proviennent des grains, il peut s'en ajouter qui proviennent du lait, quand ce dernier n'est pas convenablement stérilisé avant son ensemencement. Telle nous a paru être, dans certains kéfirs que nous avons analysés, une bactérie qui causait une viscosité assez grande pour empêcher le liquide de couler.

Après avoir réussi à isoler des grains et à entretenir séparément, en cultures rigoureusement pures, les ferments utiles, nous avons réussi également, en les mélangeant dans des proportions voulues, à préparer des levains, avec lesquels nous ensemençons du lait, stérilisé au préalable par un chauffage à près de 100° et réparti dans des flacons eux mêmes stérilisés à l'autoclave.

Dans ces flacons, une fois bouchés et placés dans une étuve automatiquement réglée, il s'élabore un kéfir remarquablement constant, ayant, croyons-nous, l'optimum de qualité désirable. Grâce à sa pureté bactériologique, il ne s'y manifeste ni dans le cours même de la fermentation, ni par la suite, aucun de ces ferments parasites qui, tôt au tard, ont chance de développer leurs effets nuisibles dans le kéfir obtenu directement avec les grains.

Assurément, cette dernière méthode d'obtention est plus simple à appliquer industriellement, mais celle que nous préconisons et qui s'inspire des techniques bactériologiques les plus rigoureuses, est celle qui donne dans la pratique les résultats les meilleurs et les plus sûrs. Ne vaut-elle pas la peine d'être mise en œuvre systématiquement, surtout quand il s'agit d'alimenter et de traiter des malades, malgré le supplément de travail et de soin qu'elle exige?

FORMATION D'ACIDE EN SYMBIOSE DU « BACT. BULGARICUM » ET DU « STREPTOCOCCUS LACTIS » DANS LE YOGHOURT, (1)

par Charles VAS,

Adjoint à la Station Nationale d'Essais de Laiterie de Magyarovár (Hongrie).

Il est facile de constater qu'un lait qui, sans aucune addition, a besoin pour se cailler spontanément de 18, 24 et même 36 heures, une fois bouilli et ensemencé à 45° C. avec quelques cm³ de Yoghourt, se coagule déjà au bout de 3 à 4 heures. En étudiant les conditions exactes dans lesquelles se produit la coagulation, on arrive vite à trouver la cause de quelques-uns des phénomènes constatés. Tout

(1) Traduction due à l'obligeance de M. C. WOLF.

d'abord, il ne faut pas oublier que, dans le premier cas, le lait est maintenu à une plus basse température que dans le second cas où on maintient à 40°-50° C., et que la température accélère non seulement les phénomènes purement chimiques, mais aussi les phénomènes biologiques. Les recherches de CNOFF (1), et de MARSCHALL (2) ont montré qu'une élévation de la température ne dépassant pas la température optimum, accélère la séparation et l'accroissement des microbes. En outre, RICHMOND et MILLER (3) ont montré que l'acidification du lait est plus active à haute température ; entre 15° et 35°C., tous les 10° C. un doublement du degré d'acidification a lieu, c'est-à-dire qu'à 35° il se forme, dans un temps donné, deux fois plus d'acide qu'à 25°. Enfin, grâce aux recherches de SCHWEITZER (4), nous savons qu'aux hautes températures, il faut moins d'acide pour précipiter la caséine qu'à une température plus basse.

Ce qui vient d'être dit suffit déjà à expliquer la coagulation plus rapide avec le Yoghourt. SÉVERIN (5) a toutefois trouvé, au cours de ses recherches que dans les cultures mélangées de *Strept. lactis* et de *Bact. bulgaricum*, l'acidification ne dépasse pas ou dépasse à peine celle obtenue dans les cultures pures de *Strept. lactis* et que le degré d'acidité ne commence à augmenter plus fortement que longtemps après, au bout de 9 heures, et même, dans les cultures pures de *Bact. bulgaricum* pures seulement, au bout de 15 heures.

Le résultat auquel est arrivé SÉVERIN ne concorde nullement avec les observations faites sur le lait au Yoghourt. J'ai donc cru qu'il valait la peine, d'une part, d'étudier l'importance du rôle des hautes températures dans la coagulation du lait et, d'autre part, de rechercher si la symbiose des microbes ne jouerait peut-être pas un rôle dans la coagulation rapide. On sait, en effet, aujourd'hui que, dans les cultures pures, les microbes se comportent souvent, au point de vue des manifestations vitales, tout autrement que dans les cultures mélangées. C'est ce qui fait dire aussi à MARSCHALL qu'autant l'étude des microbes dans les cultures pures nous renseigne sur la vie de ces microbes, autant nous apprenons peu sur leur rôle dans la nature, comme aussi nous ne pouvons pas étudier les tendances sociales humaines sur un homme arraché à la société et élevé isolément. C'est pourquoi il est très désirable de voir faire des recherches sur la symbiose, la métabiose et l'antagonisme des microbes.

Avant de parler de mes expériences, je dois encore mentionner les

(1) *Centralblatt für Bakter.*, Vol. 6, 1889.

(2) *Cit.* d'après les conférences de LÖNNIS, sur la Bactériologie agricole.

(3) LÖNNIS. — Manuel de Bactériologie agricole.

(4) *Ibidem.*

(5) *Centralblatt für Bakter.*, II, 1909.

recherches de BUDINOW (1) sur la multiplication du *Strept. lactis*. D'après lui, à la température ordinaire, et à partir de l'instant où se produit l'infection, a lieu une multiplication rapide, suivie toutefois au bout d'un certain temps d'une diminution du nombre des germes. L'augmentation du nombre des germes est tout d'abord rapide, mais devient ensuite de plus en plus lente. A 0°C., leur nombre reste longtemps invariable ; mais à la température ordinaire, la mort des germes fait des progrès assez rapides et, à 30°C., elle se précipite.

En ce qui concerne l'acidification, nous savons que celle-ci a lieu non pas simultanément avec le développement des bactéries, mais seulement après le laps de temps nécessaire à la production d'une quantité suffisante d'enzymes, c'est-à-dire après ce qu'on a appelé le stade d'incubation (SOXHLET). La durée de ce stade d'incubation varie suivant la race ou même la tribu, mais surtout suivant la température. A 17°,5C., elle est, par exemple, de 33 heures ; à 35°C., de 8 heures seulement. L'accroissement d'acidité est, au début, très lent, jusqu'à ce que soit atteint 27° Dornic ; puis l'acidité augmente beaucoup plus vite.

Au bout d'un certain temps, l'acide provoque le floconnement de la caséine. D'après les recherches de SOXHLET, le temps qui s'écoule jusqu'au début de la coagulation serait trois ou quatre fois plus long que le stade d'incubation.

Ce qui vient d'être dit s'applique aux microbes du groupe du *Strept. lactis*, qui se développent surtout à la température ordinaire. En ce qui concerne la manière dont les choses se passent dans le Yoghourt, on ne trouve, dans la littérature, rien d'autre que les indications erronées de SÉVERIN. Le but des essais dont nous allons parler était donc d'éclaircir ce point.

Pour ne pas trop m'écarter de la pratique courante dans la préparation du Yoghourt, j'ai pris, pour mes expériences, du lait complet bien bouilli. Le lait stérilisé se coagule plus rapidement et à une acidité moindre, comme on sait, par suite des modifications qu'ont provoquées en lui le chauffage. L'utilisation de lait stérilisé n'aurait donc fait que rendre plus difficile la comparaison avec le Yoghourt.

J'ai divisé le lait refroidi à 45°C. en portions de 10 cm³, et ensemencé avec 2 % de culture, pour une des séries d'essais. Dans une autre série d'essais, j'ai laissé, au contraire, le lait dans une bouteille maintenue au bain-marie à la température de 45°C. Dans la première série d'essais, j'ai toujours titré une éprouvette au bout d'un temps déterminé ; dans la seconde, j'ai pris le lait à titrer au moyen d'une pipette enfoncée dans un bouchon troué qui servait en même temps de fermeture à la bouteille. Cette dernière méthode fut reconnue la

(1) *Centralblatt für Bakter.* II, 1912, XXIV.

meilleure, ne serait-ce que parce qu'on n'avait pas à tenir compte du temps employé à la division en portions de 10 cm³. Le degré d'acidité était déterminé par la méthode DORNIC, dont 0,1 cm³ de lessive correspondait par conséquent à 1 mgr. d'acide lactique. Les degrés d'acidité s'appliquent à 10 cm³ de lait non dilué.

Pour dénombrer les germes, j'ai procédé par couches épaisses répandues sur plaques de gélose-petit-lait. Par suite de la forte aération, la formation de colonies était faible, mais on pouvait bien les dénombrer.

Au commencement, je suivais de près les cultures, tous les quarts d'heure ou toutes les demi-heures, pour voir comment elles se comportaient ; plus tard, je les ai observées à des intervalles de plus en plus longs, jusqu'à ce qu'il n'y eut plus à attendre de modifications. J'ai toujours opéré avec les cultures pures de *Strept. lactis* et de *Bact. bulgaricum* en même temps qu'avec des cultures mixtesensemencées par moitiés égales ($1 + 1 = 2 \text{ } \%$). J'ai voulu ainsi éliminer l'influence fréquente du sur-ensemencement ainsi que les différences d'activité provenant de la force des microbes et de la composition du lait. Comme il est d'usage dans la pratique de la préparation du Yoghourt, je n'ai laissé les cultures au bain-marie que jusqu'à ce que la coagulation ait commencé ; je les ai placées dans de l'eau à 18°-20° C., température à laquelle les cultures descendaient plus ou moins vite d'après leur volume, de sorte que l'augmentation du nombre de germes et l'augmentation du degré d'acidité étaient encore considérables.

*
* *

Considérons d'abord la manière dont se comportent les cultures pures de *Bact. bulgaricum* et de *Strept. lactis*.

***Streptococcus lactis* (Yoghourt).**

a) *Dénombrement des germes.*

Moment du dénombrement	Essai = II,a	Essai = III,a
Aussitôt après l'ensemencement.	2.039.000	1.020.000 germes
2 heures —	208.000.000	157.850.000 —
4 — —	540.000.000 (1)	270.000.000 — (2)
10 — —	1.200.000.000	285.000.000 —
20 — —	(accident)	230.000.000 —
30 — —	—	(envahi par des microbes sporogènes)
50 — —	—	220.000.000 germes

(1) Enlevé du bain-marie et placé à la température ordinaire.

(2) Dans le bain-marie à 15°C.

Le tableau (p. 628) ainsi indique que le *Streptocoque* du Yoghourt à 45° C. se multiplie rapidement dès le début, de sorte qu'au bout de 2 heures les germes sont 100 fois plus nombreux ; par contre, l'accroissement du nombre de germes ne sera plus tard que le double ou le triple dans le même laps de temps. Dans l'expérience III, il se manifeste une moindre vitalité de la culture, et, au bout de 4 heures, l'accroissement du nombre de germes n'est plus que très faible ; dans l'expérience II, l'accroissement est encore le même. Au bout de 10 heures, on ne peut plus percevoir d'augmentation du nombre de germes et, au bout de cinquante heures dans l'expérience III, ce nombre paraît même diminuer. La manière dont se comporte le *Strept. lactis* du Yoghourt diffère donc de celle du *Streptocoque ordinaire* du lait à 28°C. Ce dernier, d'après les recherches de BUDINOW, ne manifeste pas de fort accroissement avant la dixième heure et n'atteint son maximum que 24 heures plus tard, temps après lequel le nombre tombe en 4 heures à environ 2 millions. Malgré cet accroissement plus lent, le *Strept.* de BUDINOW a atteint un chiffre très supérieur (34 fois) à celui trouvé par moi. En voici l'explication plausible : dans les essais de BUDINOW, la température était constamment la température optimum ; par contre, dans mes essais, au bout de 4 heures, ou en y comprenant le temps du refroidissement, au plus tard au bout de 5 heures, la température atteignait le minimum ou même le dépassait. Il ne restait donc plus de temps pour un accroissement plus considérable.

b) Modifications de l'acidité.

Moment du Titrage	Degré d'acidité dans l'essai		
	I	II	III
Avant l'ensemencement.....	26,0	20,0	21,0
Aussitôt après l'ensemencement.....	28,0	20,0	
1/2 heure après l'ensemencement,...	30,0		
1 heure —	30,5	21,0	
1 h. 1/2 —	31,0		
2 heures —	31,5	21,0	25,0
2 h. 1/2 —	33,0		
3 heures —	34,5	29,5	
3 h. 1/2 —	39,5		
4 heures —	44,0 (1)	38,0	42,0
4 h. 1/2 —	47,5		
5 heures —	49,5	46,0 (1)	
5 h. 1/2 —	53,0		
6 heures —	56,5		

(1) Commencement de la coagulation.

Moment du Titrage		Degré d'acidité dans l'essai.		
		I	II	III
7 heures après l'ensemencement....	—	57,5		
8 —	—	58,0	48,0	
9 —	—	58,5		
10 —	—	58,0	48,5	49,0
11 —	—			
14 —	—	60,0		
15 —	—		50,5	
20 —	—	62,5	51,0	53,0
24 —	—	62,5		
25 —	—		51,0	
30 —	—	75,0	52,0	55,5
40 —	—	76,0	54,0	
50 —	—	76,0	56,0	57,0

Comme on peut le voir par le tableau, la durée de l'incubation pour le *Streptocoque* du Yoghourt est beaucoup plus courte que pour le streptocoque ordinaire du lait aigre (1 heure et demie, 2 heures 2 heures et demie seulement, au lieu de 18 à 24 heures). La ligne de l'acidité monte fortement, il manque le stade de la formation lente d'acide. Au bout de 5 ou 6 heures, la courbe se « casse » et descend à angle aigu, en s'attardant çà et là en courtes portions horizontales. Ce changement subit de direction de la courbe de l'acidité quelques heures après que la courbe du nombre de germes a fait de même, montre qu'il n'y a plus production en masse d'enzymes et que les microbes nés dans les dernières sont déjà au-delà de leur maximum d'activité.

L'alternance de parties horizontales et de parties ascendantes, surtout dans la dernière partie de la courbe trouve sans doute son explication dans le fait que, à certains intervalles, de nouveaux enzymes sont sans cesse mis en liberté par suite de la mort des cellules et qu'ils commencent à exercer leur action destructrice.

Il faut enfin admettre que, par suite de la diminution du nombre de germes, le degré d'acidité (voir expériences II et III), malgré les hautes températures du début qui accélèrent les fonctions vitales, ne peut jamais atteindre le chiffre que l'on trouve dans le même laps de temps pour le lait aigre (75 à 80° DORNIC).

Comme nous l'avons mentionné, SOXHLET a trouvé que la coagulation commençait après un temps 2 ou 3 fois plus long que le stade d'incubation, règle que suit également notre streptocoque. La coagulation commence, comme l'a établi SCHWEITZER, à un degré d'acidité inférieur au degré habituel (42-46° DORNIC, au lieu de 60-79°).

*
* *

Examinons maintenant comment se comporte dans les cultures pures le symbiote du streptocoque.

Bact. bulgaricum.

a) Nombre de germes.

Moment du dénombrement des germes	Nombre de germes dans l'essai	
	a. II	a. III
Aussitôt après l'ensemencement...	800.000	2.760.000
2 heures —	—	298.000.000
4 — —	113.000.000	2.733.000.000 (1)
10 — —	3.290.000.000	12.425.000.000
20 — —	6.244.000.000	3.160.000.000
30 — —	666.000.000	2.600.000.000
50 — —	478.000.000	1.200.000.000

Si nous comparons les deux colonnes, nous voyons avant tout que, dans l'essai II, pour une même quantité, il y a dans le lait $\frac{1}{3}$ de bactéries de moins que dans l'essai III, ce qui fait que, dans la première, le nombre maximum de germes n'est que moitié aussi grand. De même, dans cet essai, le maximum de multiplication n'est atteint que 10 heures plus tard, manifestement par suite de son lent refroidissement, et la diminution du nombre dans l'essai II a été plus lente que dans l'essai III. La durée de l'accroissement rapide a été constituée dans les deux cas par les 10 premières heures et plus particulièrement par les deux premières. A ce dernier point de vue, le *Bact. bulgaricum* se comporte donc exactement comme le *Streptococcus*, mais le stade préliminaire est beaucoup plus long. Une autre différence est que le *Bact. bulgaricum* atteint un nombre de germes de 4 à 6 fois plus élevé que le *streptocoque*, mais la diminution du nombre de germes, jusqu'à la 50^e heure, est aussi presque nulle dans le cas du dernier ; par contre, cette diminution se précipite chez le premier, de sorte que le dernier chiffre n'est plus que le douzième de la teneur maxima en germes. On voit par là que le lacto-bacille a mieux développé sa faculté de multiplication dans le même milieu et à la même température, mais que le lactocoque est resté beaucoup plus longtemps en vie, vraisemblablement parce que, comme nous le verrons tout-à-l'heure, il a produit beaucoup moins d'acide, ce dernier exerçant comme on sait, sur le microbe qui le produit, une action nuisible et même destructrice.

(1) Commencement de la coagulation.

b) *Manière dont se comporte l'acidité.*

Moment du Titrage	Degré d'acidité dans l'essai		
	I	II	III
Avant l'ensemencement.....	26,0	19,5	21,0
Aussitôt après l'ensemencement....	27,0	20,0	
1/2 heure après l'ensemencement..	27,0		
1 heure —	28,0	20,0	
1 h. 1/2 —	28,0		
2 heures —	29,5	20,0	28,5
2 h. 1/2 —	31,0		
3 heures —	33,5	26,0	
3 h. 1/2 —	37,5		
4 heures —	42,0 (1)	41,5 (1)	43,0 (1)
4 h. 1/2 —	46,5		
5 heures —	50,0	49,0	
5 h. 1/2 —	55,9		
6 heures —	61,0		
7 heures —	63,0		
7 h. 1/2 —		50,0	
8 heures —	65,0		
9 —	65,5		
10 —	66,0	52,0	50,0
12 —	69,0		
14 —	69,0		
15 —		55,0	
16 —	74,0		
18 —	76,5		
20 —	76,5	56,5	58,0
24 —	76,5		
25 —		57,0	
28 —	90,0		
30 —	96,5	60,0	63,5
40 —	96,0	64,0	
50 —	96,0	67,5	68,0

Des données ci-dessus, nous pouvons déduire que la durée de l'incubation du *Bact. bulgaricum* est la même que celle du *Streptocoque*, savoir : 1 heure 1/2 à 2 heures, 2 heures 1/2. Ensuite la courbe monte encore modérément 1/2 heure ou 1 heure, puis monte fortement pendant 5 heures et enfin retombe davantage ; elle se comporte donc, bien que d'une manière beaucoup plus typique, comme celle du streptocoque que nous avons déjà vue montrant une formation plus faible d'enzymes et dessinant des étages dans sa descente. En raison

(1) Commencement de la coagulation.

du manque d'activité plus lente du *streptocoque* dans la demi-heure ou l'heure qui suit l'incubation, la courbe d'acidité du *Bact. bulgaricum* reste en arrière, mais elle rattrape et croise bientôt l'autre par suite de la production plus abondante d'acide, qui est une conséquence d'une multiplication plus vigoureuse. Le croisement a lieu à la 4^e heure ; à partir de ce moment, la courbe du *Bact. bulgaricum* reste constamment au-dessus de celle du *Streptocoque* et arrive, par échelons, à la dépasser de 10 à 20° d'acidité. La coagulation est manifestement indépendante des propriétés inhérentes à l'espèce de microbe et se règle uniquement sur le degré d'acidité, sans parler de la qualité du lait. La preuve en est que, pour le lacto-bacille, la coagulation a lieu exactement comme pour le streptocoque quand cette acidité atteint de 42° à 43°.

*
**

Etudions la manière dont se comportent les deux microbes dans des cultures mixtes, c'est-à-dire dans le Yoghourt, pour voir quelle influence la symbiose exerce sur les processus vitaux des deux microbes.

Cultures mixtes.

a) Nombre de germes.

Moment du dénombrement des germes	Nombre de germes dans l'essai	
	a. I —	a. III —
Aussitôt après l'ensemencement....	1.920.000	6.000.000
2 heures après l'ensemencement...	72.400.000	335.030.000
4 — — —	1.112.000.000	3.584.000.000
10 — — —	5.200.000.000	34.000.000.000
20 — — —	8.590.000.000	28.100.000.000
30 — — —	5.000.000.000	12.600.000.000
50 — — —	4.100.000.000	11.800.000.000

Nous voyons que la multiplication est très active dans les premières heures, mais plus faible cependant, car nous ne voyons plus le nombre des germes centuplé en 2 heures. L'énergie de multiplication ne fléchit cependant pas et le nombre de germes atteint par suite, de la 10^e à la 20^e heure, un chiffre que nous n'avons pas encore vu ; elle atteint presque, en moitié de temps, la valeur de 36 milliards trouvée par BUDINOW pour le *Streptocoque* du lait aigre. La mort des germes prend, sans doute, des proportions plus considérables. De la 10^e à la 50^e heure, il en meurt 23 milliards ; mais si nous considérons le chiffre élevé de germes du début, cette diminution du nombre des germes ne paraît pas exagérée. Comme on l'a généralement observé

dans les cultures pures du *Bact. bulgaricum*, nous ne sommes pas non plus surpris qu'il se soit produit une augmentation, même à la température de la chambre pendant le refroidissement. En négligeant tous les détails, le résultat le plus important des essais est que la multiplication des germes est largement favorisée par la symbiose.

b) *Manière dont se comporte l'acidité.*

Moment du titrage	Degré d'acidité dans l'essai		
	I	II	III
Avant l'ensemencement.....	26,0	19,5	21,0
Aussitôt après l'ensemencement....	26,5	20,0	
1/2 heure après l'ensemencement...	29,5		
1 heure —	29,5	20,5	
1 h. 1/2 —	34,5		
2 heures —	40,0	21,0	31,0
2 h. 1/2 —	48,0 (1)		(1)
3 heures —	54,0	41,0 (1)	
3 h. 1/2 —	59,0	51,0	
4 heures —	60,5	59,5	64,0
4 h. 1/2 —	61,5		
5 heures —	64,0	61,0	
5 h. 1/2 —			
6 heures —	65,0		
7 heures —	66,5		
7 h. 1/2 —		61,0	
8 heures —	70,0		
9 —	72,5		
10 —	73,5	64,5	89,5
12 —	77,5		
14 —	79,0		
15 —		67,5	
16 —	87,5		
18 —	90,5		
20 —	90,5	67,5	
24 —	90,5		
25 —		69,0	99,0
28 —	100,0		
30 —	105,0	74,0	102,5
40 —	112,0	78,5	
50 —	115,0	83,0	105,0

La courbe d'acidité des cultures mixtes, après une courte longueur horizontale ou montant à peine, s'élève subitement, mais reste encore

(1) Commencement de la coagulation.

au-dessous des courbes des cultures pures des deux organismes en question. Tout à coup, sans faire d'angle brusque, elle dépasse les courbes des cultures pures, et reste toujours au-dessus d'elles et parallèle à la courbe du *Bact. bulgaricum*. D'après sa forme, la courbe, à partir de la 5^e à la dixième heure, constitue une courbe typique d'enzyme, à angles émoussés, comme on peut le voir dans le haut de la courbe. La hauteur maxima atteinte varie de 85 à 115° Dornic. Par suite de la rapide production d'acide, la coagulation

RECHERCHE I

commence au bout de 2 heures 1/2 à 3 heures à peine, contrairement à ce qui se passe dans les cultures pures. De plus, il faut noter le phénomène remarquable constitué par le fait que la plus grande quantité d'acide s'est encore formée dans le lait de l'essai I. Nous voyons en outre que, dans l'essai I, le lait utilisé pour l'ensemencement possédait le degré d'acidité le plus élevé, ainsi que dans l'essai III, contrairement à ce qui a lieu pour l'essai II, dans lequel pour cette raison, l'activité bactérienne a été de beaucoup la plus faible. Ce qui vient d'être dit peut être expliqué de la manière la plus

simple par les activités différentes des microbes, le degré d'acidité n'étant à vrai dire que la résultante de cette activité. Il est également aussi possible que les acides gras introduits dans le lait avec le produit d'ensemencement exercent, suivant leur quantité, une influence stimulante différente sur la division des cellules, et que, par conséquent, la teneur en acide ne doit pas être seulement considérée

RECHERCHE II

comme un symptôme, mais aussi comme une cause. A la suite des essais ci-dessus, on peut considérer comme démontré que la symbiose de deux microbes exerce sur leur activité bio-chimique une action stimulante, ce qui paraissait déjà vraisemblable après examen des résultats du dénombrement des germes. Mais autant cela est certain, autant l'on s'explique peu sur quoi repose véritablement cette action stimulante. Il n'est pas invraisemblable que les divers produits accessoires, les acides gras formés par le Streptocoque, stimulent le *Bact. bulgaricum*, et que ceux formés par lui excitent le *Streptococcus lactis* à une action énergique. Mais il peut aussi y avoir, ne fût-ce qu'en petite quantité, formation de produits de dédoublement de

l'albumine, qui, comme nous le savons par les recherches de KAYSER et d'ORLA JENSEN, sont avidement utilisés par les bactéries du lait aigre, et ceci est surtout vrai pour les substances analogues aux peptones. On peut donc aussi considérer comme aliment des microbes le lactate de caséine qui apparaît certainement dans les cultures. Mais ce ne sont là que des suppositions, et la tâche des chercheurs doit maintenant consister à changer ces hypothèses en certitude.

Mes essais ont donc pris fin avec les résultats attendus. Ils n'ont pas provoqué de déception comme ceux de SÉVERIN, qui avait trouvé une durée d'incubation de 6 heures, aussi bien pour les cultures du *Streptocoque* du Yoghourt que pour les cultures mixtes, tandis que, pour les cultures de *Bact. bulgaricum*, cette durée était de 9 à 10 heures, et qui avait en outre trouvé que la courbe d'acidité des cultures mixtes concordait avec celle du *Streptocoque*. Je crois voir la raison de ces étranges résultats dans le fait que SÉVERIN, d'une manière assez extraordinaire, maintenait ses cultures, non pas à la

température de la préparation du Yoghourt, mais à 30° C., température qui n'est pas éloignée du minima des microbes en question.

En résumé, mes essais ont démontré que la coagulation subite du lait Yoghourt provient, d'une part, de l'action physico-chimique de la température plus élevée, mais, d'autre part aussi, de la symbiose du *Bact. bulgaricum* avec le *Streptococcus lactis*, et que cette coagulation est un résultat de l'augmentation du nombre de germes et de la formation plus rapide d'acide qui s'ensuit.

PHÉNOMÈNES DE DIFFUSION DES CONSTITUANTS DU LAIT DANS UN GEL DE GÉLOSE,

par M. le D^r J.-J. VANDEVELDE,

Professeur à l'Institut agronomique Supérieure de l'Etat, à Gand.

Le lait centrifugé est tout à la fois une solution véritable et une solution colloïdale ; le lactose et les sels sont en dissolution vraie, tandis que les protéines constituent une phase dispersée ; le filtre classique de parchemin retient les lactoprotéines. J'ai cherché à établir comment un gel de gélose se comportait dans la diffusion des lactoprotéines, et j'ai constaté que si les substances solubles diffusent assez rapidement dans le gel, les protéines parviennent aussi à pénétrer dans ce gel. J'ai aussi constaté que la diminution de la concentration de certains constituants solubles ne modifie pas l'état colloïdal des lactoprotéines, et qu'il ne se produit pas de coagulation.

J'ai préparé un hydrogel de gélose à 3 % ; dans des fioles cylindriques de 4 cm³ de diamètre, j'ai d'abord introduit 25 cm³ du gel, et au-dessus 50 cm³ de lait centrifugé stérilisé auquel j'avais au préalable, pour assurer la conservation, ajouté 2 cm³ de formol à 40 % par litre. Après diverses périodes de repos à la température ordinaire, j'ai dosé dans le lait séparé par décantation, l'extrait par évaporation et les cendres par incinération ; le dosage du sucre a été fait par polarimétrie, celui de l'azote par la méthode de Kjeldahl, celui des phosphates par traitement des cendres par de l'acide nitrique et le molybdate d'ammonium, et enfin par la mixture magnésienne. Le nombre des fioles était suffisant pour pouvoir effectuer les dosages sur les quantités nécessaires de liquide. Les variations du volume des gels et des liquides surnageants étaient insignifiantes.

J'ai réuni dans le Tableau I les valeurs calculées sur les résultats obtenus, et ramenées à 100 cm³ de lait.