Le diagnostic bactériologique des souillures de l'eau potable : contribution à l'étude des réactions des milieux de culture au Neutral-Rot

Autor(en): **Bornand, M.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **12 (1921)**

Heft 2

PDF erstellt am: **24.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-984237

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Le diagnostic bactériologique des souillures de l'eau potable. Contribution à l'étude des réactions des milieux de culture au Neutral-Rot.

Par Dr M. BORNAND.

(Laboratoire cantonal du Service sanitaire, Lausanne).

Les méthodes indiquées dans le « *Manuel suisse pour l'analyse des denrées alimentaires* » concernant l'examen bactériologique de l'eau et en particulier la recherche de *Bact. coli* sont à mon avis insuffisantes.

Le diagnostic de *Bact. coli* par les deux procédés indiqués *(Freudenreich* et *Thöni)* est tout à fait incertain. Il est pourtant mentionné qu'une fois la formation de gaz constatée dans les milieux de culture, il sera nécessaire d'identifier *Bact. coli* par des cultures sur plaques, puis on indique de faire l'ensemencement dans un bouillon peptoné et de rechercher l'Indol par le procédé de *Morelli.* Si les milieux lactosés ont présenté la formation de gaz, si le papier à l'acide oxalique a viré au rouge on en concluera qu'il y a du Coli bacille dans l'eau. Or on sait que pour porter le diagnostic *Bact. coli* dans une eau, il faut que le germe isolé présente les caractères suivants: bacille relativement petit, non sporulé, mobile, gram négatif, fait fermenter glycose et lactose, coagule le lait, donne de l'Indol, ne liquéfie pas la gélatine; on pourrait encore ajouter les réactions qu'il donne avec les milieux au Neutral-Rot, au Congo-Rot, avec le lait tournesolé, etc. Mais ces déterminations sont du domaine du bactériologue et pas de celui du chimiste.

Le but qu'on a cherché à atteindre dans l'élaboration de ces méthodes du « Manuel » est de permettre au chimiste sans grandes connaissances de la technique bactériologique de juger rapidement si une eau renferme des germes d'origine intestinale. A mon avis, les procédés indiqués ne sont pas heureux. La recherche de l'Indol en particulier par la méthode de *Morelli* est bien inférieure soit comme simplicité et sensibilité à celle de *Ehrlich-Böhme* qui est utilisée le plus couramment dans tous les laboratoires de bactériologie; — en outre, la première a peu de valeur s'il faut comme dit le Manuel attendre une dizaine de jours dans certains cas pour obtenir une réaction.

En lieu et place des milieux lactosés de *Freudenreich* et de *Thöni,* je préconiserai l'emploi des milieux de culture au *Neutral-Rot.* « Par la méthode au Neutral-Rot, dit Rochaix [1]), on n'a plus en vue la recherche exclusive du *Coli-bacille,* mais la découverte rapide, 48 heures au maximum de la contamination globale de l'eau par les microbes provenant des matières d'origine intestinale humaine ou animale. »

[1]) Revue d'Hygiène et de Police Sanitaire 1917.

Une eau ensemencée dans ce milieu, donnant lieu à la formation de bulles de gaz, à une fluorescence et une coloration jaune canari indiquera la présence de *Bacterium coli* ou des bactéries de la fermentation ammoniacale du purin ou des urines.

Si l'on veut pousser plus loin les recherches, on pourra isoler les germes par les procédés habituels et les caractériser d'après leurs propriétés morphologiques et biologiques. Mais en règle générale dans les laboratoires officiels, les simples ensemencements sur milieux au Neutral-Rot suffiront pour se prononcer sur la potabilité d'une eau.

Quelques mots maintenant sur l'utilisation des milieux de culture au Neutral-Rot pour la caractérisation de *Bact. coli* et des bactéries de la fermentation ammoniacale des urines.

C'est en 1898 que *Rothberger*[1]) a introduit dans la pratique l'agar au Neutral-Rot pour la différenciation de *Bact. coli* de *Bact. typhi.* Ce milieu a été modifié en 1900 par *Scheffler*[2]) qui lui ajoute du glycose, puis *Oldekop*[3]) qui constate que la réaction apparaît d'autant plus vite moins il y a d'agar dans le milieu de culture.

En 1904 *Braun*[4]), puis en 1906 *Stokes*[5]) utilisent ce milieu pour la recherche directe de *Bact. coli* dans les eaux.

En 1911, *Rochaix* et *Dufourt*[6]) étudient d'une façon systématique les réactions que présentent les milieux de culture au Neutral-Rot sous l'influence de *Bact. coli* et des *uro-bacteries* et font la constatation qu'avec ces germes on observe dans le milieu deux réactions, une fluorescence et une coloration jaune canari. La fluorescence peut être assurée par un certain nombre de germes, mais la coloration jaune canari est l'apanage de *Bact. coli,* des germes du groupe *paratyphique, enteritidis* et de ceux de la fermentation ammoniacale des urines. *Rochaix* et *Dufourt* préconisent d'utiliser les bouillons au Neutral-Rot pour l'analyse bactériologique des eaux, et concluent que lorsque la méthode donne un résultat positif on peut affirmer que l'eau analysée est contaminée par des microbes de l'urine, du purin ou des matières fécales.

En 1912[7]), le Professeur *Galli-Valerio* et moi reprenons l'étude de la question et confirmons complètement les observations de *Rochaix* et *Dufourt;* et surtout nous nous appliquons à rendre le procédé utilisable pour le diagnostic bactériologique rapide des eaux à la campagne. A cet effet, nous préconisons l'emploi de l'agar au Neutral-Rot préparé suivant la formule d'Oldekop et réparti dans de petites éprouvettes facilement transportables.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. I. Abt., Bd. 24, 1898, S. 513.
[2]) » » » Bd. 28, 1900, S. 199.
[3]) » » » Bd. 35, 1904, S. 120.
[4]) Cité par Rochaix: Revue d'Hygiène et Police Sanitaire, T. 39, p. 472.
[5]) » » Travail cité.
[6]) Journal de physiologie et de pathologie générale, janvier 1911, N° 1, p. 67.
[7]) Centralbl. f. Bakt. II. Abt., Bd. 36, 1912, S. 567.

Alors que plusieurs expérimentateurs, Rochaix entre autres, utilisent le bouillon au Neutral-Rot, nous avons toujours donné la préférence à l'agar.

En 1916[1]), j'ai appliqué le procédé sur une vaste échelle au service militaire et les résultats que j'ai obtenus ont été excellents.

A l'heure actuelle, dans presque tous les laboratoires de bactériologie, les milieux de culture au Neutral-Rot sont utilisés couramment pour l'analyse bactériologique des eaux. Ce milieu de culture, si simple à préparer, permet de donner des résultats sur la potabilité d'une eau 12—24 heures après l'ensemencement. Il sera d'une grande utilité pour des chimistes non initiés aux méthodes bactériologiques d'isolement des germes et leur permettra de se prononcer rapidement sur la qualité hygiènique d'une eau.

Préparation du milieu et technique de l'ensemencement.

Dissoudre à chaud 5 g d'extrait de viande de Liebig, 2,5 g de Na Cl, 10 g de peptone sèche de Witte dans 500 cm³ d'eau distillée. On alcalinise légèrement avec une solution de carbonate de sodium, on cuit une heure dans l'appareil de Koch et on filtre. Au liquide filtré on ajoute 0,6—0,8 % d'agar; on cuit une heure, on filtre à chaud et on ajoute 1 % d'une solution aqueuse saturée de Neutral-Rot et 0,15 % de glycose.

Pour les recherches au laboratoire, le milieu sera réparti dans des éprouvettes ordinaires et dans des tubes de 2,5—3,5 cm de diamètre et de 20 cm de long. Ces derniers tubes seront destinés à être ensemencés avec 15—20 cm³ d'eau.

Ensemencement.

L'agar 10 cm³, réparti dans les éprouvettes est stérilisé trois jours de suite dans l'appareil de Koch. Les tubes seront inclinés, et l'ensemencement se fera en surface avec des quantités d'eau allant de 0,1 à 1 cm³. Pour des quantités supérieures, l'eau sera ensemencée dans de l'agar fondu et maintenu à une température de 45—50°; on mélangera bien le tout. Dans ce dernier cas, on utilisera des éprouvettes plus grosses qui contiendront 20 cm³ d'agar.

L'ensemencement se pratiquera au moyen de pipettes stériles; le premier recevra 0,1 cm³ d'eau, le 2me 0,2, le 3me 0,5, le 4me 1 cm³, le 5me 2 cm³, le 6me 5 cm³, le 7me 10, le 8me 20 cm³.

Après la solidification de l'agar, les tubes seront placés à l'étuve à 37°. En 12—36 heures, si l'eau renferme des bactéries d'origine fécale, du purin, des urines, les milieux présenteront une fluorescence et une coloration jaune canari et éventuellement des bulles de gaz.

Par ce système de dilutions, on aura une idée approximative sur le degré de contamination de l'eau; ainsi les tubes ensemencés avec 0,1, 0,2 cm³ de l'eau donnant une réaction positive on sera en présence d'une eau fortement contaminée. Comme limite, on peut admettre que toute eau qui par ensemencement de 25 cm³ ne donne pas de réaction peut être considérée

[1]) Travaux de Chimie alimentaire et d'Hygiène, 1916, Vol. 7, p. 383.

comme non souillée. Eventuellement, pour compléter les recherches, on peut procéder aussi à l'ensemencement de l'eau dans de l'agar lactosé renfermant du Congo-Rot. A 100 cm³ d'agar ordinaire on ajoute 1,5 g de lactose et 30 cm³ d'une solution du Congo-Rot à 1 %.

En présence de *Bact. coli* on observe une coloration noire de l'agar.

Ce procédé a été préconisé par *Galli-Valerio* pour la recherche rapide de Bact. coli dans l'eau.[1]) Je l'ai expérimenté parallèlement avec la méthode au Neutral-Rot et j'ai pu constater que ce procédé donne de bons résultats.[2])

Examinons maintenant rapidement le mécanisme du virage au Neutral-Rot sous l'influence de Bact. coli et des bactéries de la fermentation ammoniacale des urines et voyons quelles sont les réactions que donne *Bact. coli* dans le bouillon au Neutral-Rot ou dans l'agar en présence ou non de glycose.

En 1911, *Rochaix* et *Dufourt*[3]) démontrent que la réaction du Neutral-Rot est spécifique au groupe des microbes qui transforment l'urée en carbonate d'ammoniaque, que le virage est sous la dépendance momentanée d'ammoniaque. *Guerbet*[4]) reproduit chimiquement la réaction et montre que le virage du Neutral-Rot est sous la dépendance de deux facteurs: 1° une réduction de la matière colorante en milieu acide; 2° une neutralisation par l'ammoniaque formé dans la culture. Pour obtenir le virage il faut les deux réactions ci-dessus. L'addition seule d'ammoniaque dans le Neutral-Rot ne donne qu'une coloration rouge brique.

Chimiquement, la réaction peut être reproduite de la façon suivante: A 10 cm³ d'eau on ajoute 10 gouttes de solution aqueuse de Neutral-Rot à 0,25 %, quelques parcelles de limailles de zinc, environ 10 gouttes d'acide acétique ou lactique. On tiédit le mélange, un dégagement d'hydrogène apparaît; on continue à tiédir et on constate peu à peu que la teinte groseille du Neutral-Rot passe au rouge rubis, puis au rouge pelure d'oignon. Une fluorescence visible par réflexion apparaît à mesure que la réduction du Neutral-Rot s'accentue.

On décante alors le liquide pour le séparer du zinc et on ajoute goutte à goutte de l'ammoniaque ou de la potasse caustique. On constate que sous l'influence de l'alcali, la teinte rouge brique fait place à une teinte orangée, puis devient jaune canari quand l'alcali est en excès.

Au point de vue biologique la réaction se passe d'une façon identique; l'étude que plusieurs auteurs ont fait sur l'action de Bact. coli sur différentes matières colorantes a montré que ce germe est doué d'un fort pouvoir réducteur. Quant à l'origine de l'ammoniaque elle n'a pas été démontrée d'une façon certaine jusqu'à maintenant.

Depuis la découverte de *Rothberger,* un bactériologiste anglais *Savage* a préconisé l'emploi d'un bouillon glycosé à 5 ‰ contenant du Neutral-Rot

---

[1]) Centralbl. f Bakt. II. Abt., 1916, T. 45, S. 135.

[2]) Travaux de Chimie alimentaire et d'Hygiène, 1916, Vol. 7, p. 383.

[3]) Travail cité p. 73; Comptes-Rendus Soc. biol., T. 69, 1910, p. 327.

[4]) Comptes-Rendus Soc. biol., 1911, T. 70, p. 514.

pour la détermination de *Bact. coli*. Ce milieu communément appelé dans les traités de bactériologie *bouillon de Savage* est utilisé couramment pour l'analyse bactériologique des eaux. Beaucoup d'expérimentateurs ne sont pas d'accord sur la valeur diagnostique de ce milieu ; Sicre[1]), Vincent[2]) entres autres ont constaté que des échantillons divers de *Bact. coli* font virer à des degrés variables le bouillon de Savage, que certains Bact. coli le décolorent incomplètement ou à peine. Pour *Rochaix*[3]), l'addition de sucre dans le milieu gêne considérablement la réaction; cet auteur a pu constater qu'il existe des races de *Bact. coli* attaquant fortement les sucres, donnant dans le milieu une grande quantité d'acidité empêchant le virage du Neutral-Rot. Dans le bouillon sucré, le virage est fugace, il apparaît pendant quelques heures puis disparaît. Le virage en milieu non sucré est au contraire persistant.

Il m'a paru intéressant de reprendre ces expériences et de constater si l'on observait des différences dans les réactions en utilisant soit du bouillon au Neutral-Rot, soit de l'agar préparé suivant la formule d'Oldekop.

Pour ces expériences j'ai utilisé 10 races de Bact. coli provenant soit d'urines, d'appendices, des eaux, des fèces; de date récente ou isolés depuis plusieurs années.

En ensemençant ces Bact. coli dans du bouillon au Neutral-Rot non sucré, préparé suivant la technique d'Oldekop, c'est-à-dire dans un milieu nutritif neutre ou légèrement alcalinisé, je n'ai constaté le virage que pour un seul des germes ensemencés; tous les autres tubes présentaient une fluorescence légère et une coloration jaune rougeâtre. L'expérience comparative faite en ensemençant les mêmes germes mais dans un bouillon renfermant 1 g 5 ‰ de glycose donnant le virage avec 8 échantillons de Bact. coli; deux ne montrèrent que de la fluorescence même après 48 heures. Ces résultats nous démontrent que l'hypothèse de Rochaix, Dufourt et Guerbet sur la première phase de la réaction est bien exacte: *Pour que le virage se produise, la réduction du Neutral-Rot doit se faire en milieu acide.*

Les mêmes ensemencements ont été pratiqués mais après avoir ajouté au bouillon neutralisé et exempt de sucre 0,8 % d'agar. Après 24 heures d'étuve, la plupart des tubes ensemencés donnent une faible réaction, qui devient nette pour plusieurs après 48 heures, négative pour deux seulement; les résultats de ces expériences sont données dans le tableau ci-après.

Les résultats obtenus avec les tubes d'agar nous montrent que dans cette algue existe une substance que Bact. coli attaque avec formation d'acidité; acidité évidemment en très faible quantité mais qui suffit pour que la réduction de la matière colorante puisse se faire, et par conséquent donner lieu au virage.

---

[1]) Comptes-Rendus Soc. biol., 1909, T. 66, p. 153.
[2]) » » 1909, T. 66, p. 154.
[3]) Revue d'Hygiène et Police Sanitaire, 1914, p. 143.

Ensemencement dans bouillon et agar neutralisés sans addition de glycose.

	Bouillon		Agar	
	Développement après 24 heures	Développement après 48 heures	Développement après 24 heures	Développement après 48 heures
Bact. coli 1	fluorescence légère	Tous les tubes présentent une coloration jaune rougeâtre avec fluorescence, le tube Coli P seul donne la coloration jaune canari.	+ faible	+
» 2	» »		fluorescence	+ faible
» 3	» »		+ faible	+
» 4	» »		+ faible	+
» 5	» »		fluorescence	fluorescence
» D	» »		+ faible	+ faible
» Z	0		fluorescence	fluorescence
» S	0		+ faible	+
» P	+		+ faible	+
» R	fluorescence légère		+ faible	+ faible

Ensemencement dans bouillon et agar neutralisés et additionnés de 1,5 ‰ de glycose.

	Bouillon			Agar		
	Réaction après 12 heures	Réaction après 24 heures	Réaction après 48 heures	Réaction après 12 h.	Réaction après 24 h.	Réaction après 48 h.
Bact. coli 1	+	Dans tous les tubes, forte fluorescence; la coloration jaune canari n'est pas si intense qu'après 12 heures, et moins nette; (dégagement de gaz).	Dans tous les tubes, forte fluorescence; la coloration jaune canari est remplacée par une teinte jaune rougeâtre (fort dégagement de gaz).	+ Dans la partie profonde des tubes, dégagement de gaz.	+ Dans la partie profonde des tubes, dégagement de gaz.	+ Dans la partie profonde des tubes, fort dégagem. de gaz.
» 2	fluorescence					
» 3	+					
» 4	fluorescence					
» 5	+					
» D	+					
» Z	+					
» S	+					
» P	+					
» R	+					

J'ai préparé un bouillon au Neutral-Rot suivant le mode de préparation donné par *Rochaix*[1]): Dans un demi-litre d'eau, on fait cuire 125 g de viande de bœuf; après refroidissement on ajoute: Peptone 10 g, sel marin 10 g; on ramène à 500 cm³ avec de l'eau, on fait bouillir de nouveau; puis après refroidissement et repos, on décante avec précaution et on ajoute 5 cm³ de solution de Neutral-Rot à 5 %; on réparti en tubes et porte à l'autoclave à 115° pendant 30'. La réaction de ce milieu est acide au papier de tournesol; j'ai ensemencé les germes des expériences précédentes. Comme le tableau ci-dessous l'indique, après 24 heures les tubes ne présentent qu'une fluorescence; ce n'est qu'après 48 heures d'incubation que deux d'entre eux virent au jaune canari. A quoi attribuer ces résultats négatifs? La réaction du milieu est acide; la première phase de la réaction, c'est-

[1]) Revue d'Hygiène, 1917, p. 480.

à-dire la réduction s'opère, mais la quantité d'ammoniaque formée est insuffisante pour neutraliser l'acidité naturelle du bouillon; le virage au jaune canari ne peut donc s'effectuer. En incorporant 0,8 % d'agar dans ce même bouillon, disposant le milieu incliné et en faisant l'ensemencement en surface et en profondeur, j'ai constaté que déjà après 24 heures tous les tubes ont présenté le virage. Je reviendrai plus loin sur les causes qui entravent la réaction dans un bouillon acide et qui au contraire n'ont aucune influence quand ce même bouillon renferme de l'agar.

Ensemencement de Bact. coli dans le bouillon et l'agar non neutralisés et non additionnés de sucre.

	Bouillon		Agar	
	Réaction après 24 heures	Réaction après 48 heures	Réaction après 24 h.	Réaction après 48 h.
Coli 1	légère fluorescence	Fluoresc. coloration jaune rougeâtre	+	+
» 2	0	» » » »	+	+
» 3	légère fluorescence	+	+	+
» 4	» »	Fluoresc. coloration jaune rougeâtre	+	+
» 5	0	» » » »	+	+
» D	fluorescence	+	+	+
» Z	0	Fluoresc. coloration jaune rougeâtre	+	+
» S	fluorescence	» » » »	+	+
» P	légère fluorescence	» » » »	+	+
» R	» »	» » » »	+	+

L'adjonction de glycose à la dose de 5 g par litre dans le bouillon au Neutral-Rot préconisé par Savage avait pour but de donner un caractère différenciel de plus dans la caractérisation de Bact. coli: la formation de gaz dans le milieu de culture. Or, d'après Rochaix, en présence de sucre le virage du Neutral-Rot peut faire défaut. En expérimentant avec 43 échantillons d'eaux renfermant du Bact. coli, cet auteur a constaté que la réaction du virage a été positive 27 fois avec du bouillon sucré, alors que le bouillon non sucré ne fut pas une seule fois en défaut.

J'ai préparé du bouillon et de l'agar au Neutral-Rot dans lesquels j'ai ajouté 1,5 g et 5 g par litre de glycose; les résultats sont donnés dans le tableau ci-après.

Comme on peut le constater dans le tableau ci-dessus, une proportion de sucre élevée, 5 g ‰ dans le bouillon empêche le virage tandis qu'elle est sans action si le milieu est solide.

Ces résultats obtenus avec le bouillon sucré confirment les expériences de *Rochaix* et indirectement les observations des expérimentateurs tels que *Sicre, Vincent, Segale* qui avaient constaté des variations chez Bact. coli dans le pouvoir de faire virer le bouillon de Savage.

Le phénomène s'explique facilement, il existe des races de Bact. coli faisant fortement fermenter les sucres et par conséquent développant beau-

coup d'acidité; cette dernière est trop élevée pour être neutralisée complètement par l'ammoniaque formée ultérieurement, d'où virage impossible.

Bouillon et agar neutralisés, additionnés de glycose.

	Bouillon		Agar		
Glycose ‰	1,5 g	5 g	1,5 g	5 g après 24 h.	5 g après 48 h.
Bact. coli 1	fluorescence	fluorescence	+ gaz et fluorescence	0 gaz	+
» 2	+	0 gaz	»	0 »	+
» 3	fluorescence	0 »	»	0 »	+
» 4	+	fluorescence	»	0 »	+
» 5	+	+	»	+	+
» D	+	fluorescence	»	+	+
» R	+	0 gaz	»	0 gaz	+
» Z	+	0 »	»	0 »	+
» P	+	0 »	»	0 »	+
» S	+	0 »	»	0 »	+

Comme Rochaix, j'ai pu constater que dans les bouillons sucrés, même à 1,5 ‰, la réaction jaune canari est fugace; après 36 heures elle est remplacée par une teinte jaune orangée.

Le tableau ci-dessus nous montre que si l'on fait les ensemencements en agar renfermant les mêmes proportions de sucre que le bouillon, les résultats sont différents, on obtient le virage dans tous les cas, et accompagné de production de gaz; en outre, après trois à quatre jours, la réaction est encore manifeste. Ces différences observées dans l'ensemencement en bouillon et en agar proviennent très probablement du fait que dans le bouillon il se produit beaucoup plus d'acidité que dans l'agar; c'est toute la masse de la matière colorante qui est transformée en une fois, tandis que dans l'agar les réactions se produisent par étapes, transformant le milieu parcelles par parcelles.

Ainsi, en ensemençant Bact. coli en surface et en profondeur dans l'agar au Neutral-Rot disposé incliné, on constate après 12—24 heures une formation de gaz dans le milieu, une coloration jaune canari typique dans l'eau de condensation, le plus souvent des traînées jaune canari au sein de la masse d'agar qui elle-même reste colorée en rouge avec légère fluorescence. A mesure que le développement des germes se poursuit, la coloration typique envahit la masse par degrés pour finir par la décolorer complètement.

En résumé, il résulte des expériences que je viens de décrire que l'utilisation des bouillons au Neutral-Rot sucrés ou non donne des résultats incertains pour le diagnostic de *Bact. coli*. Que le virage de la matière colorante étant sous la dépendance de deux facteurs, réduction en milieu acide, production d'ammoniaque; la plupart des résultats négatifs que l'on observe sont dus à une trop forte acidité du bouillon, incapacité pour les germes de produire de l'ammoniaque en quantité suffisante pour alcaliniser

le milieu. L'adjonction d'agar au bouillon obvie à ces inconvénients et permet dans tous les cas d'observer la réaction typique déterminée par *Bact. coli*.

L'agar sera préparé suivant la formule d'Oldekop, mais en ajoutant 0,6—0,8 % d'agar au lieu de 0,3 %.

La présence de 1,5 g ‰ de sucre dans l'agar permettra de constater en présence de Bact. coli la formation de bulles de gaz, on aura une réaction de plus à côté de la fluorescence et du virage.

Conclusions:

1° L'utilisation de l'agar sucré au Neutral-Rot préparé suivant la technique d'Oldekop pour le diagnostic de Bact. coli est à recommander de préférence aux bouillons qui donnent des résultats incertains.

2° L'ensemencement d'une eau potable dans l'agar au Neutral-Rot déterminant une fluorescence accompagnée d'une coloration jaune canari et éventuellement de formation de gaz, sera l'indice d'une pollution par des bactéries d'origine fécale.

3° Il est à désirer que les méthodes indiquées dans le « *Manuel suisse pour l'analyse des denrées alimentaires* » pour la recherche de *Bact. coli* dans les eaux soient remplacées par le procédé d'ensemencement sur agar au Neutral-Rot combiné éventuellement avec l'agar au Congo-Rot.

Ueber die auf der Milch beim Erwärmen und nachherigen Stehenlassen sich bildende Haut.

Von WILHELM MÜLLER.

(Aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes,
Vorstand: F. Schaffer.)

In letzter Zeit machten Gastwirte und Pensionsinhaber, die angeschuldigt waren, ihren Gästen abgerahmte Milch verabreicht zu haben, wiederholt zu ihrer Entlastung geltend, es handle sich bei den ihnen vorgeworfenen Manipulationen nicht um eine Entrahmung. Sie hätten vielmehr nur die manchen Gästen lästige Haut, die beim Kochen und nachherigen Stehenlassen der Milch auf derselben entsteht, entfernt.

Nach *Fleischmann* [1]) bildet sich schon bei einer Temperatur von etwas über 50° C. an der Oberfläche ruhig stehender Milch eine Haut, die aus geronnenem, kleine Mengen der übrigen Milchbestandteile einschliessendem Kaseïn und Albumin besteht und sich, so oft man sie entfernt, immer wieder erneuert. *Sommerfeld* [2]) schreibt in seinem Handbuch, die Hautbildung

[1]) *W. Fleischmann*, Lehrbuch der Milchwirtschaft (1908) S. 30.
[2]) *P. Sommerfeld*, Handbuch der Milchkunde (1909) S. 723.