V. — CONCLUSION.

D'après les observations recueillies et précédemment relatées, il semble que l'on puisse formuler les conclusions suivantes :

1° La substitution totale du maïs ensilé à une ration de betteraves demi sucrières d'environ 40 kg. n'est pas possible, parce qu'elle entraîne la distribution d'une quantité trop forte d'ensilage, ce qui risque de provoquer avec une diminution fâcheuse de l'appétit des animaux, une réduction notable de la productivité laitière et beurrière. Il n'est pas prudent de distribuer aux vaches laitières plus de 20 kg. de maïs ensilé par tête et par jour.

2° L'alimentation à l'aide d'un mélange de maïs ensilé et de betteraves demi sucrières, effectué dans la proportion de 20 kg. de betteraves pour 20 kg. d'ensilage, constitue un excellent mode d'affouragement. L'emploi de l'ensilage de maïs permet donc de réduire environ de moitié la sole de betteraves demi-sucrières cultivée sur l'exploitation et destinée aux vaches.

3° L'alimentation à l'ensilage ne confère pas au lait une plus grande altérabilité autant qu'on en peut juger par la marche de l'acidification au cours des 24 heures qui suivent la traite.

4° Le passage du régime d'hiver au régime du pâturage provoque un accroissement manifeste de la production laitière et beurrière, même chez des vaches suffisamment alimentées avant la mise à l'herbe pour accroître leur poids vif de 500 grammes par jour. L'augmentation de production dont il s'agit a été au cours de nos essais de 10 % pour la production laitière et de 20 % pour la production beurrière.

(à suivre).

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MYCOLOGIE DU « KAJMAK »

Par M. le Professeur Dr LOUIS GUTSCHY

Directeur du Laboratoire de bactériologie à la Faculté d'agronomie de l'Université
à Zagreb (Yougoslavie)

(suite et fin)

III. BACTÉRIES.

I. Le bacille de *Kajmak VI*, nov. spec.:

Parmi les bacilles de la flore microbienne du *Kajmak*, il y a un qui nous intéresse tout spécialement et que nous avons désigné ici sous le nom de bacille du *Kajmak VI*. Ce bacille appartient au groupe des bacilles acido-présurigènes de GORINI et il est intéressant non seulement de constater sa présence permanente dans le *Kajmak*, mais aussi de connaître ses propriétés biologiques, qui le caractérisent comme un microbe de la maturation du fromage ainsi que nous allons le voir

dans les pages suivantes. On divise ordinairement les microbes lactiques en deux groupes : Au premier appartiennent les bacilles qui coagulent le lait par production d'acide et qui ne dissolvent pas, après la coagulation accomplie, le caséine précipitée. C'est le cas par exemple chez tous les bactéries lactiques vraies ou typiques (*B. lactis acidi* Leichmann, *B. bulgaricus*, *B. caucasicus* et *Streptococcus hollandicus*). Le deuxième groupe est composé des bactéries qui précipitent le lait à l'aide de la production de présure dans un milieu neutre ou faiblement alcalin et qui dissolvent après la caséine précipitée. Ici, appartiennent tous les bacilles du groupe des bacilles mésentériques, *subtilis* et *tyrothrix*, etc.

En dehors de ces deux groupes, il y en a un troisième qui réunit en soi les propriétés de l'un et l'autre groupe, c'est le groupe des *bactères acido-presurigènes* de GORINI. Dès 1890, le professeur C. GORINI (1) appela l'attention sur ce fait que le *B. prodigiosus* ne coagule pas seulement le lait par sa production d'acide comme on l'a cru auparavant généralement, mais qu'il produit aussi un ferment analogue à la présure. En continuant ses études aussi sur les autres microbes (*B. indicus*, *Proteus mirabilis*, *Ascobacillus citreus*, etc.), GORINI en 1894 (2) a créé la classe des bacilles présurigènes, qu'il a augmenté ensuite tout en lui attribuant un rôle important dans la maturation du fromage. En 1904, GORINI a décrit un bacille sporogène de ce groupe, semblable au bacille *subtilis*, isolé du fromage GRANA sous le nom de *B. acidificans presamigenes casei*. Plus tard, il a trouvé le même bacille dans le fourrage des silos et dans quelques autres produits laitiers. Au commencement, je croyais que notre bacille de Kajmak VI est identique avec celui de GORINI, mais quand j'ai eu plus tard l'occasion de comparer ces deux bacilles entre eux, je me suis convaincu que ces deux bacilles ne sont pas du tout identiques. Pour illustrer ces faits nous allons, dans les lignes suivantes, comparer ces deux bacilles en ce qui concerne leurs rapports morphologiques et physiologiques les plus importants afin de bien noter leurs différences.

Mais à côté de ce bacille il en existe encore un autre qui est, d'après mon avis, d'une importance spéciale. C'est le *Bacillus coagulans* de SANDELIN et BARTHEL, que ces auteurs ont isolé en 1919 (3) d'une crème altérée à Copenhague. Je pense que ce bacille est identique — malgré quelques petites différences, — avec mon bacille de Kajmak VI, et la chose est curieuse déjà de ce point de vue, que les auteurs danois n'ont réussi qu'une fois à trouver ce bacille, tandis que moi j'ai pu le trouver régulièrement dans toutes les recherches sur le Kajmak jeune.

(1) Studi sperimentali sul latte (Atti dei laboratori scientifici della direzione della sanità pubblica) Roma 1890.

(2) Sopra una nuova classe di bacteri coagulanti del latte (Giornale della R. Società Italiana 1894 Vol. XVI n° 4).

(3) Centrablatt f. Bakteriolog. Abt. II. Bd 49, N° 5/6 1919.

En considération de ce fait, que notre bacille appartient au groupe des bacilles non suffisamment décrits, nous pensons qu'il est nécessaire de l'étudier ici plus spécialement comme un microbe très caractéristique pour la flore microbienne du Kajmak.

1° Propriétés morphologiques et physiologiques du *B. de Kajmak VI*.

Notre bacille est très semblable à *B. subtilis* en ce qui concerne son aspect microscopique et culturel.

Dans les cultures jeunes, il représente des bacilles droits, pas longs, avec des extrémités arrondies, 3-4 μ de long. sur 0,8-1,0 μ de large. Il forme beaucoup des spores d'une forme ovale, qu'on peut très bien voir en cultivant le bacille sur la pomme de terre. Le bacille et les spores se colorent avec toutes les couleurs d'aniline. Une culture plus vieille (culture sur bouillon par exemple) colorée avec la fuchsine phéniquée ou d'après le procédé de MUCH, montre dans le protoplasme des granules métachromatiques au nombre de 2 à 3. Ces granules sont très caractéristiques pour notre bacille. Il se colore par le Gram. Le bacille est mobile et il possède des cils très fins disposés en manière péritrichique. Dans les préparations, on voit beaucoup de cils isolés. Le bacille de GORINI est beaucoup plus épais et plus long que le nôtre, et ordinairement sans spores.

Cultures. — Développement sur :

a) *Gélatine classique* (Peptone CHAPOTEAU : 1 partie + gélatine 10 p. + extrait aqueux de viande : 100 p.). Après deux jours à 20° C, on voit de petites colonies rondes, homogènes, opaques ; leurs contours sont entourés d'un fin chevelu. Le bacille liquéfie la gélatine énergiquement. Les colonies liquéfiées sont rondes, avec des contours très nets et elles montrent plus tard au fond des flocons volumineux.

b) *Gélatine de Jensen* (K_2HPO_4 : 2,0 + NaCl : 2,5 + $MgSO_4$: 1,0 + glucose : 10,0 + lactose : 10,0 + Peptone : 20,0 ad eau distillée : 1000,0)

Les cultures dans ce milieu sont très caractéristiques. Elles se composent d'un grand nombre de colonies très petites irrégulières qui sont posés les unes à côté des autres comme des petits flocons de ouate, et qui montrent ainsi un aspect semblable aux colonies du *B. proteus*. La surface de ces colonies est mate, grisâtre, les contours sont un peu granuleux. La liquéfaction de la gélatine est très lente ; après 20-25 jours on peut apercevoir à peine le commencement de la liquéfaction, la gélatine liquéfiée est claire et acide.

c) *Piqûre en gélatine* : Après 2 jours on voit que la gélatine a commencé à se liquéfier dans une forme cylindrique. La gélatine liquéfiée est trouble et contient un dépôt volumineux, blanchâtre, avec des granulations diverses. Ce microbe, cultivé dans des conditions d'anaérobiose, se développe beaucoup plus lentement. La liquéfaction

commence sous ces conditions à peine le 20^e jour. Notre bacille est donc un *anaérobie facultatif*.

d) *Piqûre en gélatine de Jensen* : Le bacille s'étend le long du canal en forme de petites granulations. Autour du canal, à la surface de la gélatine, on remarque des petites colonies dispersées. La liquéfaction ne commence pas avant le deuxième mois.

e) *Plaques de lacto-agar*. Après 24 heures à 37°, ces plaques ont l'aspect suivant : Toute la surface d'agar est comme semée des petits flocons d'ouate, sans éclat, mats et peu transparents. L'aspect est semblable à celui des plaques gélatineuses. Les contours des colonies sont un peu épais.

f) *Piqûre en lacto-agar*. Après deux jours, on voit autour du canal de la piqûre une colonie grise, matte, ronde qui se développe concentriquement. Ses bords sont au commencement nets et peu transparents, plus tard ils sont irréguliers et granuleux, et le canal lui-même offre une texture granuleuse. Après 14 jours, la colonie prend une couleur jaune qui devient de plus en plus foncée, pour devenir brun-chocolat. L'agar prend aussi une couleur brune. Ce changement de couleur du milieu de culture est très caractéristique pour les cultures sur agar et sur pomme de terre. Il s'effectue très vite, spécialement sur agar de MAKRENOFF (duquel nous parlerons plus loin) et on peut l'y constater déjà après 2-3 jours.

g) *Pomme de terre* : Sur ce milieu, notre bacille se développe sous la forme d'un dépôt éclatant, blanchâtre, un peu visqueux, qui s'étend très vite sur toute la surface. Le dépôt prend ensuite l'aspect granuleux, mais la surface reste brillante tout en devenant jaune, puis plus tard brune. Cette couleur prend ensuite la pomme de terre entière, comme nous l'avons dit déjà. A température plus basse, le dépôt devient ordinairement visqueux en rappelant ainsi très vivement les cultures du *B. mesentericus*. A côté de cela, il y a encore une autre propriété qui rappelle ce dernier bacille : C'est la formation de petites gouttes fines d'eau sans couleur sur la surface grasse du dépôt. Ces gouttes, qui se forment à la température ordinaire, confluent plus tard en gouttes plus grandes qui tremblent sur le dépôt comme des gouttes de rosée.

h) *Bouillon ordinaire* : (Bouillon de viande + Peptone 1 %, sel marin 0,5 %). Le premier jour, le bouillon est également troublé, puis il commence à s'éclaircir, tandis qu'à la surface il commence de se former une pellicule fine, qui couvre toute la surface et qui tombe au fond si nous secouons l'éprouvette. La réaction du bouillon est alcaline à la phénolphthaléine, correspondant à 0 cm³ 3 de H₂ SO₄ n/10 par 10 cm³ du bouillon après 40 jours.

i) *Lacto-bouillon et bouillon de Jensen* : Ces bouillons, au commencement troubles, puis clairs ensuite, donnent lieu aux observations suivantes :

1° Jamais on ne peut apercevoir la formation d'une membrane sur la surface du bouillon.

2° Leur réaction est toujours acide. La même chose se produit aussi pour le bouillon glucosé. L'acidité était après 40 jours équivalente à 2 cm³ 5 H₂ SO₄ n/10 pour 10 cm³ du bouillon à 37°.

k) *Lait* : Dans les éprouvettes ordinaires le lait coagule à 37° après 24-30 heures. Le coagulum séparé est fixé sur les parois des éprouvettes où il se contracte et devient à cause de cela de plus en plus dense et dur en occupant ainsi un volume progressivement plus petit. Pendant les premiers jours après la coagulation, le petit lait est un peu trouble, mais plus tard il s'éclaircit complètement. Jamais on ne peut voir l'apparition d'un voile sur le petit lait. Le petit lait est au commencement sans couleur, alors que le coagulum est d'une couleur blanche. Plus tard le coagulum prend une couleur jaune et le petit lait devient jaune-verdâtre. L'odeur du lait caillé est celle d'un lait acide, très agréable. Le développement de l'acidité est donnée par le tableau suivant :

TABLEAU XIV

Développement de l'acidité avec B. de Kajmak IV en degrés Thörner à la température de 37° C.

Jours	Acidité d'après Thörner	Remarques	Jours	Acidité	Remarques
1	24,0°	Commencement de la coagulation			Etat inaltéré.
2	26,3°	Coagulation complète	40	90,0°	
3	30,0°		44	87,8°	
4	34,8°	Le coagulum exprime un peu de petit-lait	50	85,0°	
6	42,3°		82	76,5°	
8	51,0°	Beaucoup de petit-lait	88	72,4°	
13	54,0°		92	70,0°	
19	74,0°	Le coagulum est contracté	98	62,6°	
23	85,0°		102	58,2°	
27	95,5°	La contraction est très forte	106	55,0°	
34	92,6°		110	45,0°	
			120	42,9°	(Voir le graphique)

Acidité du contrôle : 16° Thörner

Ce tableau est très instructif à plusieurs points de vue : 1° le développement de l'acidité nous montre qu'il s'agit en notre cas d'un bacille lactique atypique : Nous voyons que sans une stade d'incubation l'acidité monte jusqu'à 95,5° Thörner après 27 jours pour tomber alors assez lentement à 42,9°, allure que nous considérons comme

DÉVELOPPEMENT, DANS LE LAIT, DE L'ACIDITÉ DUE AU B. DE KAJMAK VI.

typique seulement pour tous les pseudo-bactéries lactiques. Plus tard, nous verrons encore des autres signes, qui caractérisent notre microbe comme un représentant de ce groupe.

2° En deuxième lieu, nous voyons que la coagulation du lait est complète à 26-27°, correspondant à 0.24 % d'acide lactique. En supposant que la coagulation avec de bonnes races actives du bacille de LEICHMANN se fait avec 0.5 % d'acide lactique correspondant à 70-80° d'acidité, nous constatons que notre bacille provoque la coagulation du lait à un degré beaucoup plus bas. L'explication de ce fait réside en ce que, dans notre cas, nous avons une action synchrone de l'acide et de la présure, propriété caractéristique de tous les bacilles acido-présurigènes.

2° B. de Kajmak vis-à-vis des composés protéiniques et hydrocarbonés.

Pour étudier ces questions de biochimie, je me suis servi du milieu nutritif de MAKRIKOFF (4). Ce milieu synthétique représente un grand progrès dans l'étude des questions des bacilles lactiques en général, parce qu'il donne la possibilité d'étudier l'action d'un microbe sur les différents groupes des composés organiques et de connaître ainsi leurs propriétés biochimiques, ce qui est le critérium le plus exact pour la classification des microbes en laiterie. Comme la composition de ce milieu n'est pas généralement connue je la donne ici :

A l'eau ordinaire, on ajoute 10 % ou 15 % d'orge et on cuit ce mélange jusqu'à l'apparition d'une réaction très faible d'amidon (iode et iodure de potassium). L'extrait ainsi préparé ne contient pas de traces de sucre ni d'albumine, ce qui est très important. A cet extrait, on ajoute les composés suivants :

K_2HPO_4	0,05 %
$Mg SO_4$	0,05 %
$(AzH_4) Mg PO_4$	1,5 %
Manganopeptone	0,1 %
Peptone	0,2 %
Sucre de lait	3,0 %
$CaCO_3$ (craie)	0,2 %

Ce bouillon représente non seulement un excellent milieu pour tous les microbes lactiques comme : *B. lactis acidi* LEICHMANN, *B. bulgaricus*, etc., mais il permet aussi d'étudier les rapports d'un microbe avec un composé déterminé.

A. Relations avec les composés protéiniques. — Dans ce but je me suis servi d'un extrait d'orge, non pas de 15 % comme à l'ordinaire, mais seulement de 2 %. Les divers composés azotés sont ajoutés

(4) J. MAKRIKOFF : « Molokoi molotchnoe delo », Leningrad 1924. (en russe).

dans la proportion de 0,2 %. Dans ces circonstances, la multiplication et la production d'acide servent comme témoin de la prospérité relative du microbe en présence des divers composés azotés. Comme criterium de l'influence de ces divers composés sur le développement du microbe, je me suis servi de deux données :

1° De la quantité d'acide formé, exprimé en degrés THÖRNER.

2° De la multiplication des microbes, contenues dans un anse de platine. Cette multiplication est exprimée selon les conventions suivantes N° 1 signifie le nombre de 100-200 colonies sur la plaque, n°10 signifie le nombre de 3.000-4.000 colonies, tous les autres nombres se trouvent entre ces deux limites. Voilà les résultats obtenus pour notre bacille et celui de GORINI :

TABLEAU XV

a) *B. de Kajmak VI.*

	Multiplication	Acidité d'épreuve	Acidité du contrôle
1. Contrôle	0	5,0	5,0
2. Albumine	6-7	18,0	7,0
3. Caséine	8	14,0	5,0
4. Peptone	9	26,0	7,0
5. Asparagine	3-4	10,0	9,0

b) *B. de GORINI*

	Multiplication	Acidité d'épreuve	Acidité de contrôle
1. Contrôle	0	5,0	5,0
2. Albumine	3-4	13,0	7,0
3. Caséine	7-8	17,5	5,0
4. Peptone	9	18,5	7,0
5. Asparagine	2	5,0	9,0

Le milieu le plus favorable pour la nutrition azoté de notre bacille est : peptone, albumine et caséine ; l'asparagine donne des résultats négatifs.

B. *Relations de B. de Kajmak VI vis-à-vis des divers hydrocarbonés.*

Au lieu d'un extrait d'orge de 2 % comme auparavant, je me suis servi dans ce cas d'un extrait de 15 % d'orge. Les composés hydrocarbonés ci-dessous ont été ajoutés dans la proposition de 0,5 %. Voilà les résultats :

TABLEAU XVI

a) *B. de Kajmak VI.*

	Multiplication	Acidité d'épreuve	Acidité de contrôle
1. Contrôle	8,0	16,0	5,5
2. Amidon	8,0	5,0	8,0
3. Insuline	8,0	5,0	8,0

	Multiplication	Acidité d'épreuve	Acidité de contrôle
4. Dextrine.....	6-7	6,5	8,0
5. Lactose.....	3,0	5,5	7,0
6. Saccharose.....	8,0	12,0	7,0
7. Glucose.....	9	19,0	7,0
8. Lévuiose.....	9	9,0	7,0
9. Maltose.....	7-8	14,0	7,0
10. Mannite.....	3-4	5,0	7,0

b) B. de GORINI

1. Contrôle.....	7-8	13,5	7,0
2. Amidon.....	8	10,0	8,0
3. Insuline.....	8	19,0	8,0
4. Dextrine.....	4-5	6,0	8,0
5. Lactose.....	8	5,0	7,0
6. Saccharose.....	8	9,5	7,0
7. Glucose.....	8	10,0	7,0
8. Lévuiose.....	8	14,0	7,0
9. Maltose.....	7	6,0	7,0

De ces tableaux, on voit que les milieux les plus favorables pour le B. de Kajmak sont : le glucose, le saccharose et le maltose, tandis que le bacille de GORINI attaque assez énergiquement aussi : l'insuline et l'amidon, ce que le B. de Kajmak VI ne fait pas. Remarquons encore que dans tous ces processus fermentatifs, il n'y a pas production de gaz. On voit aussi que malgré la faible production d'acidité (Kajmak VI) avec l'amidon et l'insuline, la multiplication dans ces milieux est très bonne.

3^o Rapports existants entre l'action fermentative du B. de Kajmak VI et les sucres.

Dans ce but, je me suis servi de petits matras remplis de bouillon MARTIN, auquel j'avais additionné divers sucres au taux de 1,0 %. Après 14 jours, j'ai déterminé le sucre quantitativement d'après la méthode de BERTRAND. J'ai constaté, que dans les solutions avec le glucose, le sucre était disparu complètement, tandis que dans les solutions avec le saccharose, le lactose et le maltose, la disparition était seulement incomplète, et dans les solutions avec le glycérine et la mannite on ne peut pas constater aucune altération. Voilà quelques résultats :

TABLEAU XVII

	Glucose		Lactose	
	Acidité	Résultat	Acidité	Résultat
Contrôle.....	0,6°	0,96 gr.	0,5°	0,92 gr.
Kajmak VI.....	16,0°	0,00 »	15,0°	0,792 »

TABLEAU XVIII

Rapports dans le lait après 60 jours (37° C.).

	Acidité (Thörner)	Lactose (anhydre) dans 1000 cm c.	Sucre fermenté en %
Contrôle	16°	4,825 gr.	
Kajmak VI	79°	1,725 »	65 %
Gorini	186°	2,425 »	49 %

4° B. de Kajmak VI et le lait.

Après ces constatations, j'ai essayé de démontrer l'action de notre bacille sur le lait, spécialement sur les composés protéiniques. Dans ce but, j'ai pris des ballons de la capacité d'un litre environ, remplis avec 500 cm³ de lait stérilisé (stérilisation fractionnée) etensemencé avec une culture pure de microbe de Kajmak VI. En même temps, j'ai fait parallèlement des ballons semblables avec le bacille de GORINI, et en dehors de cela des ballons additionnés de craie. Les ballons ainsiensemencés ont été mis à l'étuve à 37° après qu'on les avait bien secoués de temps en temps. Au bout de deux mois, on les a soumis à une analyse plus détaillée. Cette analyse s'étendait aux composés suivants :

1° *Azote total G-N.* (Signification d'après JENSEN) dosé par la méthode de KJELDAHL.

2° *Azote soluble L-N.* Sous ce nom, je désigne ici spécialement l'azote qui est contenu dans la partie liquéfiée du lait, c'est-à-dire dans la partie liquide sans caséine.

3° *Azote aminé Z-N.* C'est-à-dire l'azote détruit, qui ne précipite pas avec l'acide phospho-tungstique. La détermination de cet azote a été faite d'après la méthode de SÖRENSEN (Titration avec formol).

4° *Azote ammoniacal A-N.* Le dosage d'ammoniaque a été exécuté d'après la microméthode de LECLÈRE et YOVANOVITCH (5) et à cause du contrôle d'après la méthode de van SLYKE et la méthode à la cloche de SCHLÆSING. Les résultats obtenus par ces méthodes ont été les suivants :

TABLEAU XIX

Action du B. de Kajmak VI et du B. de Gorini sur le lait avec et sans craie.

	Azote total dans 100 cm. c. G-N.	Azote soluble dans 100 cm. c. L-N.	Azote aminé dans 100 cm. c Z-N.	Azote ammoniacal dans 100 cm. c. A-N.
Contrôle	596,4 mg.	97,60 mg.	4,0 mg.	traces
B. de Kajmak VI sans craie.	400,40 »	190,12 »	12,0 »	12,0 »
B. de Kajmak VI avec craie.	584,30 »	228,70 »	15,0 »	15,0 »
B. de Gorini	571,20 »	196,24 »	30,8 »	30,8 »

En % de l'azote total :

	Azote soluble L-N.	Azote aminé Z-N.	Azote ammoniacal A-N.
Contrôle	16,40 %	0,68 %	—
B. de Kajmak VI sans craie	67,14 %	31,14 %	2,00 %
B. de Kajmak VI avec craie	98,10 %	38,00 %	2,5 %
B. de Gorini	95,80 %	32,90 %	5,17 %

En % de l'azote soluble :

	Azote aminé Z-N.	Azote ammoniacal A-N.
Contrôle.....	4,00 %	—
B. de Kajmak VI avec craie	47,45 %	2,98 %
B. de Kajmak VI avec craie	39,00 %	2,60 %
Bacille de Gorini.....	34,35 %	5,38 %

Dans ces tableaux, nous voyons entre autre que plus de la moitié de l'azote est représentée sous la forme d'azote soluble (chez les bacilles lactiques typiques cela fait seulement 30-33 %) et que de celui-ci la moitié est faite de composés aminés. L'hydrolyse des protéines ne se fait donc pas d'après le type pepsinique, mais elle est beaucoup plus profonde, puisqu'elle pousse jusqu'au terme final ammoniacal. (Voir plus loin). Avec le B. de GORINI la chose se passe un peu autrement.

6° Recherches sur la production des produits secondaires chez le B. de Kajmak VI et le B. de Gorini.

Les filtrats du lait coagulé ont été réunis dans un ballon, acidulés et soumis à la distillation d'après KIROFF (6) pour la détermination des produits acides volatils. A un volume du liquide déterminé (acidulé avec un peu d'acide chlorhydrique à 10 %), on ajoute de l'eau distillée jusqu'à 300 cm³ (pour obtenir une solution acide à 1-2 %). De ce volume, on distille 100 cm³. Après on ajoute de nouveau 100 cm³ d'eau au liquide, et on distille de nouveau 100 cm³. Cette opération est répétée quatre fois ; on a ainsi un volume de 400 cm³ qui contient une solution de tous les acides volatils. Dans ces solutions on détermine les acides d'après la méthode de DUCLAUX. Voilà un exemple :

Fraction I	1,0 cm ³ de Ca (OH) ₂
» II	1,9 » »
» III	2,8 » »
» IV	3,8 » »
» V	5,7 » »
» VI	6,7 » »
» VII	6,7 » »
» VIII	7,7 » »
» IX	9,0 » »
» X	10,6 » »

(6) Cité d'après OMELIANSKY dans son traité de Microbiologie pratique. Leningrad 1923.

Comme on voit, les nombres vont en croissant, c'est dire qu'il s'agit de l'acide formique et de l'acide acétique. Une série de réactions spéciales affirme cette constatation. Avant tout, une détermination des acides volatils d'après AGULHON nous démontre qu'il n'y a pas d'acides propionique, butyrique, valériannique et caproïque.

1. Acide formique	très abondant.
2. » acétique	positif (pas beaucoup).
3. » butyrique	pas présent.
4. » propionique	id.
5. » valériannique	id.
6. » caproïque.....	id.

Le résidu retenu après la distillation des alcools et des acides volatils est employé pour l'examen des acides lactique et succinique. On démontre l'acide lactique à l'aide de la réaction de HERZOG et DENIGÈS (7) et l'acide succinique à l'aide de la réaction du pyrrol. Le résultat était pour les deux acides nettement *positif*. Le même procédé était utilisé avec la culture de B. de GORINI. Voilà les résultats comparatifs :

B. de Kajmak VI		B. acidif. presamig, casei Gorini	
1. Alcool	positif	1. Alcool	négatif
2. Aldéhyde	négatif	2. Aldéhyde	négatif
3. Acide formique.....	très positif	3. Acide formique.....	négatif
4. Acide acétique.....	positif	4. Acide acétique.....	positif
5. Acide butyrique	négatif	5. Acide butyrique	négatif
6. Acide valériannique ..	négatif	6. Acide valériannique ..	positif
		7. Acide capronique ...	positif
7. Acide propionique ..	négatif	Acide propionique ..	négatif
8. Acide lactique	positif	8. Acide lactique	positif
			(faible)
9. Acide succinique ...	très positif	9. Acide succinique ...	très positif

Ce tableau nous montre la différence évidente qui existe entre nos deux bacilles.

La réaction de l'indol était dans l'un et l'autre cas, négative, la réaction de l'acide oxalique aussi.

D'après les données de SANDELIN et BARTHEL, leur microbe, le *B. coagulans*, ne forme pas d'acide lactique. Les auteurs danois admettent ceci comme très caractéristique pour leur microbe. Ce serait alors une différence entre nos deux microbes. Mais en ce qui concerne l'acide lactique, j'ai pu faire cette observation que la quantité de l'acide lactique change et qu'il est soumis à un processus destructif. De cela il résulte qu'on peut trouver l'acide lactique une fois seulement en traces ou peut-être pas du tout, là où il était auparavant à des doses notables.

(7) DENIGÈS : *Bulletin Soc. Chimique de France*, 5, 647 (1909).

RÉSUMÉ

1° Du Kajmak, j'ai pu isoler un microbe spécifique très semblable au *B. subtilis* et qui appartient au groupe des bacilles pseudolactiques. Voilà les raisons sur lesquelles je m'appuie :

a) En dehors de la formation d'acide lactique, il y a encore une formation d'alcool et de divers acides organiques.

b) L'hydrolyse des corps protéiques va jusqu'à la formation d'acides organiques divers, de corps aminés et d'ammoniaque, ce qui n'est pas le cas avec les bactéries lactiques vraies.

c) Notre bacille n'agit pas seulement sur les mono- et disaccharides, à 6 ou 12 atomes de carbone comme les bactéries lactiques vraies, mais aussi sur les polysaccharides et l'acool (exemple : alcool éthylique).

d) Notre bacille décompose l'eau oxygénée ; les bacilles lactiques vrais ne le font pas.

e) Le développement de l'acidité est très caractéristique : l'acidité monte, sans un stade d'incubation, jusqu'à un certain degré, pour baisser en suite lentement à un degré d'acidité plus bas.

f) Notre microbe pousse bien aussi sur les milieux où les microbes lactiques typiques ne poussent pas, comme par exemple : peptone-bouillon, pomme de terre, etc. Le développement sur ce dernier milieu est spécialement très caractéristique par la couleur brune qu'il donne à celui-ci.

g) La réaction, lors de coagulation du lait, est d'une acidité faible ; plus tard le coagulum est liquéfié et peptonisé. La coagulation commence avec 24° Thörner, qui correspond à 0,216 % d'acide lactique. De cela, nous concluons que la coagulation ne peut s'effectuer seulement à l'aide de l'acide, mais aussi par l'action d'un autre agent qui est la présure. En un mot, nous voyons qu'il s'agit dans notre cas d'un microbe acido-présurigène de GORINI.

3. Notre microbe n'est pas identique au *B. acidificans presamigenes casei* de GORINI. A côté des différences morphologiques et physiologiques il en est d'autres que nous procure la culture dans le lait. Elles visent l'hydrolyse des composés azotés et la production des composés secondaires.

D'après mon avis, notre bacille est identique au *B. coagulans* de SANDELIN et BARTHEL, malgré quelques petites différences (prétendues plutôt) et la chose est intéressante spécialement de ce point de vue, que les auteurs danois ont eu seulement une fois la chance de trouver leur microbe dans une crème altérée, tandis que dans le Kajmak par exemple notre microbe n'est pas du tout rare.

4. Finalement, ajoutons que j'ai essayé de faire des fromages à l'aide des cultures pures de ce microbe, en combinaison avec *B. casei* E. Le résultat a été très encourageant. La maturation du fromage se développa dans une direction très favorable et le produit avait un très bon goût et une bonne odeur.