expérimentation a comporté deux séries d'essais mettant en œuvre des chauffages aux températures figurant sur le tableau n° 26, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur deux laits crus titrant 16°D et 18°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de trois souches de pneumobacille de Friedländer.
- Origine des souches : une souche de collection et deux souches récemment isolées, l'une d'une expectoration humaine, l'autre d'un lait provenant d'une vache atteinte de mammite.
- Degré de contamination du lait : environ 8.10^5 germes/ml, à en juger par ensemencement de dilutions successives sur milieu au tergitol 7. En fait, le nombre de germes viables capables de cultiver sur gélose nutritive est plus élevé, de l'ordre de 1.10^6 à $1,2.10^6$ germes/ml.
- Méthode de recherche des bactéries survivantes : la méthode de recherche a été celle utilisée pour l'expérimentation sur Klebsiella aerogenes.

RÉSULTATS

L'interprétation des résultats fournis par les ensemencements a souvent été difficile du fait de la présence de certaines Klebsiellae aerogenes dans le lait cru utilisé. La pollution artificielle du lait ayant été très forte il a cependant été possible d'apprécier d'une façon globale la destruction par la chaleur du bacille de Friedländer. Sont figurés dans le tableau n°26, III, les résultats qui, de ce fait, peuvent peut-être dans certains cas indiquer des thermo-résistances supérieures à la réalité.

TABLEAU n° 26, III : KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
75°	0	0			
72°5	0	0	0		
70°	0	0	0	0	
68°2	+	0	0	0	
67°	+	0	0	0	
65°	+	+	+	0	0

21 - PROTEUS

L'expérimentation a comporté deux séries d'essais mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant sur le tableau n° 27, III.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 17°D et 19°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de sept souches de Proteus.
- Origine des souches :
  - 4 souches de Proteus mirabilis (3 provenant de sols d'étables, 1 d'un cas de pyélonéphrite humaine)
  - 3 souches de Proteus vulgaris (2 provenant d'abcès de veau et 1 d'un cas de pyélonéphrite humaine).
- Degré de contamination du lait : environ $1,5.10^6$ germes/ml.
- Méthode de recherche des bactéries survivantes :
  - Ensemencement de 0,1 ml de lait sur gélose au tergitol 7 et au chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium, et de 0,5 ml de lait en bouillon glucosé avec papier imprégné au sous-acétate de plomb.
  - Incubation de 24 heures à 37°C.
  - Après cette incubation ; isolement sur gélose au tergitol 7 à partir des tubes de bouillon présentant une culture sulfhydrogène et correspondant pour chaque température aux chauffages les plus longs, ainsi qu'à partir des tubes correspondant aux chauffages immédiatement supérieurs aux précédents.

RÉSULTATS

Ils sont consignés sur le tableau n° 27, III.

TABLEAU n° 27, III : PROTEUS

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes					
	2"	5"	10"	20"	30"	60"
80°	0	0				
78°	0	0	0			
75°	0	0	0	0		
72°5	+	+	0	0	0	
70°	+	+	+	+	0	0
67°		+	+	+	+	+

22 - BACILLE PYOCYANIQUE (PSEUDOMONAS AERUGINOSA)

L'expérimentation a comporté deux séries d'essais mettant en œuvre les chauffages aux températures figurant sur le tableau n° 28, III.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur des laits crus titrant 18°D.
- Contamination du lait par un mélange à parties égales de trois souches de bacille pyocyanique.
- Origine des souches : une souche isolée de matières fécales de bovin, deux souches isolées d'urine humaine.
- Degré de contamination des laits : environ 1.10^6 germes/ml.
- Méthode de recherche des bactéries survivantes :
  - Ensemencement de 0,5 ml de chaque échantillon dans un bouillon glucosé tamponné à 7,6, et de 0,1 ml sur gélose au tergitol 7 ou sur gélose EMB.
  - Après incubation de 24 heures à 37°, les cultures développées en bouillon glucosé tamponné ont été ensemencées sur ces deux milieux d'isolement. Il est à noter que des essais d'isolement sur gélose ordinaire ont été effectués, mais la pigmentation verte des souches de pyocyanique n'apparaît pas constamment avec des cultures provenant d'inoculum ayant subi un chauffage.

RÉSULTATS

Ils sont consignés sur le tableau n° 28, III.

TABLEAU n° 28, III. BACILLE PYOCYANIQUE

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
	2"	5"	10"	20"	30"
75°	0	0	0		
72°	0	0	0		
69°		0	0	0	
65°	+	0	0	0	
62°	+	+	+	0	0

23 - FLORE DE VEILLON

L'expérimentation a porté sur trois séries d'essais, une pour chacune des espèces bactériennes étudiées, à savoir : Streptocoque, Ramibacterium et B. Fundiliformis.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

- Essais effectués sur un lait cru titrant 18°D.

- Contamination du lait : essais effectués séparément sur un lait souillé par adjonction d'un mélange de cultures de deux souches de Streptococcus anaerobius, d'un mélange de deux souches de Ramibacterium ramosum et d'une culture de B. Fundiliformis.

- Origine des souches :

  - Streptococcus : une souche de collection
    une souche isolée d'un abcès de veau
  - Ramibacterium ramosum : une souche de collection
    une souche isolée d'une urine purulente
  - B. Fundiliformis : une souche de collection.

- Degré de contamination du lait : environ 5.10^5 germes/ml dans le cas de Streptococcus et de Ramibacterium et 1.10^5 germes/ml dans le cas de B. Fundiliformis.

- Méthode de recherche des bactéries survivantes : ensemencement de 0,5 ml des échantillons frais ou incubés à 37°C pendant 24 heures, en bouillon glucosé anaérobie.
  Incubation à 37°C.
  Isolement à partir de cultures développées dans ces bouillons sur gélose au sang en boîte de Pétri sous vide.

RÉSULTATS

Ils sont consignés dans les tableaux :

- n° 29, III : Streptococcus
- n° 30, III : Ramibacterium ramosum
- n° 31, III : B. Fundiliformis.

TABLEAU n° 29, III : STREPTOCOQUES ANAEROBIES

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes			
	2"	5"	10"	20"
85°	0	0		
80°	0	0		
75°	0	0	0	
72°	0	0	0	
68°	0	0	0	
65°	+	0	0	

TABLEAU n° 30, III : RAMIBACTERIUM RAMOSUM

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes			
	2"	5"	10"	20"
75°	0	0		
72°	0	0		
68°	0	0	0	
65°	+	0	0	
62°	+	+	+	0

TABLEAU n° 31, III : B. FUNDILIFORMIS

Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes			
	2"	5"	10"	20"
80°	0	0		
75°	0	0		
72°	0	0	0	
69°	+	0	0	
65°	+	+	0 +(1)	0
62°		+	+	+

(1) Bactéries isolées uniquement de l'échantillon de lait incubé 24 heures à 37 °C.

24 - ÉTUDE DE LA DESTRUCTION DE LA FLORE BACTÉRIENNE NORMALE D'UN LAIT CRU DE MÉLANGE

Deux séries d'essais ont été effectuées en utilisant des laits crus de mélange titrant respectivement 17°D et 19°D, non artificiellement pollués par une suspension de bactéries. Ces essais ont eu pour but, d'une part de corroborer certains résultats précédemment acquis en utilisant des laits artificiellement contaminés, d'autre part de préciser la nature des bactéries qui peuvent subsister après différents chauffages correspondant à ceux utilisés dans l'industrie laitière. Par contre, cette étude n'a pas été effectuée dans le but de déterminer l'abondance de la flore microbienne capable de résister à des pasteurisations mettant en œuvre différentes combinaisons : durée de chauffage, température.

La recherche des bactéries survivant au chauffage a été effectuée par ensemencement de 0,1 ml de dilution en eau physiologique de chaque échantillon sur gélose nutritive additionnée de 5 % de lait écrémé (1).

Après incubation de trois jours, chaque type de colonies développées sur ce milieu a été prélevé et identifié. Les résultats de ces identifications sont rapportés dans le tableau suivant n° 32, III.

TABLEAU n° 32, III FLORE SAPROPHYTE

Caractéristique du chauffage	Nature des bactéries survivant au chauffage	Abondance relative des bactéries survivantes
88° - 20"	Bacillus	+
	Micrococcus freudenreichii	+
88° - 10"	Streptococcus fecalis liquefaciens	+
82° - 20"	Des microcoques dont :	
	- micrococcus caseolyticus	++
	- " luteus	++
	- " freudenreichii	++
	Bacillus megatherium	+
	Bacillus non identifié	+
80° - 10"	Les mêmes que précédemment, mais microcoques plus nombreux, et présence de micrococcus flavus	

(1) Le milieu utilisé correspondait à la formule fixée par l'arrêté du 2 Juin 1955 (Journal Officiel de la République Française) relatif au contrôle bactériologique des laits.

TABLEAU N° 32, III (suite)

Caractéristique du chauffage	Nature des bactéries survivant au chauffage	Abondance relative des bactéries survivantes
77° - 30"	En plus des précédents :	
	- Streptococcus durans	+
	- " fecalis zymogenes	++
	- Micrococcus varians	++
	- " inclassables	++
	- Chromobacter	
77° - 20"	Même flore que pour 77° - 30", mais l'abondance des cocci à gram + est plus forte	
77° - 10"	Même flore que précédemment, mais en plus Streptococcus faecium	+
72° - 30"	Microcoques (les mêmes que précédemment) + micrococcus candidus et micrococcus tetragenus	+++
	- Entérocoques : Str. faecium,	++++
	Str. zymogenes	++++
	Str. durans	++++
	- Achromobacter	+++
	- Bacillus	++
72° - 20"	Même flore qu'à 72°/30", mais l'abondance de Str. durans est nettement plus grande, et en plus Str. fecalis	+
72° - 10"	Même flore que précédemment, mais en plus - Streptocoques du groupe D inclassables	+
	et - Microbacterium	+

25 - INACTIVATION DE LA PHOSPHATASE ALCALINE

L'activité phosphatasique a été recherchée par la méthode d'ASHAFFENBURG-MUELLEN.

L'expérimentation a comporté trois séries d'essais effectuées sur des laits crus de mélange titrant 16°D, 17°D et 18°D.

Toutes les mesures d'activité phosphatasique ont été effectuées sur les échantillons de lait frais.

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau n° 33, III, dans lequel les mesures des activités enzymatiques sont exprimées en unités Lovibond (seuls sont indiqués les résultats des lectures effectuées après 2 heures d'incubation).

TABLEAU n° 33, III : INACTIVATION DE LA PHOSPHATASE ALCALINE

N° de l'essai	Température de chambrage	Durée du chambrage en secondes				
		2"	5"	10"	20"	30"
1, 2 et 3	80°	0	0			
1, 2 et 3	78°	0	0	0	0	0
1, 2 et 3	76°	0	0	0	0	0
1	74°	0	0	0	0	0
2		0 à 6	0	0	0	0
3		0 à 6	0	0	0	0
1	73°	0 à 6	0	0	0	0
2		6	0	0	0	0
3		6	0	0	0	0
1	72°	6		0	0	0
2		6	0 à 6	0 à 6	0	0
3		6	0 à 6	0 à 6	0	0
1	70°	42	42	25	18	10 à 14
2			>42	>42	42	25
3			>42	>42	>42	42
Activité phosphatasique des trois laits crus de mélange : supérieure à 42 unités.						

*

* *

Utilisant un appareil expérimental de pasteurisation de type HTST, nous avons pu démontrer que :

- une pasteurisation à 72°C avec un temps de chambrage de 10" assure certainement la destruction des Salmonelles, des brucelles et des bacilles tuberculeux humains et bovins. Un tel chauffage détruit d'ailleurs la plupart

des espèces bactériennes commensales pouvant polluer le lait, à l'exception de l'entérocoque. Dans le tableau 34, III, nous avons résumé ces conclusions en indiquant une marge de sécurité qui peut être l'apanage d'une pasteurisation à 72°C. Sur ce tableau figure, d'une part, la marge de sécurité que doit présenter, du point de vue prophylaxie des maladies infectieuses, une pasteurisation du lait dont la bonne exécution est contrôlée par la recherche de l'inactivation de la phosphatase alcaline.

TABLEAU n° 34, III

DESTRUCTION DES BACTÉRIES ET MARGES DE SÉCURITÉ EN CAS DE PASTEURISATION à 72°C.

Espèces bactériennes	Marge minima de sécurité, en degrés, en cas de pasteurisation à :		Marge de sécurité, en secondes, assurée par l'inactivation de la phosphatase :
	72°/10"	72°/20"	
Bacille typhique	6°	6°	de 8" à 18"
Bacille paratyphique A ..	7°	10°	de 8" à 18"
Bacille paratyphique B ..	8°	8°	de 8" à 18"
Bacille paratyphique C ..	7°	9°	de 8" à 18"
Brucella mélitensis.....	3°	3°	de 5" à 15"
Bacille de Bang	4°	4°	de 8" à 18"
Bacille de Koch humain			
- culture	4°	4°	de 8" à 18"
- produit pathologique...	5°	5°	de 8" à 18"
Bacille de Koch bovin			
- culture	2°	7°	de 8" à 18"
- produit pathologique...	4°	4°	de 8" à 18"
Staphylocoque pathogène.	8°	8°	de 8" à 18"
Streptocoque pyocènes ..	9°	9°	de 8" à 18"
Entérocoque	subsiste après 72°/60"		
Bacille diphtérique	12°		de 8" à 18"
Colibacille.....	5°	7°	de 8" à 18"
Colibacilles pathogènes			
0111B4, 056B5, 026B6 ..	2°	5°	de 5" à 15"
Paracoli aerogenes	2°	4°	de 8" à 18"
Paracoli anaerogenes ...	4°	7°	de 8" à 18"
Paracoli Arizona	4°	7°	de 8" à 18"
Providencia	5°	7°	de 8" à 18"
Klebsiella aerogenes ...	inf. à 2°	2°	de 0" à 10"
Bacille de Friedländer ..	5°	7°	de 8" à 18"
Proteus	inf. à 2°	inf. à 2°	de 0" à 10"
Bacille pyocyanique.....	7°	10°	de 8" à 18"
Streptocoques anaérobies			
Ramibacterium.....	3°	7°	de 8" à 18"
B. Fundiliformis			

IV - DISCUSSION

L'intérêt pratique majeur de la connaissance de la sensibilité des bactéries du lait à la chaleur étant de pouvoir apprécier l'efficacité de la pasteurisation, nous procéderons à une analyse critique des méthodes que nous avons employées et des résultats que nous avons obtenus en établissant des comparaisons avec ce qui peut être fait dans l'industrie laitière et ce qui peut être attendu des traitements thermiques auxquels cette industrie soumet le lait.

VALIDITÉ DE NOS PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX ET DES RÉSULTATS OBTENUS

1) Dans la première partie de nos travaux (cf. chapitre II), le but que nous avons poursuivi était, comme nous l'avons déjà précisé, de déterminer avec le plus d'exactitude possible les caractéristiques des chauffages capables d'entraîner la destruction des bactéries. Cette exactitude ne pouvait être atteinte qu'en utilisant un protocole expérimental simple, - d'où possibilité de renouvellement de chaque manipulation -, et comportant en particulier une méthode de chauffage réalisant des conditions thermiques étroitement déterminées. L'adoption d'un tel protocole permettait en outre d'étudier l'incidence des variations de différents facteurs sur la thermo-résistance des bactéries, même si cette incidence ne se traduisait que par des écarts de faibles amplitudes entre les résultats observés. Dans ces conditions, il ne pouvait être question de mettre en œuvre des méthodes de chauffages des bactéries superposables à celles réalisées en matière de pasteurisation industrielle.

On peut estimer que les techniques que nous avons adoptées satisfont aux buts proposés, d'une part en établissant la précision des opérations réalisées, d'autre part en jugeant de cette précision par l'homogénéité des résultats expérimentaux. Nous pensons inutile de reprendre une discussion de la validité de la méthode de chauffage employée, ayant précisément fait suivre sa description de l'exposé des résultats enregistrés au cours de séries de mesures des variations de température (voir page 12 et graphiques n°s 2 et 2 bis). Nous rappellerons simplement que notre protoçole expérimental a comporté des chauffages à des températures déterminées, à partir de la troisième seconde suivant l'introduction des bactéries dans le liquide pré-

chauffé, avec une précision telle que la série des valeurs numériques enregistrées se caractérise par un écart type dont la valeur correspond à 0,04°C. De même la valeur des méthodes utilisées pour rechercher les bactéries survivant au chauffage a été suffisamment précisée.

La seule variable dont les déterminations n'ont pu être effectuées avec autant de précision est le temps pendant lequel une suspension microbienne était soumise à l'effet de la chaleur. Nous avons déjà mentionné cependant que du fait de l'exécution des manipulations par un même personnel entraîné, les erreurs relatives qui ont pu entacher les appréciations de temps sont minimes. Ceci a, d'ailleurs, été vérifié par des chronométrages portant sur des essais successifs.

On peut apprécier l'homogénéité des résultats en considérant les séries de valeurs numériques obtenues au cours d'une expérimentation effectuée dans des conditions parfaitement définies et constantes (température et durée du chauffage, caractères physico-chimiques de la phase dispersante de la suspension microbienne, nature des germes de cette suspension et, en particulier pureté de la souche, grandeur de la population bactérienne soumise à l'investigation, méthode de détection des individus survivants). Nous avons déjà mentionné que nous avions effectué, dans la plupart des cas, jusqu'à trois essais afin de déterminer, pour chaque espèce bactérienne, les conditions thermiques minima capables de détruire les souches qui, parmi l'ensemble des souches étudiées présentaient la thermo-résistance la plus élevée. Sur les graphiques sont rapportées les valeurs ainsi déterminées; dans les cas où, pour une température de chauffage donnée, les essais successifs ont fourni des valeurs de temps différentes, un segment représente la différence entre les valeurs extrêmes enregistrées. Si l'on examine ces graphiques, il est aisé de remarquer qu'en aucun cas la taille de ces segments, donc l'ordre de grandeur des imprécisions de détermination inhérentes à la méthode expérimentale elle-même, n'est importante. Cependant, afin de confirmer la précision de cette méthode, nous avons effectué pour certains germes et pour les températures de 70° et 65°C des séries de six déterminations successives du temps de chauffage minimum nécessaire pour détruire la vitalité de la suspension microbienne. Ces essais ont été conduits avec des souches pures. Les valeurs numériques qu'ils ont fournies sont rapportées dans le tableau n° 1, IV.

Sur ce même tableau figurent la moyenne ($\bar{x}$) de chaque série de données expérimentales, la somme $S(x-\bar{x})^2$ des carrés des écarts par rapport à la moyenne, calculée en additionnant les carrés des n nombres de la série, et en soustrayant de ce total n fois le carré de la moyenne, ce qui revient à prendre 0 comme moyenne de travail. A partir des valeurs ainsi calculées, on peut déterminer la statistique :

$$\chi^2 = \frac{S(x-\bar{x})^2}{\bar{x}}$$

Nous avons également rapporté dans le tableau la somme des χ^2 relative à chaque espèce microbienne étudiée, ainsi que le degré de liberté correspondant, degré de liberté égal, pour chaque série, à n-1. Si l'on se rapporte au graphique (14) établi par les Statisticiens, donnant les limites des variations probables de χ^2 en fonction des degrés de liberté, on voit que les valeurs calculées tombent entre les courbes de niveau usuel de signification de 95% à 99%. C'est dire que le test de conformité ainsi conduit montre que les fluctuations présentées par les valeurs expérimentalement obtenues ne

TABLEAU n° 1, IV

	E. Coli		Str. Pyogenes groupe C		Providencia	Bacille de Koch humain (S. Dup)	Bacille de Koch bovin (S. 100)
Chauffage à ... en	70° Lait cru	65° Lait cru	70° eau	65° eau	65° eau	65° eau	65° lait
Valeurs numériques obtenues	9 8 10 8 9 9	38 40 40 38 36 40	20 16 18 16 20 20	100 92 95 95 100 98	16 19 19 18 16 16	37 35 39 37 32	40 48 45 50 42
$\bar{x}$	8,8	38,6	18,3	97,1	17,3	36	45
$S(x-\bar{x})^2$	23	44	26,5	109	18,2	28	68
χ^2	2,6	1,1	1,4	1,3	1,05	0,78	1,51
Totaux	3,7		2,7		1,05	2,29	
Degré de liberté	10		10		5	8	

peuvent être que l'effet du hasard et ne sont pas liées à celles d'une variable quelconque. Si la précision de la méthode employée dans notre expérimentation est ainsi bien établie, il peut même paraître surprenant que les valeurs calculées de χ^2 soient généralement très petites; nous pensons - et nous reviendrons ultérieurement sur ce point - que ceci est dû au fait que toute l'expérimentation a été conduite avec des populations microbiennes très grandes.

La validité des résultats expérimentaux, si elle dépend d'une part de la précision des méthodes mises en œuvre, est à considérer d'autre part en fonction d'autres facteurs. Parmi ceux-ci, on peut citer tout d'abord la nature de la phase dispersante de la suspension microbienne et le pH de cette phase. Nous avons déjà précisé que, d'une manière générale, se classent, par ordre de thermo-résistances décroissantes, les suspensions en lait préalablement stérilisé par autoclavage, les suspensions en lait cru frais, et enfin les suspensions en eau physiologique; quant à l'effet de l'accroissement de l'acidité, il se manifeste par une légère augmentation de la thermo-résistance des germes, mais cette augmentation est toujours minime. Plus intéressantes sont d'autres variables, telles que : nombre de souches étudiées et abondance des populations microbiennes soumises au chauffage, pour juger de la validité des résultats obtenus pour chaque espèce bactérienne.

Il est bien évident que, dans une même espèce, des différences doivent apparaître entre souches quant à la thermorésistance. Pour chacun des germes étudiés, nous avons indiqué le nombre de souches utilisées et nous avons rapporté dans les tableaux les valeurs extrêmes caractérisant les temps de chauffages (à 75°, 70°, 65° et 60°C) capables de stériliser les suspensions. Ces valeurs ainsi déterminées permettent-elles, d'une part, d'affirmer que les souches appartenant à une même espèce taxonomique présentent des variations superposables du temps de survie en fonction de la température de chauffage et correspondent-elles, d'autre part, à un seuil de signification valable ?

A la première de ces questions, une réponse peut être donnée en effectuant des tests d'homogénéité utilisant la distribution de la statistique χ^2. A la seconde, en calculant les valeurs des écarts prévus normaux, et en recherchant la correspondance des probabilités.

Nous avons groupé dans les tableaux 2, IV les données et les calculs correspondants de la statistique χ^2 et de l'écart réduit normal h/σ, dans le cas de suspension de colibacille, de bacille de Koch bovin, et de brucelles. Nous avons pris pour exemple d'une part ces espèces microbiennes car, colibacille et bacille tuberculeux bovin sont parmi les germes pour lesquels nous avons utilisé le plus grand nombre de souches et, d'autre part, les brucelles pour lesquelles existent entre chaque souche étudiée des différences assez nettes quant à la thermorésistance (1).

La lecture du tableau 2, IV permet, en se rapportant au graphique donnant les limites de variations de $/^2$ (14), de constater que les valeurs calculées de χ^2 sont comprises entre les limites extrêmes de variations de taux de probabilité de 99 % dans le cas du colibacille et de taux de probabilité de 95 % dans le cas des deux autres espèces.

Ceci montre que les différentes souches d'une même espèce microbienne présentent une homogénéité quant à la sensibilité à la chaleur.

Les valeurs des écarts réduits normaux (calculés uniquement en fonction de la valeur supérieure expérimentalement déterminée) permettent de définir, si l'on se rapporte à une table donnant les valeurs d'intégration de la fonction de Gauss, le seuil de signification de ces valeurs supérieures. Pour que, sur un grand nombre de souches, chacune d'elles ait une thermo-résistance inférieure ou égale à celle de la souche la moins sensible à la chaleur parmi celles que nous avons étudiées, la probabilité P est de 65 à 80 % dans le cas du colibacille, de 75 à 92 % dans le cas du bacille tuberculeux bovin, de 82,5 + dans le cas des brucelles.

Nous ne fournissons pas ici l'ensemble des seuils de signification des valeurs fournies par l'expérimentation dans le cas des autres espèces microbiennes; les calculs de ces seuils de signification indiquent des valeurs de probabilité ci-dessous définies oscillant entre 70 et 90 %.

Parmi les facteurs pouvant exercer une influence sur le déterminisme de la thermo-résistance globale d'une population microbienne on peut encore considérer l'abondance de cette population. Au cours de nos travaux, nous n'avons pas abordé l'étude de cette question, ne cherchant à préciser que les conditions thermiques nécessaires pour détruire la totalité des individus d'une suspension microbienne. Nous avons cependant montré que le fait de diluer cette suspension entraînait une légère diminution de sa thermo-résistance globale. Ceci tend à prouver que les conditions thermiques que nous avons définies comme étant suffisantes pour détruire une suspension microbienne de forte densité, le sont certainement pour assurer celle d'une suspension représentée par un lait cru de mélange. CHARM (11) a montré que la distribution statistique de la thermo-résistance au sein d'une population microbienne, n'est pas régie par l'équation classique de distribution de MAXWELL, mais représentée par une courbe dont le sommet correspond à un chauffage très voisin du chauffage le plus élevé compatible avec la survie de la totalité des germes. Si on se rapporte à ses conclusions, on peut concevoir que, notre expérimentation ayant été effectuée sur des suspensions microbiennes de forte densité, cette qualité du matériel a pu introduire une sorte de mécanisme régulateur pouvant être à l'origine de la faible dispersion des valeurs de χ^2 caractérisant les résultats d'essais successifs de chauffage à une même température (voir plus haut).

(1) Il est à noter que de tels calculs ne peuvent être mis en œuvre dans le cas d'espèces microbiennes dont la thermo-résistance a été étudiée sur un nombre de souches de l'ordre de deux ou trois. Cependant, il est à remarquer en se rapportant aux résultats précédemment fournis (voir chapitre 2, III), que certaines de ces espèces, proches dans la classification taxonomique, pourraient être groupées. C'est le cas par exemple des paracolibacilles aerogenes et des colibacilles, des paracolibacilles anaerogenes et des espèces Arizona et Providencia.

TABLEAU n° 2, IV

	E. Coli		B. de Koch var. bovine		Brucelles
Chauffage à ... en	75° eau	70° eau	75° eau	70° eau	72° lait stérile
Valeurs numériques obtenues	4, 4, 6, 5, 4, 6, 6, 6, 4, 4.	10, 10, 13, 11, 10, 13, 13, 13, 10, 10.	6, 8, 8, 11, 10, 2, 6, 4, 8.	7, 12, 12, 15, 15, 20, 5, 14, 12.	19, 21, 18, 12, 17, 16.
$\bar{x}$	4,9	11,3	7	12,4	17,1
$S(x - \bar{x})^2$	9	21	64	168,2	60,6
χ^2	1,8	1,9	9	13	3,5
Degré de liberté	9	9	8	8	5
σ	0,95	1,45	2,7	4,3	3,2
h/σ	1,2	1,2	1,5	1,7	1,3
P	80%	80%	87%	92%	82,5%
Chauffage à ... en	75° lait cru	70° lait cru	75° lait cru	70° lait cru	
Valeurs numériques obtenues	3, 3, 5, 5, 3, 5, 5, 5, 4, 3.	7, 7, 10, 8, 8, 12, 12, 12, 11, 7.	2, 2, 5, 4, 3, 2, 4, 5, 2.	6, 8, 6, 6, 8, 10, 11, 6, 8.	
$\bar{x}$	4,1	9,4	3,2	7,6	
$S(x - \bar{x})^2$	9	45	15	60,3	
χ^2	2,2	4,7	4,9	8,2	
Degré de liberté	9	9	8	8	
σ	0,95	2,15	1,3	2,6	
h/σ	0,95	1,25	1,2	1,6	
P	65%	80%	75%	91%	

Dans la deuxième partie de nos travaux (cf. chapitre III), la validité du protocole expérimental mis en œuvre ne doit être discutée que par comparaison entre la méthode de chauffage utilisée et celle réalisable en pasteurisation industrielle de type H.T.S.T. Nous pensons avoir déjà suffisamment montré, en décrivant l'appareil expérimental utilisé, que cette comparaison met en évidence de grandes similitudes. Si quelques dissemblances existaient entre le fonctionnement de notre appareil expérimental et celui des installations industrielles, ces dissemblances ne pourraient entraîner que des erreurs par défaut.

La validité des résultats obtenus est fonction des mêmes facteurs que ceux qui ont été envisagés précédemment dans la discussion relative à la première partie de nos travaux. Nous préciserons en particulier à ce sujet que dans ces deux séries d'expériences, ont été utilisés généralement, pour chaque espèce microbienne, le même nombre de souches, les mêmes souches, et obligatoirement celles qui présentaient la plus forte thermo-résistance. Les essais effectués avec l'appareil expérimental de pasteurisation ont porté sur des laits dont la contamination artificielle était bien supérieure à celle qui peut naturellement être relevée sur un lait cru; c'est dire que les résultats exposés tiennent compte du facteur densité de la suspension microbienne précédemment envisagé. Quant à considérer le facteur "différence de sensibilité à la chaleur entre les souches d'une même espèce" on peut admettre que son influence est telle qu'elle doit entraîner des dispersions des résultats sensiblement voisines de celles relevées dans la première partie de nos travaux. Dans ces conditions, en se rapportant au tableau dans lequel nous avons fait figurer les caractéristiques des conditions thermiques assurant, lors de nos essais, la destruction des bactéries, on peut facilement constater qu'en cas de pasteurisation à 72°C pendant 10", la probabilité pour qu'une souche de brucelles ou de bacille tuberculeux survive est sûrement inférieure à 1.10^{9}.

2) Comparaison entre les résultats obtenus dans notre expérimentation et ceux précédemment publiés par d'autres auteurs.

A notre connaissance, aucune étude systématique de la thermo-résistance des espèces bactériennes pouvant être présentes dans le lait, étude comparable à celle que nous avons rapportée ici même, n'a été abordée jusqu'à ce jour. Les auteurs qui se sont consacrés au problème de l'efficacité de la pasteurisation du lait du point de vue de la destruction des bactéries pathogènes ont, soit effectué des expériences en soumettant les germes à des chauffages répondant à des gammes limitées de températures et de durées, soit procédé à des essais de contrôle sur un produit traité par une installation industrielle. D'autre part, dans la plupart des cas, l'expérimentation a été limitée aux seuls bacilles tuberculeux et brucelles, considérés, à juste titre d'ailleurs, comme les espèces pathogènes les plus résistantes à la chaleur.

Nous avons déjà précédemment (15) procédé à un inventaire des travaux les plus marquants en la matière, et nous ne voulons que résumer ici ces données, en passant rapidement et successivement en revue les travaux expérimentaux, les résultats de contrôle effectués à l'échelon industriel, et les résultats de statistiques épidémiologiques.

Très nombreux sont les travaux expérimentaux qui ont précédé, dans les pays tels que les U.S.A. et la Grande-Bretagne, la mise en pratique des

procédés de pasteurisation industrielle du lait et qui ont permis de déterminer les normes de chauffage que devait respecter cette pasteurisation. Dans la figure n° 3, nous avons rapporté les valeurs numériques expérimentalement définies par certains auteurs et susceptibles d'assurer la destruction des germes pathogènes. Cette figure a été composée à partir d'un graphique publié par ELLIKER (10) qui a rassemblé les données fournies par de nombreux expérimentateurs, dont DAHLBERG en particulier (1). L'étude de ce graphique montre que les bactéries, agents d'affections humaines transmissibles par ingestion, en particulier bacille tuberculeux, brucelles et salmonelles, sont plus facilement détruites par la chaleur que l'ensemble des bactéries coliformes et que n'est obtenue l'inactivation de la phosphatase alcaline du lait. Cette même différence des thermo-résistances de ces germes a été mise en évidence dans les deux parties de notre expérimentation. Par contre, et nous avons déjà insisté sur ce point, nos résultats ne concordent pas parfaitement avec ceux qui, sur un graphique à coordonnées semi-logarithmiques peuvent être groupés sur une droite. Nous rappellerons que pour nous, lorsqu'il s'agit de chauffages à fortes températures pendant des temps courts, la résistance réelle des germes à la chaleur est supérieure à celle indiquée par chacun des points de cette droite. Du point de vue pratique, cette divergence d'opinion n'a qu'un intérêt très limité du fait qu'elle se retrouve en matière d'inactivation de la phosphatase, laquelle est toujours plus résistante à la chaleur que les germes du lait.

La valeur des résultats codifiés dans la figure 3 est largement fonction des méthodes de chauffage instituées par les auteurs. Des conclusions d'ordre pratique n'étant valables qu'en fonction du respect de conditions de chauffage bien définies et pouvant être comparées à celles industriellement réalisables, nous voudrions insister sur ce point et en montrer l'importance. C'est ainsi, par exemple, que NORTH et PARK (18) chauffaient du lait artificiellement et fortement pollué en le faisant circuler dans un tuyau de plomb enroulé en serpentin et immergé dans un bain-marie à eau. Ce système de chauffage assez proche de celui réalisé aujourd'hui dans la pasteurisation H.T.S.T, présentait l'avantage de chauffer le lait à l'abri de l'air, et d'éviter ainsi la formation en surface d'une pellicule dans laquelle les bactéries peuvent être protégées des effets de la chaleur. Travaillant sur le Bacille de Koch, ces auteurs ont montré que les chauffages de 20" à 71°C, 30" à 68°C, 2' à 65°6C, 6' à 62°8 et 20' à 59°C provoquaient la destruction de la virulence des germes pour le cobaye. Inversement, BINGEL (30), reprenant l'étude du même germe, opère en chauffant du lait pollué dans un tambour de cuivre immergé dans un bain-marie et soumis à un mouvement de rotation. Par ce procédé, qui n'excluait pas la possibilité de formation d'une pellicule en surface, il détermine comme chauffage satisfaisant 74°C pendant 40" à 60". La comparaison de ces valeurs numériques avec celles définies par NORTH et PARK montre l'influence du procédé de chauffage adopté. Sans vouloir préciser les techniques utilisées par les différents auteurs cités, nous ferons remarquer que les normes de chauffage qu'ils ont définies comme susceptibles d'offrir des garanties hygiéniques certaines, sont comparables à celles que nous avons pu établir en utilisant une installation expérimentale de pasteurisation du type H.T.S.T. Elles sont conformes aussi aux résultats des importants travaux qui ont été conduits tant aux U.S.A. qu'en Grande-Bretagne, travaux rapportés en particulier d'une part par CRONSHAW (16), d'autre part par MATTICK et HISCOX (31), et qui ont abouti à l'approbation officielle de la méthode H.T.S.T dans ces pays.

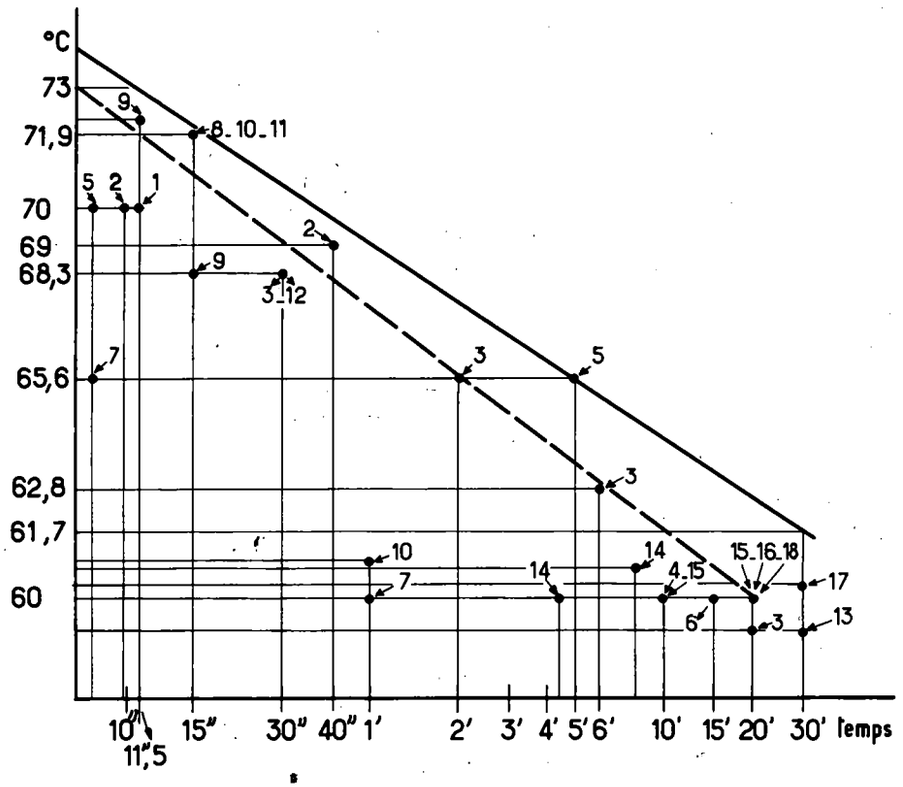


Fig. 3 - Quelques données bibliographiques relatives aux résultats bactériologiques des méthodes de pasteurisation du lait.

------ Destruction de la totalité de la flore microbienne pathogène, d'après ELLIKER (10).
——— Destruction de la phosphatase et des coliformes, d'après ELLIKER (10).

1. Bacilles tuberculeux détruits (CRONSHAW - 16 -)
2. " " " (SEELEMAN - 17 -)
3. " " " (NORTH et PARK - 18 -)
4. " " " (RUSSELL et HASTING - 19 -)
5. " " survivants : 0 % (BANG - 20 -)
6. " " " : 50 % (" - 20 -)
7. " " " : 100 % (" ")
8. " " détruits (WORKMANN - 21 -)
9. Brucelles détruites (KRONENWETT - 22 -)
10. Virus de Coxsackie détruit (KAPLAN et MELNICK - 23 -)
11. Bacilles tuberculeux détruits (Amer. Publ. Hlth. Ass. - 24 -)
12. " " " (DAHLBERG - 1 -)
13. " " " (MEANWELL - 25 -)
14. B. Typhi Murium détruits (UNITED STATES NAVAL BULL - 26 -)
15. Bacilles tuberculeux détruits (UNITED STATES NAVAL BULL - 26 -)
16. Streptocoques détruits (ROSENOW et HESS - 27 -)
17. Brucelles détruites (ROSENOW - 28 -)
18. Streptocoques détruits (PARK - 29 -)

De même, les résultats rapportés dans la figure 3 et correspondant à des chauffages et à des températures de l'ordre de 61/63°C, montrent l'efficacité de la pasteurisation basse. Ils ont été pour la plupart obtenus à l'occasion d'essais de chauffage dans un récipient muni d'un système d'agitation du liquide et immergé dans un bain-marie. Bien que les conditions expérimentales soient différentes, ces résultats peuvent être comparés à ceux que nous avons nous-mêmes notés dans la première partie de nos travaux.

Dans l'ensemble, la plupart des travaux expérimentaux effectués démontrent que les méthodes de pasteurisation répondent à des normes telles qu'elles assurent la destruction des espèces bactériennes pathogènes pouvant contaminer le lait; ces normes n'ont été d'ailleurs admises en pratique courante qu'à la lumière des résultats de ces travaux.

Par contre, une même homogénéité n'est pas l'apanage des conclusions auxquelles ont pu arriver les auteurs qui ont effectué des contrôles bactériologiques sur des laits provenant d'installations industrielles de pasteurisation. Certes les séries les plus démonstratives de contrôle, en raison du nombre des opérations effectuées, prouvent que l'application industrielle n'est pas en désaccord avec les données théoriques. Il faut avant tout rappeler à ce sujet que les normes de pasteurisation officiellement arrêtées aux U.S.A. et en Grande-Bretagne l'ont été après la poursuite, non seulement d'essais expérimentaux, mais encore de vastes enquêtes effectuées sur des installations industrielles tant dans ces pays qu'en Suède ou au Danemark (cf. CRONSHAW (16) et MATTICK (32). Ces enquêtes ont montré en particulier que les chauffages effectués dans toutes les installations contrôlées étaient suffisants pour amener la destruction des bacilles tuberculeux. De même, en Allemagne, KALKBRENNER (33) d'une part, MEIN (34) d'autre part, affirment qu'aucun des laits pasteurisés qu'ils ont étudiés ne renfermaient de bacilles de Koch virulents. L'opinion de SEELEMANN (17) est identique.

Cette constatation de l'absence totale de bacilles de Koch virulents dans les laits pasteurisés du commerce ne peut cependant être imputée au fait qu'avant traitement les laits crus n'étaient pas contaminés. En effet, de nombreux auteurs, dont MINETT et PULLINGER (35), HUMPHRIS, PEDEN et WRIGHT (36), en Angleterre, PRICE (37) au Canada, ont montré que quel que soit le degré de contamination des laits crus introduits dans les appareils de pasteurisation industriels du type H.T.S.T, le produit traité était toujours exempt de bacilles de Koch vivants.

De même, d'après la majorité des essais de contrôle effectués, l'efficacité des méthodes de pasteurisation basse se vérifie quant à la destruction de ce germe.

Il est à noter en effet que, pour la plupart, les auteurs qui ont procédé à des études bactériologiques des laits pasteurisés se sont attachés à la recherche du seul bacille de Koch comme test d'efficacité du traitement thermique. C'est aussi la détection de ce même bacille tuberculeux dans des laits soumis à la pasteurisation commerciale, qui a été l'argument principal des hygiénistes qui ne reconnaissent pas à cette dernière de pouvoir prophylactique. C'est ainsi que WAGENER et REUSS (38) en Allemagne, sur 5 000 échantillons de laits pasteurisés provenant de 15 laiteries, en trouvent 1,13% tuberculisant le cobaye, mais mentionnent cependant que les bacilles isolés de ces échantillons sont moins virulents que ceux provenant de laits crus.

La fréquence de la contamination par du bacille tuberculeux virulent des laits du commerce pasteurisés par la méthode H.T.S.T serait de 3 % d'après MAAS (39), de 0,4 % d'après POHL et ASCHMITT (40), de 5 % d'après STRIEL (41) et de 0,3 % d'après une statistique anglaise (42) résultant d'une étude ayant porté sur 3 596 échantillons. Des pourcentages analogues ont été indiqués par d'autres expérimentateurs, en France en particulier, mais ils ne peuvent être tenus pour aussi démonstratifs que les précédents, les investigations n'ayant porté que sur un nombre restreint de prélèvements. Plus rarement, l'efficacité de la méthode de pasteurisation basse semble avoir été mise en doute; une statistique émanant du Laboratoire du Service de la Santé Publique en Grande-Bretagne (42) indique cependant que sur 717 échantillons de laits traités par ce procédé, 1,1 % contenait des bacilles de Koch virulents. Malgré la relative abondance de ces données, l'efficacité des deux procédés de pasteurisation peut-elle être aisément mise en doute ? Il semble que non, et cela pour au moins deux raisons : l'une inhérente à l'insuffisance des renseignements fournis par les auteurs, l'autre résultant de nos propres travaux. Il est très largement admis qu'un contrôle simple de la bonne conduite d'une pasteurisation est la recherche de l'inactivation de la phosphatase alcaline du lait; or, les auteurs précédemment cités n'ont jamais précisé si les laits à partir desquels ils ont isolé des bacilles tuberculeux avaient une réaction à la phosphatase négative. WAGENER (43), toutefois, a relevé la présence de bacille de Koch dans un lait réagissant négativement à l'épreuve de la phosphatase, mais il ne précise pas à quelle épreuve.

Plus démonstratives, apparaissent alors les conclusions d'un travail de DAVIES (44): celui-ci rapporte qu'en Angleterre, il a pu retrouver des bacilles tuberculeux virulents dans 0,044 % des laits pasteurisés du commerce, mais il signale en même temps que 0,7 % de ces laits accusait une réaction positive de la phosphatase et que cette dernière atteignait le pourcentage de 2,2 % en Ecosse. Ainsi semble-t-il logique d'admettre, comme l'a d'ailleurs souligné TRENDTEL (45), que les seules conclusions auxquelles puissent prétendre les auteurs précédemment cités, après avoir isolé des bacilles de Koch de laits du commerce, se limitent à une mauvaise réalisation pratique de la pasteurisation mais ne mettent pas en cause la validité de la méthode elle-même.

D'autre part, subordonner l'appréciation de l'efficacité de la pasteurisation à la recherche de la survie du bacille tuberculeux, pourrait paraître insuffisant : dans chacune des parties de notre expérimentation, nous avons pu mettre en évidence que ce germe est moins résistant à l'effet de la chaleur que ne le sont les brucelles. Ce sont donc ces dernières qui devraient être choisies comme bactéries pathogènes-tests, et ceci avec d'autant plus de raison que leur abondance dans les laits crus de mélange doit être supérieure à celle du bacille tuberculeux, tant du fait de la diffusion de l'avortement épizootique que de la fréquence des éliminations des brucelles par la mamelle dans cette affection

Les hygiénistes qui ont voulu juger de l'efficacité de la pasteurisation en se référant à des données épidémiologiques, ont d'ailleurs largement tenu compte de ces considérations. KRISTENSEN (46), THOMSEN et KRISTENSEN (47) font ainsi remarquer qu'au Danemark une décroissance considérable du nombre des cas de brucelloses humaines s'est manifestée depuis 1942, époque depuis laquelle est seule autorisée, dans ce pays, la vente du lait pasteurisé. Ces mêmes auteurs font remarquer que les quelques cas de fièvre ondulante qui peuvent encore être rencontrés, s'ils sont dûs à une contamination par ingestion, ont toujours pour cause la consommation du lait cru.

Dans le cas d'autres affections humaines, les données d'ordre épidémiologique confirment la valeur prophylactique de la pasteurisation du lait. PRICE (48) à Toronto, relève que dans la ville elle-même, aucun cas de tuberculose de l'enfant dûe à Mycobacterium tuberculosis bovis n'a été diagnostiqué depuis que l'approvisionnement de la ville se faisait uniquement en lait pasteurisé, et cela en dépit du fait que 26 % des laits crus de la région contenaient des bacilles virulents. KASTLI (49) étudiant l'application des méthodes de pasteurisation dans 20 pays, indique que dans 17 de ceux-ci, on n'a constaté aucune "infection provoquée par la consommation d'un lait à la réaction de la phosphatase négative", qu'en Suède, un cas douteux est à signaler et qu'au Danemark deux épidémies de dysenterie bacillaire ont été consécutives à l'ingestion de lait pasteurisé, contaminé postérieurement au traitement thermique.

V - CONCLUSION

De l'ensemble des travaux expérimentaux précédemment exposés, peuvent être dégagées d'une part des conclusions purement théoriques relatives à la sensibilité à la chaleur des bactéries, et d'autre part des conclusions d'ordre pratique permettant de juger de l'efficacité des méthodes de pasteurisation du lait.

Les premières s'énoncent ainsi :

- Parmi les espèces bactériennes pathogènes dont la présence dans le lait constitue un danger certain pour le consommateur, les brucelles jouissent d'une thermo-résistance plus élevée que les bacilles tuberculeux; quant aux salmonelles, elles sont nettement plus sensibles à l'effet de la chaleur que les espèces précédentes.

- Des espèces bactériennes commensales dont l'abondance dans un lait est l'indice de souillures et peut en outre en compromettre la conservation, la plus difficilement détruite par le chauffage est l'entérocoque; par ordre de thermo-résistance décroissante se classent ensuite : Klebsiella aerogenes et Proteus, les staphylocoques, les colibacilles et les bacilles paracoli aerogenes, Pseudomonas aeruginosa, les bacilles paracoli anaerogenes et les espèces voisines, certains germes appartenant à la flore de Veillon.

- Plus facilement détruites par la chaleur que les brucelles, existent aussi des bactéries pathogènes pour l'homme qui exceptionnellement peuvent être rencontrées dans le lait, telles que certains streptocoques β hémolytiques, le bacille diphtérique, les colibacilles appartenant aux variétés sérologiques 0111B4, 055B5, 026B6; par contre, les streptocoques du groupe C de Lancefield présentent une thermo-résistance supérieure à celle des brucelles.

- Après des chauffages assurant la destruction de toutes les bactéries pathogènes subsiste une activité de la phosphatase du lait.

- Pour toutes les souches bactériennes appartenant à une même espèce, l'effet léthal de la chaleur est obtenu pour des conditions thermiques voisines.

- Au sein d'une suspension de bactéries issues d'une même souche, et soumise à un chauffage déterminé, cet effet léthal n'atteint pas tous les individus simultanément, cette hétérogénéité n'est qu'apparente. Le phénomène,

en effet, à l'échelon moléculaire, semble lié à la probabilité d'inactivation de processus vitaux, et ne répond pas à des différences de sensibilité des germes. Ceci a pour corollaire de faibles variations de la sensibilité globale d'une suspension bactérienne en fonction de sa densité.

- L'augmentation du degré d'acidité de la phase dispersante de la suspension peut faire varier la thermo-résistance des bactéries, mais dans le cas où cette phase est du lait, les variations sont extrêmement faibles.

- Pour des chauffages à température élevée, supérieure à 70°C, l'estimation exacte du temps nécessaire pour entraîner la destruction des bactéries ne peut être extrapolée de valeurs numériques expérimentalement obtenues en procédant à des essais de chauffage à températures plus basses.

Température maxima à atteindre et durée de chauffage ne sont cependant pas les deux seules caractéristiques à envisager pour déterminer l'effet bactéricide de la chaleur; encore faut-il tenir compte des modalités des variations thermiques au cours du temps. Aussi, pour pouvoir juger de l'efficacité des méthodes de pasteurisation, nous a-t-il paru indispensable d'opérer dans des conditions se rapprochant au maximum de celles réalisables dans l'industrie.

Pour cela nous avons utilisé une installation expérimentale de pasteurisation, ce qui nous a semblé préférable à des opérations de contrôle effectuées sur des appareils industriels, car dans ce dernier cas, c'est l'appréciation de la valeur, non de la méthode mais de son application qui est à la portée de l'expérimentateur. Des résultats obtenus dans cette partie de notre travail, et en tenant compte des conclusions d'ordre théorique énumérées ci-dessus, il ressort qu'une pasteurisation du type H.T.S.T. comportant un chambrage du lait à 72°C pendant 10 secondes, assure certainement la destruction de toutes les bactéries pathogènes pouvant contaminer le lait. Un tel chauffage ne laisse subsister parmi les espèces commensales que le seul entérocoque. Pour augmenter la marge de sécurité, on peut cependant préconiser un chauffage à 72°C pendant un temps plus prolongé qui peut être défini comme étant celui nécessaire à obtenir l'inactivation de la phosphatase du lait. Un tel chauffage, dont l'application industrielle est facilement contrôlable, correspond d'ailleurs à ceux adoptés dans la plupart des pays étrangers.

Quant à l'efficacité de la pasteurisation basse, elle parait évidente quand on connaît les temps de survie des bactéries pathogènes ou commensales pour des températures de l'ordre de 60°C.

Préconiser des normes de pasteurisation plus élevées que 62°C/30 minutes ou 72°C/10 à 20 secondes, ne présente aucun avantage du point de vue hygiénique, les espèces bactériennes commensales qui peuvent supporter de tels chauffages étant d'ailleurs capables, comme nous l'avons montré, de survivre après exposition à des températures nettement plus hautes. Ne pas reconnaître à de telles méthodes de pasteurisation de valeur prophylactique en matière d'affections bactériennes transmissibles par le lait, c'est oublier l'opinion des auteurs qui depuis plusieurs dizaines d'années en ont démontré l'efficacité, opinion résumée par G. S. WILSON (50) en ces mots : "if pasteurization was rendered compulsory and universal, milk-borne disease would practically cease to exist", que nous traduisons ainsi : si la pasteurisation était rendue obligatoire et universelle, il n'y aurait pratiquement plus d'affections transmises par le lait.

BIBLIOGRAPHIE

1. DAHLBERG A. C., N. Y. State Agricultural Experiment Station - Technical Bulletin 1932, n° 203.
2. DAHLBERG A. C., Mich. State College Agricultural Experiment Station-Special Bulletin 1946, n° 335.
3. HOLLAND R. et DAHLBERG A. C., N. Y. State Agric. Experiment Station - Tech. Bull. 1940, n° 254.
4. NEVOT A., LAFONT Ph. et LAFONT J., Presse Médicale. (à paraître).
5. NEVOT A. et LAFONT Ph., Actes du Congrès de Caen (74ème session de l'Ass. Frse. p. l'avanc. des Sc.) Juillet 1955, page 453.
6. WATSON, Brit. Med. J. - 1937, i, 1189.
7. HENNINGSEN et ERNST, J. Hyg. Camb. 1938, 38, 157.
8. DUBLIN et Coll., Amer. J. Publ. Hlth. 1943, 33, 157.
9. LAFONT Ph., Rev. du Rhumatisme et des Maladies Ostéo-articulaires, 1957 - numéro spécial, p. 62.
10. ELLIKER P., Practical Dairy Bacteriology Mac Graw Hill Book Co Inc. Ed. 1949.
11. CHARM S. E., Food Techn., 1958, 12, 4.
12. BALL, Food Research, 1955, 20, 666.
13. CARRERE L., ROUX J. et SUIRE A., Annales de l'Institut Pasteur, 1957, 93, n° 1, p. 131.
14. L'HERITIER Ph., Les méthodes statistiques dans l'expérimentation biologique, Publication de C. N. R. S. 1949.
15. NEVOT A., LAFONT Ph. et MAILLET J. Bull. Soc. Scientif. Hyg. alimentaire. Vol. 46, n° 7 - 8 - 9, 1958.
16. CRONSHAW, Dairy Information, 1947 ; Dairy Ind. Ltd. ed., London.
17. SEELEMANN M., Kieler Milschw. Forsch. Ber. 1951, 3, 11.
18. NORTH C. E. et PARK W., Amer. J. Hyg, 1927, 7, 147.
19. RUSSEL et HASTINGS, Wis, Agr. Exp. Sta. 21, Ann. Rep. 1904, 178.

20. BANG, Deutsch. Zeitsch. f. Tiermed; Neue Folge; 6, 81.
21. WORKMANN, Int. Assoc. Milk Deal, 1942, 22, 585.
22. KRONENWETT F., LEAR S. et METZGER H., J. Dairy Sci., 1954, 37, 636.
23. KAPLAN A. et MELNIK J., Amer. J. Publ. Health, 1954, 44, 1174.
24. Amer. Publ. Hlth Ass. Yearbook for 1932, 33, 89.
25. MEANWELL L., J. Hyg. Camb, 1927, 26, 392.
26. United States Naval Bulletin, 1923, 19, 629.
27. ROSENOW et HESS, J. Amer. Med. Ass. 1917, 68, 1305.
28. ROSENAU, U.S. Mpubl. Hlth. Serv. Lab. Bull. 1912, 427.
29. PARK, Maer. J. Publ. Hlth, 1928, 18, 710.
30. BINGEL K., Zbl. Bakt. 1953, 159, 427.
31. MATTICK A. et HISCOX E., Med. Officer, 1939, 61, 177.
32. MATTICK A., Med. Officer, 1939, 61, 139.
33. KALKBRENNER A., Z. Hyg. Infekt. Kr., 1949, 129, 9.
34. MEIN, cité par MAAS (39)
35. MINETT et PULLINGER, Brit. Med. J. 1933, 2, 1080.
36. HUMPHRIS, PEDEN et WRIGHT, Lancet. 1937, 2, 151.
37. PRICE, Canad. Publ. Health j. 1934, 25, 13.
38. WAGENER K. et REUSS U. Lebensmitteltierazt, 1954, 5, 113.
39. MAAS A., Mh. Vet.-Med. 1953, 8, 338.
40. POHL et ASCHMITT, cité par MAAS (39).
41. STRIEL, cité par MAAS (39).
42. Public Health Laboratory Service, Mon. Bull. 1956, 15, 232.
43. WAGENER K., Molk. and Käserei Ztg, 1953, 5, 1628.
44. DAVIES J., Dairy Ind. 1953, 18, 210.
45. TRENDTEL, Molkereiztg. Hildesh. 1953, 7, 1085.
46. KRISTENSEN M., Acta Path. Microbiol. Scand. 1952, 30, 125.
47. THOMSEN A. et KRISTENSEN M., Danish Med. Bull, 1955, 2, 65.
48. PRICE R., Amer. Rev. Tuberc. 1932, 25, 383 et Can. Pub. Hlth. J., 1934, 25, 13.
49. KÄSTLI P., Le lait, 1957, 37, 241 et 404.
50. WILSON G. The Pasteurization of Milk, Ed. Arnold ed. London, 1942.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Avant-propos	3
Introduction	5
I - Les méthodes de pasteurisation	9
II - Etude de la sensibilité à la chaleur de bactéries pathogènes ou commensales pouvant contaminer le lait	13
III - Etude de la destruction des bactéries pathogènes ou commensales dans des conditions de chauffage voisines de celles réalisables dans l'industrie laitière	85
IV - Discussion	123
V - Conclusion	135
Bibliographie	137

Institut National d'Etudes Démographiques
BIBLIOTHÈQUE
23-25, Ave Franklin Roosevelt
PARIS-8e

ACHEVÉ D'IMPRIMER
LE 15 DÉCEMBRE 1958
SUR LES PRESSES DE
J. & R. SENNAC
54, Fbg Montmartre, 54
PARIS (9e)

N° d'Imprimeur 8 856

INSTITUT NATIONAL D'HYGIÈNE

3, RUE LÉON BONNAT, 3
P A R I S - X V I e

—— AUT. 32-84 ——

5 MARS 1959