sphériques isolées ou rarement réunies en grappes. Ces masses sont de volume variable mais généralement beaucoup plus fines que la moyenne des éléments anguleux des poudres Hatmaker.

Les microphotographies jointes à cette étude permettent de se rendre compte très exactement de ces différences d'aspect particulièrement précises. On voit que, grâce à cet examen, on peut déceler avec facilité des mélanges constitués à l'aide de ces deux sortes de poudres.

Cet aspect microscopique des poudres de lait correspond parfaitement bien à l'idée que l'on pouvait s'en faire en songeant à leur mode de préparation : la poudre Hatmaker est fournie par le broyage d'un film fin (plaquettes déchiquetées) ou plus épais (blocs d'allure cristalline). Les poudres solubles proviennent du séchage instantané de fines gouttelettes liquides, évidemment sphériques, dont la forme est conservée dans la matière sèche.

Cet examen permet également de retrouver la nature de la poudre employée dans un mélange de produits pulvérulents où la recherche chimique du lactose avait permis de supposer la présence de lait en poudre.

* * *

En résumé, les caractères les plus nets et les plus faciles à mettre en évidence pour distinguer les poudres Hatmaker fines des poudres solubles sont : l'essai qualitatif de solubilité et l'examen microscopique à faible grossissement.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA BACTÉRIOTHÉRAPIE LACTIQUE (1) Ferments lactiques et laits fermentés

par

ALEXANDRE NEUKOMM

Dr. ès-sciences,

Chef des Laboratoires de Contrôle

Nestlé and Anglo-Swiss Condensed Milk Co., Vevey (Suisse).

On sait que la bactériothérapie est le traitement de certaines affections par des cultures microbiennes ou par l'extrait de celles-ci. Suivant les cas, l'extrait ou les cultures elles-mêmes, vigoureuses, atténuées ou mortes, seront injectés, appliqués (pansements, pulvérisations) ou administrés par voies naturelles.

La bactériothérapie lactique, qui est avant tout une bactério-

(1) Extrait du Volume Jubilaire Louis E. C. DAPPLES, édité par « Nestlé & Anglo-Swiss Holding Co. Ltd. », 1937, Vevey, Suisse.

thérapie intestinale, a recours à des cultures pures ou pures-mixtes, vigoureuses, généralement à base de lait modifié, artificiellement ou pas, et prises *per os*. Ces cultures étant sièges de processus fermentaires bien définis, déterminés, comme PASTEUR l'a déjà montré vers 1857, par des bactéries connues sous le nom générique de *ferments lactiques*, associées ou non à des levures, sont caractérisées principalement par leur acidité, par un clivage partiel des protides du lait, et parfois par leur teneur en alcool.

Les vertus thérapeutiques des microorganismes cités étant dans le cas présent étroitement liées à leur pouvoir ferment, nous nous attarderons quelque peu, avant d'aborder la bactériologie et la description des laits fermentés, sur le mécanisme intime de la transformation du lactose et de la dégradation des protides.

Lors de la fermentation lactique, les réactions successives débutent sous l'influence de la lactase de BERTRAND par l'hydrolyse du sucre de lait et la formation de deux molécules d'hexose,

qui est suivie de celle de l'hydrate de méthylglyoxal à partir des monoses ayant passé par le stade hexoséphosphates biologiquement attaquables :

Sous l'action de la glyoxalase de DAKIN ou de la cétoaldéhydomutase de NEUBERG, l'hydrate de méthylglyoxal se transforme à la suite d'une oxydation intramoléculaire du groupement aldéhydrique et une réduction du groupement cétonique en acide lactique stable :

D'autre part, les levures pouvant être associées aux ferments lactiques vrais, comme c'est le cas pour le kéfir ou le koumis par exemple, après avoir transformé par oxydation intramoléculaire et déshydrogénation le méthylglyoxal hydraté en acide pyruvique :

engendrent, sous l'influence d'une carboxylase, de l'acétaldéhyde et du gaz carbonique libre :

et enfin de l'alcool éthylique grâce à une aldéhydomutase et à l'hydrogène formé sous III' :

cependant qu'une faible partie de l'acétaldéhyde suivra la réaction de CANNIZZARO aboutissant à la formation de l'alcool et de l'acide acétique :

La fermentation lactique, tout en dominant quantitativement l'action des ferments sur les protides du lait, ne doit faire oublier celle-ci, car si l'acide lactique formé joue un rôle fondamental en bactériothérapie considérée, la prédigestion d'une fraction de la caséine et de l'albumine du lait facilitera le clivage pepsique de ces derniers. Les recherches de GORINI, de BERTRAND et WEISWEILLER, de SUPPLEE, de HUCKER, ont prouvé que les ferments lactiques doivent être considérés comme étant des acidoprotéolytes. La dégradation des protides en albumoses, polypeptides, peptides, acides aminés, peut donc se manifester partiellement, tout comme lors de la digestion gastrique, durant la fermentation lactique. Cependant, ce pouvoir protéolytique des ferments varie d'une espèce à l'autre, et est favorisé par les températures basses [9], par une longue incubation et une lente acidification du lait. En outre, les protides d'un lait stérilisé à des températures trop hautes et ayant acquis une couleur brunâtre seront plus difficilement clivés que ceux d'un lait frais soigneusement tyndalisé ayant conservé sa teinte naturelle [10]. Généralement, comme l'a montré CORMINBŒUF dans son beau travail [5], les laits fermentés ne renferment guère plus de 15% de leurs protides sous une forme soluble mais, fait important à noter, ils sont plus facilement digérés que les laits non aigris [27]. Ainsi, en considérant le degré de clivage pepsique *in vitro*, on constate que ces laits, « comparativement au lait frais, possèdent des coefficients de digestibilité supérieurs de 28 à 50% quand la concentration en acide chlorhydrique atteint le taux qu'on considère comme moyen pour un estomac normal, et supérieurs de 45 à 50% lorsque la concentration correspond à celle rencontrée généralement dans les cas de dyspepsie hypochlorhydrique » (CORMINBŒUF, *loc. cit.*).

Bactériologie des laits fermentés

Nous avons fait remarquer plus haut que la bactériothérapie lactique avait recours à des cultures pures ou pures-mixtes. L'étude

bactériologique de ces cultures (yaourt, kéfir, babeurre, etc.) révèle une flore spécifique comprenant notamment des Bactériacées, des Coccacées et des levures. En résumant les caractères essentiels de ces microorganismes, nous avons utilisé, en ce qui concerne les ferments lactiques vrais, la terminologie d'ORLA-JENSEN [15, 24, 26] dont la classification est de plus en plus employée.

A. Groupe des bactéries « longues » de la fermentation lactique.

Ce groupe comprend les genres *Thermobacterium*, *Streptobacterium*, *Betabacterium* et *Microbacterium* dont font partie plusieurs espèces se retrouvant soit dans le yaourt, soit dans le kéfir, ou encore dans le lait *acidophile*. Tous ces genres possèdent, en commun, certains caractères : ce sont des bâtonnets anaérobies facultatifs ne produisant jamais de spores, immobiles, et prenant le Gram.

Dans le genre *Thermobacterium* (syn. *Plocamobacterium* Loewi), ORLA-JENSEN classe des bâtonnets de longueur variable (jusqu'à 15 μ), pouvant former dans de vieilles cultures de vrais filaments dépassant parfois 50 μ et produisant aux dépens du lactose de l'acide lactique lévogyre ou inactif, sans quantité notable de produits secondaires. Remarquons qu'il semble qu'après l'hydrolyse du lactose, seul le glucose serait transformé en acide lactique, le galactose restant intact dans le milieu [34]. La température optima nécessaire au développement de ces germes est de 38° à 43° C. (minimum 22° C., maximum 55° C.) et leur croissance se manifeste plus rapidement en anaérobiose qu'en présence de l'oxygène. Ce genre comprend notamment deux ferments isolés du yaourt : le *Th. bulgaricum* Jensen (syn. *Lactobacillus bulgaricus*, Bacille granuleux de Luerssen et Kühn, *Th. granulorum* L. et N.) et le *Th. yoghourtii* (ou jugurt) Jensen (syn. *Bacillus bulgaricus* Grigoroff). Pour ORLA-JENSEN, la différence entre ces deux espèces réside surtout dans le fait qu'on observe dans le *Th. bulgaricum* de nombreuses granulations méta-chromatiques (volutine) colorables par le Neisser et que l'on ne retrouve pas dans le *Th. yoghourtii*. Il semble en outre que le premier de ces microorganismes ne pourrait produire dans le lait plus de 1,7% d'acide lactique lévogyre, tandis que le second en formerait jusqu'à 3% d'acide racémique. Aujourd'hui, après KUNTZE, on a tendance à considérer le *Th. yoghourtii* comme une race acorpusculaire du *Th. bulgaricum* [18] ou même à n'en faire pas de distinction du tout [16]. Nos propres observations nous ont également démontré que la formation des grains de volutine ne doit pas être considérée comme un caractère constant, car elle est fonction des milieux de

cultures utilisés, de la température d'incubation et de l'âge du microorganisme. Quant aux taux d'acidité, que n'importe quel ferment lactique en général peut atteindre, ils sont éminemment variables, non seulement d'un genre à l'autre, mais même pour telle ou telle souche d'une espèce donnée. En outre, il ne faut pas oublier, comme l'a montré GORINI [8], que le métabolisme des ferments lactiques peut présenter, à côté des variations lentes et transitoires, des modifications brusques, spontanées et transmissibles, et que le pouvoir saccharolytique de telles souches sera grandement influencé par cette mutation.

Fig. 1. — *Th. bulgaricum*. Culture de 24 heures sur lait écrémé. Coloration au May-Grünwald-Romanovsky-Giemsa. Gross. 1350. Original.

Fig. 2. — *B. acidophilum*. Culture de 24 heures sur lait écrémé. Coloration au bleu de méthylène phéniqué. Gross. 1350. Original.

Le genre *Streptobacterium* comprend des bâtonnets de dimensions variables, mais généralement groupés en chaînettes, longues ou brèves. Deux espèces faisant partie de ce genre, à savoir le *Sbm. plantarum* et le *Sbm. casei* (*B. casei* α), seraient présentes dans les grains de kéfir. La température optimale nécessaire à leur développement est située vers 30° C. (minimum 10° C., maximum 40-45° C.). Le *Sbm. plantarum* produit de l'acide lactique inactif et fermente plus activement le saccharose et le maltose que le lactose. Le *Sbm. casei* donne de l'acide lactique droit, en attaquant plus facilement le lactose que les autres bioses.

Le genre *Betabacterium* ne comporte qu'une seule espèce pouvant présenter un intérêt pour nous, étant isolée des grains du kéfir. C'est le *Bbm. caucasicum* qui ne fermente pas le lactose en dehors du kéfir. C'est une bactériacée assez polymorphe, dont les articles peuvent être courts ou longs, droits ou incurvés. Son optimum de croissance se trouve vers 28° C. et le minimum au-dessous

de 50° C. A côté de l'acide lactique inactif qu'il produit, il forme également du gaz et quelques autres sous-produits, notamment de l'acide succinique.

Fig. 3. — Yaourt. Coloration au Gram. Gross. 1350. Original.

Les espèces du genre *Microbacterium*, contrairement aux micro-organismes déjà cités, produisent de la catalase et réduisent les nitrates. Ce sont des bâtonnets assez grêles, se développant entre 10 et 37° C. (optimum 30° C.) et formant de l'acide lactique droit. Nous citons ce genre uniquement parce que, d'après ORLA-JENSEN, le *B. acidophilum* Morosera serait une race du *Mbm. lacticum* présent fréquemment dans le lait et les fromages. Le *B. acidophilum* (syn. *Lactobacillus acidophilus*), que l'on trouve normalement

dans les selles du nourrisson ou d'un sujet adulte, au régime lacté, est un bâtonnet renfermant habituellement des granulations métachromatiques se développant mieux en anaérobiose qu'en présence d'oxygène, et dont certaines races ne se distinguent guère morphologiquement des ferments du yaourt. Contrairement à ces derniers, il fermente le maltose et le saccharose. Sa température optimale de croissance est située vers 37° C. Certaines souches de ce microorganisme sont thermorésistantes, de sorte qu'il peut parfois être retrouvé dans le lait pasteurisé. Il est le seul agent de la fermentation du « lait acidophile ». D'après nos observations, il existe des formes de ce ferment qui ont plus d'affinité avec les espèces de genre *Thermobacterium* et qui pourraient être classées parmi eux.

A la suite des organismes énumérés, il est nécessaire de citer le *B. bifidum* Tissier, qui constitue à lui seul la presque totalité de la flore intestinale normale d'un enfant au sein. C'est un anaérobie strict, immobile, pouvant fermenter le glucose, le galactose, le fructose, le maltose, le lactose, le xylose, l'arabinose et parfois le saccharose, en produisant, outre l'acide lactique droit, des quantités notables d'acide acétique [28].

B. Groupe des bactéries cocciformes de la fermentation lactique.

Ce groupe comprend les genres *Streptococcus*, *Betacoccus* et *Tetracoccus*. Ce sont des coccacées se divisant suivant un ou deux

plans de l'espace, immobiles, anaérobies facultatifs, prenant le Gram, ne produisant pas de spores, pouvant former des chaînettes, être disposés par paires (diplocoques) ou former des tétrades. Les genres *Betacoccus* et *Tetracoccus* ne comportent aucune espèce pouvant présenter un intérêt en bactériothérapie, n'étant utilisés pour la préparation du yaourt ou autres laits fermentés.

Fig. 4. — *Str. lactis*. Culture de 24 heures sur lait écrémé. Coloration au Gram. Gross. 1350. Original.

Le genre *Streptococcus* englobe les ferments se divisant suivant un plan et formant des chaînettes plus ou moins longues. Les espèces qui nous importent sont le *Str. thermophilus* Jensen, le *Str. lactis* Lister, et le *Str. cremoris*.

Le *Str. thermophilus*, dont l'optimum de croissance est situé entre 40 et 45° C. (minimum 5° C., maximum 50° C.), forme d'habitude des chaînettes de 4 à 10 articles, et fermente le lactose en produisant de l'acide lactique droit (environ 0,5%). Il est utilisé en symbiose avec les ferments bulgares pour la préparation du yaourt dans le but d'aromatiser ce dernier et d'accélérer la fermentation lactique, car on sait aujourd'hui [36] que le *Str. thermophilus* et le *Th. bulgaricum* exercent des actions stimulantes réciproques.

Le *Str. lactis* (syn. *Str. acidi-lactici* Grotenfeld, *B. lactis-acidi* Leichmann, *B. Güntheri* L. et N., *Bacillus lacticus* Kruse, *Bacillus acidi-paralactici* Kozai) se présente sous l'aspect de cocci ovalaires,

légèrement lancéolés, de 0,5 à 1 μ , groupés par deux ou en courtes chaînettes. Il produit, aux dépens du lactose, de l'acide lactique droit (environ 0,5%) et son optimum de croissance est habituellement situé vers 30° C. C'est un des agents les plus répandus de la fermentation du lait, de sorte qu'on le retrouve dans presque tous les laits spontanément aigris. Il est également employé en industrie laitière pour la préparation du babeurre en poudre.

Fig. 5. — Grains de Kéfir. *Original.*

Le *Str. cremoris* forme habituellement de belles chaînettes, produit de l'acide lactique droit (jusqu'à 0,7%), à partir du lactose, et son optimum de croissance est situé vers 28° C. Cultivé à basse température (10 à 18° C.), il est surtout utilisé pour l'acidification de la crème destinée au barattage, et se retrouve par conséquent dans le babeurre ordinaire.

A part les microorganismes cités, et lors de l'emploi en thérapeutique de laits ayant subi, outre la fermentation lactique, une fermentation alcoolique, tels le kéfir ou le koumis, un certain nombre d'autres germes étrangers aux ferments lactiques sont à considérer. Malheureusement, la microflore de ces produits n'est pas aussi nettement définie et connue que la flore du yaourt, du babeurre et du lait acidophile. Elle doit en outre présenter une certaine variabilité suivant l'origine de la boisson, dont une fraction du lactose est transformée en acide lactique, alcool et gaz carbonique, et dont les protides ont subi une dégradation assez accentuée. Nous ne décrirons par conséquent, et en prenant pour exemple le kéfir, que les ferments isolés en cultures pures et ayant servi aux différents auteurs à la préparation synthétique, tant soit peu réussie, de ce produit [3].

Les premiers travaux relatifs à la bactériologie du kéfir sont dus au naturaliste russe KERN (1881), qui décrit une levure et un bâtonnet (*Dispora caucasica*) et à BEIJERINCK (1889-1902), qui isole les organismes suivants :

1° *Torula kéfir* Heinze et Cohn (syn. *Saccharomyces kéfir*) produisant, aux dépens du lactose, de l'alcool et du gaz carbonique et qui serait, pour cet auteur, l'agent primordial de la fermentation du kéfir.

2° *Lactobacillus caucasicus*, bâtonnet immobile, ne produisant pas de spores, formant des colonies cartilagineuses sur de la gélatine au petit-lait, et prenant vraisemblablement part à la formation naturelle des grains de kéfir.

Un peu plus tard (1897), FREUDENREICH distingua dans le kéfir 4 microorganismes :

1° Une levure de forme ovoïde, de $3.5 \times 2.3 \mu$ en moyenne, ne fermentant pas le lactose et ayant son optimum de croissance situé vers 22° C. Cette levure ne formant pas d'asques doit être classée dans le genre *Torula* [12].

2° *Streptocoque A*, très polymorphe et dont l'aspect en chaînettes ou en diplocoques, ou encore en gros cocci, dépend des milieux de culture. Ce streptocoque confère au lait l'aspect caractéristique du kéfir en l'acidifiant et en produisant un peu de gaz.

3° *Streptocoque B*, dont les éléments sont groupés par paires ou en chaînettes brèves. Il dédouble le lactose, et permet ainsi d'attaquer ce sucre par la levure, qui ne produit pas de lactase.

4° *Bacillus caucasicus*, qui acidifie légèrement le lait sans le coaguler, le rend un peu astringent et produit des quantités minimes de gaz. C'est un bâtonnet de $5.6 \times 1 \mu$, aux extrémités arrondies contenant fréquemment un corpuscule brillant ; il est peu mobile et ne forme pas de spores. Son rôle dans la fermentation du kéfir n'est guère élucidé et l'on suppose qu'il favorise surtout la formation des grains. FREUDENREICH aurait du reste réussi à obtenir du kéfir sans son concours, n'utilisant que les trois premiers germes mentionnés.

Pour NICOLAIEWA (1907), la flore du kéfir se compose de :

1° *Torula ellipsoïdea* n'attaquant pas le lactose, et n'ayant qu'un rôle d'accélérateur dans la fermentation de la boisson. Ses cellules mesurent $6.9 \times 3.4,5 \mu$.

2° *B. Güntheri* (syn. *Str. lactis* Jensen) décrit précédemment.

3° *Torula kéfir*, se présentant sous forme de cellules rondes, de 3.4μ de diamètre, fermentant le lactose.

4° *Bacillus caucasicus*, qui est un bâtonnet fin, souvent incurvé, immobile, ne produisant pas de spores et coagulant le lait sans production de gaz.

Pour cet auteur, les deux derniers microorganismes suffiraient, à eux seuls, à la préparation du kéfir.

Par contre, d'après KUNTZE (1908), un plus grand nombre de germes seraient nécessaires pour l'obtenir synthétiquement ; ce sont :

1° Levures (7 sortes !) formant de l'alcool, favorisant le développement des autres microorganismes et régularisant le processus de la fermentation.

2° *B. lactis aerogenes* Escherich (syn. *B. acidi-lactici* Hüppe), produisant aux dépens du lactose de l'acide lactique et de l'acide acétique, des traces d'alcool et de gaz. Il ne prend généralement pas le Gram, est immobile, ne forme pas de spores.

3° *Bacillus esterificans* Massen, bâtonnet sporulant, formant de l'alcool et acidifiant légèrement le lait.

4° *Bacillus kefir*, bâtonnet du groupe des ferments butyriques, sporulant, attaquant énergiquement les protides du lait, sans coagulation préalable, et en alcalinisant légèrement le milieu.

5° *B. lactis-acidi* Leichmann (syn. *Str. lactis* Jensen), décrit précédemment, mais dont la présence dans le kéfir ne semble pas être indispensable.

Pour KUNTZE, il y aurait d'abord dans le lait un début de fermentation butyrique rapidement entravé par une fermentation lactique.

Plus récemment (1924), SANCHEZ [32] aurait préparé du kéfir à partir de :

1° Plusieurs ferments lactiques comprenant un streptocoque qui peptonise légèrement la caséine et deux diplocoques producteurs d'arôme.

2° Une levure formant, aux dépens du lactose, du gaz et un peu d'alcool.

3° Un bacille coagulant la caséine et la dégradant par la suite. Il ressemble, morphologiquement, au *B. subtilis*, mais acidifie légèrement le lait et ne donne pas de voile sur milieux liquides.

Enfin, dernièrement (1935), WOJTKIEWICZ [40] dit avoir obtenu du kéfir satisfaisant en utilisant des cultures pures de *Str. lactis*, de *Sbm. plantarum*, d'une *Torula* et d'une bactériacée peptonisant la caséine et faisant partie du groupe du *Proteus* (*B. vulgare* L. et N.).

Il ressort de cet aperçu que depuis les premières recherches de KERN (1881) et de BEIJERINCK (1889-1902), la bactériologie du kéfir n'a guère progressé, et qu'une nouvelle étude de sa microflore s'impose. Il nous a paru cependant utile de résumer brièvement les travaux effectués, pour faire ressortir d'une part la complexité de la microflore des laits ayant subi des fermentations multiples,

et expliquer d'autre part l'action bactériothérapique plus ou moins nette des kéfirs ou koumis de diverses provenances.

Laits fermentés

La plupart des laits fermentés, avant d'être introduits en bactériothérapie moderne, ont été connus et utilisés comme aliments depuis fort longtemps, notamment par les habitants de la péninsule balkanique, de l'Asie Mineure, de l'Egypte et du sud de l'Italie. En outre, certains d'entre eux, tels le yaourt et le lében, étaient déjà considérés, en médecine ancienne, comme possédant des vertus spécifiques. CORMINBŒUF (*loc. cit.*) a eu la curiosité de consulter, à ce sujet, un traité arabe paru en l'an 633 de l'Hégire « La Grande Explication du Pouvoir des Eléments et de la Médecine », d'ABU MAHOMET ABDULLAH BEN AHMED, et a trouvé que, déjà à cette époque, on considérait que par exemple le lében, qui est un lait fermenté de l'Egypte et du Liban, « *fortifie l'estomac, guérit la diarrhée, donne l'appétit, régularise la température du sang, purifie les humeurs, rend le sang plus fluide, et donne à la peau, aux lèvres et aux muqueuses, un teint de fraîcheur et de santé* ». D'autres autorités médicales de l'antiquité professaient des opinions à peu de chose près identiques et l'on remarque que certaines de leurs assertions sont encore exactes aujourd'hui.

Le lait fermenté préparé en Turquie et dans les Balkans sous le nom de *Yaourt*, *Yoghourt*, *Yo-ourt* ou *Kissélo-Mleko*, peut dériver du lait de vache, de chèvre ou de bufflesse. Pour l'obtenir, on réduit d'habitude le volume du lait par une ébullition lente, dans des chaudières en cuivre chauffées à feu nu. On transvase ensuite ce lait dans des récipients peu profonds, on le maintient à 80° C. durant une heure environ [33] et, après l'avoir réparti dans des tasses ou bols et refroidi à 40-45° C., on l'ensemence avec un levain provenant d'une préparation antérieure et désigné suivant les endroits sous le nom de « maya », de « sakwaska », etc. La température d'incubation est maintenue constante par des moyens de fortune (fourrures, lainages, etc.), protégeant les récipients qu'en Turquie on place par rangées dans des caisses remplies de paille [31]. La fermentation est terminée en 4-10 heures et le produit se présente sous forme d'une gelée possédant un arôme et un goût aigrelets caractéristiques.

Industriellement, on prépare aujourd'hui le yaourt en utilisant du lait de vache pasteurisé, homogénéisé ou pas, mais habituellement concentré aux deux tiers de son volume, ou additionné de poudre de lait [4, 23], afin de conférer au coagulum une consistance plus ferme et un arôme plus fin. Ce lait, réparti dans des pots ou verres, estensemencé à 40-45° C. avec un ferment bulgare

(*Th. bulgaricum*) cultivé en symbiose avec le *Str. thermophilus*, le rapport entre les bâtonnets et les cocci devant être dans un bon yaourt de $\frac{100}{120-200}$ [39]. L'incubation à la température précitée dure 3-5 heures, c'est-à-dire jusqu'au moment où le produit titre environ 1 % d'acide lactique. Naturellement, le taux d'acidité pourra monter par la suite si le yaourt n'est pas conservé, avant sa consommation, dans un endroit frais. Voici à titre d'exemple l'accroissement de l'acidité totale, calculée en % d'acide lactique, dans les yaourts entreposés à différentes températures, durant une semaine.

Yaourt	— 4° C.	20° C.	28° C.	37° C.
	%	%	%	%
1	1,53	1,94	2,00	2,23
2	1,40	1,62	1,69	1,94
3	1,19	1,55	1,62	1,76
4	1,04	1,40	1,49	1,58
5	1,26	1,42	1,53	1,73
6	1,58	2,36	2,45	—
7	1,60	1,94	2,36	—
8	1,34	1,93	2,61	2,88

Pour interpréter correctement les chiffres cités, il faut tenir compte de ce que l'accroissement de l'acidité est non seulement fonction des températures, mais également de l'âge du yaourt au début de l'essai, de sa microflore, de sa composition dont voici d'autre part quelques analyses :

Yaourt	1	2	3	4	5
	%	%	%	%	%
Matière grasse	7,58	5,37	4,13	2,98	0,40
Matières protéiques	4,99	4,66	—	—	—
Matières minérales	0,89	1,01	—	—	—
Lactose	6,12	6,32	—	—	—
Acide lactique	1,53	1,34	1,28	1,23	1,34

Le premier de ces yaourts a été préparé avec du lait concentré additionné de crème, le second à partir d'un lait partiellement évaporé, le troisième et le quatrième dérivent de laits normaux plus ou moins riches en matière grasse, et enfin c'est du lait écrémé qui constitue la matière originelle du cinquième, ce dernier étant plutôt une spécialité diététique qu'un yaourt proprement dit.

Le lait fermenté des bergers hongrois — le *Tarho* — ainsi que le

Gioddù de Sardaigne, ressemblent beaucoup au yaourt, tant par leur microflore que par leurs propriétés organoleptiques. Ainsi, le *B. sardous* Grixoni du Gioddù est proche parent du *Th. bulgaricum* (c'est vraisemblablement une race du *Th. helveticum* Jensen, syn. *B. casei* ε Freudenreich), et le ferment cocciforme qui lui est associé serait le *Str. lactis*, appartenant par conséquent au même groupe que le *Str. thermophilus* du yaourt.

Par contre, le *kéfir*, très répandu en Russie méridionale, est un lait de vache, de brebis ou de chèvre, ayant subi, outre la fermentation lactique, une fermentation alcoolique. Les agents de cette double fermentation, qui ont été passés en revue précédemment, sont véhiculés par les « grains de kéfir » (Millet du Prophète) ayant l'aspect de choux-fleurs miniatures dont le substratum est composé principalement par de la caséine. Pour obtenir du kéfir, on procède, en Russie, d'après BOUOUNOFF [3], de la façon suivante : recouvrir les grains de 40 à 50 fois leur poids de lait bouilli, refroidi, et placer le récipient à une température de 15 à 20° C. durant 24 à 36 heures, tout en remuant le lait assez fréquemment. Ce temps écoulé, les grains de kéfir montent à la surface du liquide, qui s'épaissit, aigrit et mousse légèrement. On sépare le levain-mère des grains par filtration sur tamis et on l'ajoute à raison d'un volume pour 4 volumes de lait bouilli et refroidi. On répartit ensuite le mélange dans des bouteilles qu'on ne remplit qu'aux trois quarts, et que l'on place, pour 24 à 36 heures, à une température de 15 à 20° C., en ayant soin de les agiter de temps en temps. La boisson ainsi obtenue est du kéfir « jeune », lequel, gardé dans un endroit frais durant 2 à 3 jours, constituerait le kéfir « moyen » et le kéfir « fort ». Voici d'après BOGOLUBOW (BOUOUNOFF, *loc. cit.*) la composition de ces trois boissons :

Durée de la fermentation	24 heures	48 heures	72 heures
	%	%	%
Matière grasse	3,62	3,63	3,63
Matières protéiques	3,06	3,08	3,07
Lactose	2,78	2,24	1,67
Acide lactique	0,76	0,83	0,90
Alcool	0,63	0,81	1,10
Eau et matières minérales	89,15	89,41	89,63
	100,00	100,00	100,00

En préparant du kéfir à domicile, on peut naturellement se contenter de la première opération décrite, car le levain-mère, incubé plus ou moins longtemps, et séparé des grains, constitue

déjà du kéfir. C'est du reste la méthode préconisée par l'Institut bactériologique de Kiel et qui donne de très bons résultats, à la condition expresse d'avoir à sa disposition des grains de kéfir bien actifs.

Remarquons en passant que le kéfir est beaucoup plus digestible que le lait; FOUASSIER [7] cite à ce propos les résultats suivants obtenus par GILBERT et CHASSEVANT :

250 grammes de	Séjournent dans l'estomac pendant
Lait pur cru	7 h. $\frac{1}{2}$
Lait pur bouilli	7 h.
Lait pur écrémé bouilli	5 h.
Kéfir gras	4 h. $\frac{1}{2}$
Kéfir écrémé	3 h. $\frac{1}{2}$

Le *leben* ou *laben raïb* (boisson de la vie), qui se prépare au Liban et en Egypte, ressemble au kéfir; le lait bouilli et refroidi, utilisé pour sa préparation, subit en effet, sous l'influence d'un levain nommé « robb », également une double fermentation lactique et alcoolique qui s'effectue à 30-35° C. Les levures qui provoquent cette dernière, à savoir le *Mycoderma lebenis* Rist et Khoury, et le *Saccharomyces lebenis* Rist et Khoury, n'attaquent pas le lactose directement; ce sucre doit subir au préalable une hydrolyse par des agents de la fermentation lactique, le *Bacillus lebenis* Rist et Khoury, le *Streptobacillus lebenis* Rist et Khoury (syn. *B. lebenis* Löhnis) et le *Diplococcus lebenis*. Le premier de ces microorganismes est proche parent du *Bacillus caucasicus* de Freudenreich, le second semble être identique au *Th. bulgaricum* et le diplocoque ne serait autre que le *Str. lactis* Jensen. Le *leben* peut être consommé tel quel ou servir à la préparation d'une sorte de fromage frais, le *lébné*, obtenu par simple égouttage du coagulum [11] et renfermant naturellement toute la flore énumérée que l'on retrouve partiellement dans le yaourt et le kéfir.

Ceci est aussi vrai pour le *Mazun*, dont l'agent de la fermentation lactique, le *B. mazun* Düggele, serait, d'après KÜHNÉ, identique au *Th. bulgaricum*. Ce lait fermenté d'Arménie, au caillé de consistance ferme, peut être consommé tel quel ou comme boisson après avoir été dilué avec de l'eau.

Citons encore le *koumis*, lait fermenté de jument ou d'ânesse, qui est une boisson très répandue parmi les Tatars de la Russie méridionale, les Kirghiz de l'Oural et les Kalmouks de la Mongolie. Sa flore microbienne se compose normalement du *Th. bulgaricum*, du *B. lactis-acidi* Leichmann, et d'une *Torula* [2]. L'arôme particulièrement fin et la consistance très fluide de certains koumis doivent être attribués au clivage des protides du lait sous l'influence

d'une race fortement protéolytique du *B. lactis-acidi* décrite sous le nom de *B. Orenburgii* Horowitz-Wlassowa.

Voici, d'après FLEISCHMANN [6], la composition d'un koumis vieux de 6-8 jours :

	%
Matière grasse	1,274
Matières protéiques	1,913
Matières minérales	0,293
Lactose	1,253
Acide carbonique libre et combiné	0,876
Alcool	1,850
Acide lactique	1,006
Eau	91,535
	100,000

Quant au *lait acidophile* (Reform-Yoghourt) très répandu aux Etats-Unis, c'est un lait de vache entier, partiellement ou totalement écrémé, pasteurisé et fermenté par adjonction d'une culture pure (2%) du *B. acidophilum* Moro (syn. *Mbm. lacticum* Jensen). La fermentation s'effectue à 37° C., et dure généralement 12 à 18 heures. Un bon produit doit avoir une consistance crémeuse et ne contenir, au moment de sa consommation, guère plus de 1% d'acide lactique, car ce dernier a une action néfaste sur ces organismes. Par conséquent, pour assurer au *B. acidophilum* une viabilité de 2-7 jours, l'acidité initiale du lait ne devrait dépasser 0,65%. Le *B. acidophilum* est en outre parfois utilisé en Amérique pour la préparation du yaourt, dont la saveur est malheureusement moins agréable que celle d'un yaourt normal. Enfin, récemment, on a tenté de l'employer dans la fabrication du cheddar [20], dans la préparation du kéfir [29] et de l'incorporer aux sorbets [30] dans lesquels on a réussi à conserver le ferment à l'état actif durant 7 à 8 jours, l'acidité du produit ne dépassant pas 1% et sa température étant maintenue aux environs de — 17° C.

Pour clore ce répertoire de laits fermentés, mentionnons encore le « *Gros lait* » breton et le *Tättemjöl*k norvégien, dont les agents de la fermentation (*B. lactis longi* Troili-Peterson et le *Str. Hollandicus* Hüppe) produisent des matières mucilagineuses rendant ces laits filants [13]. Une levure attaquant le lactose et un oïdium prennent part en outre à la fermentation du *Tättemjöl*k, qui contient 0,3 à 0,5% d'alcool.

Spécialités pharmaceutiques, babeurre, fromages frais

Outre les laits fermentés énumérés, et qui du point de vue de la bactériothérapie lactique intestinale sont considérés comme des

aliments-médicaments, il existe actuellement dans le commerce toute une série de spécialités pharmaceutiques contenant, ou plutôt devant contenir, sous une forme plus ou moins concentrée, des ferments lactiques actifs. On peut subdiviser ces spécialités en deux groupes [37] : l'un comprend les ferments conservés en milieux liquides, l'autre en milieux solides.

Le milieu liquide utilisé, réparti généralement dans des ampoules, est presque toujours à base de lacto-sérum ou de lait écrémé ; on trouve cependant quelques spécialités renfermant des ferments cultivés dans une décoction de touraillons additionnée de lactose. En outre, tous ces milieux contiennent fréquemment du carbonate de chaux destiné à neutraliser l'acide lactique formé, car une trop haute teneur des milieux en acide a une action néfaste sur la vitalité des cultures. Le grand inconvénient de ces préparations est que les fabricants omettent trop souvent d'indiquer la date limite de leur utilisation, sachant fort bien que la conservation de ces ferments en état actif est précaire. En effet, le nombre de cellules vivantes diminuant rapidement avec le temps, on peut admettre qu'en général on ne retrouve dans ces préparations aucun germe actif 1 à 6 mois après leur fabrication. Cette dernière remarque s'applique également aux spécialités présentées sous forme de granules, de comprimés ou de poudres [38, 25], dont l'excipient est en général du lactose, du talc ou du carbonate de chaux. Ainsi, par exemple, la préparation du yaourt à partir de cultures sèches expédiées aux tropiques n'a pas permis d'obtenir un bon produit [1]. Remarquons toutefois que les ferments lactiques cocciformes conservent leur vitalité à l'état sec plus longtemps que les ferments lactiques « longs » ; malheureusement, comme nous l'avons vu, ils produisent beaucoup moins d'acide lactique que ces derniers. Cependant, il semble que des tablettes de kéfir conservent leur activité plus longtemps [17]. Quoi qu'il en soit, il est désirable qu'on mentionne sur toutes ces préparations la nature exacte des ferments employés et jusqu'à quelle date limite ils peuvent être utilisés. Certains auteurs [14] sont même d'avis qu'un contrôle officiel de ces produits devrait être institué, comme du reste METCHNIKOFF l'a déjà réclamé en son temps. Ce contrôle devrait non seulement déterminer le pouvoir acidogène des ferments mais aussi la pureté bactériologique des préparations qui sont trop souvent souillées par des microorganismes étrangers aux ferments lactiques et ne contiennent parfois que ceux-là [21, 35]. Remarquons que ces germes appartiennent presque toujours au groupe du *B. subtilis* et *B. mesentericus*, qui passent à tort pour absolument anodins.

Pour terminer cet aperçu, il nous paraît nécessaire de rappeler que toute une gamme de produits laitiers peut être considérée

comme un excellent fournisseur de ferments lactiques, qui sont par surcroît, dans bien des cas, beaucoup plus actifs que ceux contenus dans les spécialités pharmaceutiques citées.

Ainsi le *babeurre*, soit le liquide qui se sépare de la crème lors de son barattage, peut être assimilé à une culture pure du *Str. cremoris* — organisme communément utilisé aujourd'hui pour la maturation de la crème pasteurisée et destinée à la fabrication du beurre. En outre, cette maturation s'effectuant généralement à des températures basses (14 à 18° C.), la caséine, sous l'action du ferment protéolytique du *Str. cremoris*, subira une certaine prédigestion [19], qui augmentera la digestibilité de la boisson. La composition d'un babeurre ordinaire est la suivante [22] :

		%	%
Matière grasse	de	0,5 à	0,6
Matières protéiques	de	3,7 à	4,1
Lactose	de	3,5 à	3,8
Cendres	de	0,6 à	0,7
Acide lactique	de	0,6 à	0,5
Eau	de	91,1 à	90,3
		100,0	100,0

Il est clair cependant, vu l'origine du babeurre et le peu de soins apportés généralement à sa récolte, qu'il doit être consommé aussi rapidement que possible, car il est très vite envahi par des levures, moisissures, ou autres microorganismes qui ne sont pas toujours inoffensifs. Il va sans dire, d'autre part, qu'un babeurre résultant du barattage d'une crème douce, ou ayant subi une maturation naturelle, non dirigée, ne devrait être livré au consommateur, étant presque toujours souillé par des germes étrangers aux ferments lactiques et pouvant présenter un réel danger.

Parmi les bons fournisseurs de ferments lactiques, nous devons également citer les fromages frais genre « *Petit suisse* ». Ces fromages étant fabriqués à partir de crèmes acidifiées par des organismes sélectionnés, conservent naturellement ces derniers à l'état actif pendant un certain temps. En général, ces ferments appartiennent au groupe des stéptocoques lactiques, qui ont un pouvoir acidogène moins élevé que les ferments « longs », mais qui résistent mieux que ces derniers à l'action antiseptique de la bile [37]. Actuellement, on commence à introduire dans le commerce des fromages frais ayant les mêmes propriétés gustatives, mais préparés à partir de crèmes fermentées par des ferments « longs » tels que le *Th. bulgaricum* ou le *B. acidophilum*. Le dernier de ces microorganismes faisant partie de la flore intestinale d'un individu sain, est beaucoup plus facilement acclimatable par l'organisme et l'on voit immédiate-

ment l'intérêt que de tels fromages pourront présenter pour la bactériothérapie lactique en synthétisant l'agréable et l'utile.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. ALLARD. Notes sur la fabrication du Yoghourt au Tchad. *Le Lait*, 1932, **12**, 616-618.
- [2] E. BELOKOPYTOWA et O. LÜCK-SMIRNOWA. Über die Mikroflora des Kumys. *C. für Bakt.*, II, 1929, **79**, 185-194.
- [3] B. BOUROUNOFF. Recherches sur le kéfir. Thèse Ecole nat. vétérinaire, Lyon, 1933.
- [4] E. BROCHU. The Commercial Manufacture of Yoghourt Milk. *Milk Plant Monthly*, 1935, **24**, 37-41.
- [5] F. CORMINBŒUF. Recherches biochimiques sur le Yoghourt et le lait acidophile. Inst. Agric. d'Oka, La Trappe, P. Q., 1933.
- [6] FLEISCHMANN-WEIGMANN. Lehrbuch der Milchwirtschaft. Paul Parey, Verl. Berlin, 1932.
- [7] M. FOUASSIER. Le Yaourt et les laits fermentés. *Annales des Falsifications et des Fraudes*, n° 294, juin 1933, 331-345.
- [8] C. GORINI. Mutation de ferments lactiques par divergences individuelles. *Le Lait*, 1922, **2**, 2-6.
- [9] C. GORINI. Recherches sur les ferments lactiques. *Le Lait*, 1921, **1**, 57-62.
- [10] C. GORINI. Sur la diffusion de la propriété acido-présurigène (acido-protéolytique) chez les bactéries. *Le Lait*, 1924, **4**, 382-388.
- [11] P. GUIGUES. L'alimentation au Liban. Le Lében-Le Lébné. *Le Lait*, 1929, **9**, 125-130.
- [12] A. GUILLERMOND. Les levures. O. Doin, éditeur Paris, 1912.
- [13] G. GUITTONNEAU. Les principes d'une technique rationnelle en industrie laitière. *Le Lait*, 1923, **3**, 669-689 et 782-797 ; 1924, **4**, 14-29, 108-124 et 209-219.
- [14] M. VAN HAUWAERT. La détermination de la valeur biologique des ferments lactiques. *Journal de Pharm. de Belgique*, n° 8, février 1935.
- [15] W. HENNEBERG. Handbuch der Gärungsbakteriologie. 1926, **2**. Paul Parey, Verl., Berlin.
- [16] B. JURUKOFF. Zur Isolierung des bulgarischen Milchsäurelangbazillus. *Z. für Bakt.*, II. 1936, **95**, 324-326.
- [17] J. KLEEBOERG. Studien über Yoghurt und Kefir. *C. für Bakt.*, II, 1926, **68**, 321-326.
- [18] K. B. LEHMANN et R. O. NEUMANN. Bakteriolog. Diagnostik. J. F. Lehmanns Verl. München, 1920.
- [19] R. H. LEITCH. De quelques progrès récents dans la fabrication du beurre. *Le Lait*, 1924, **4**, 732-739.
- [20] R. H. LEITCH. *Bacillus acidophilus* et son utilisation dans la fabrication du fromage de Cheddar. *Le Lait*, 1934, **14**, 786-797.
- [21] J. MAHEU. Méthode d'expertise des préparations pharmaceutiques dites « ferments lactiques ». *Le Lait*, 1922, **2**, 433-441.

- [22] A. B. MARFAN. Traité de l'allaitement et de l'alimentation des enfants du premier âge. Masson, éditeur, Paris, 1930.
- [23] W. MOHR, A. EICHSTÄDT et L. MATTI. Über die Festigkeit des Yoghurts. *Molkerei-Ztg. Hildesheim*, n° 4, 1933, 61-64.
- [24] A. MONVOISIN. Le lait et les produits dérivés. I., 3^e édition. Vigot frères, éditeurs, Paris, 1925.
- [25] R. OEHLER. Über Yoghurtkontrolle. *C. für Bakt.*, II, 1911, **30**, 149-154.
- [26] S. ORLA-JENSEN. La classification des bactéries lactiques. *Le Lait*, 1924, **4**, 468-474.
- [27] S. ORLA-JENSEN et B. SPUR. Sur la digestibilité du lait de vache frais et aigri. *Le Lait*, 1924, **4**, 845-847.
- [28] S. ORLA-JENSEN, Anna D. ORLA-JENSEN et O. WINTHER. *Bacterium bifidum* et *Thermobacterium intestinal*. *Z. für Bakt.*, II, 1936, **93**, 321-343.
- [29] O. K. PALLADINA, T. A. KROTOVA et W. A. MASJUKIEWITCH. Acidophiluskefir. Zusammensetzung und Bakterienflora. *Milchw. Forsch.*, 1935, **17**, 25-38.
- [30] C. C. PROUTY et H. A. BENDIXEN. The viability of *Lactobacillus acidophilus* as affected by freezing in a sherbet mixture. *Journal of Dairy Science*, 1932, **15**, 413-419.
- [31] REFIK BEY. Recherches bactériologiques sur le « Yo-ourt » et le bacille turc. *Le Lait*, 1925, **5**, 681-690.
- [32] G. SANCHEZ. Sur la flore et les procédés de préparation du kéfir. *Le Lait*, 1924, **4**, 621-625.
- [33] W. SPOTTEL. Yoghurt-Bereitung in der Türkei. *Deutsche Molkerei-Ztg. Kempten*, 1935, **56**, 466.
- [34] TEWFIK. Said Saadallah. Action du ferment bulgare sur les différents sucres. Thèse, Faculté des sciences, Lyon, 1930.
- [35] G. TIXIER et J. BEEK. Sur l'essai des préparations de « ferments lactiques ». *Bull. de la Société de Ch. Biol.*, 1935, **17**, 252-267.
- [36] Ch. VAS. Formation d'acide en symbiose du *Bact. bulgaricum* et du *Streptococcus lactis* dans le Yoghourt. *Le Lait*, 1924, **4**, 625-638.
- [37] R. VIEILLE. La bactériothérapie lactique. Thèse pharm., Lille, 1936.
- [38] H. WEIGMANN. Die Pilzkunde der Milch. Paul Parey, Verlag Berlin, 1924.
- [39] A. J. WEIL. Die bakteriologische Kontrolle des Yoghurt. *C. für Bakt.*, II, 1927, **69**, 321-327.
- [40] A. WOJTKIEWICZ. Sur la préparation du kéfir avec des cultures pures. *Le Lait*, 1935, **15**, 112-113.
-