

SUR LA DIFFUSION DE LA PROPRIÉTÉ ACIDO-PRÉSURIÈRE (ACIDO-PROTÉOLYTIQUE) CHEZ LES BACTÉRIES,

par M. le Professeur COSTANTINO GORINI,

Directeur du Laboratoire de Bactériologie à l'École Royale supérieure d'agriculture de Milan.

La propriété que j'ai fait connaître, il y a trente ans, chez certaines bactéries de cailler le lait par deux voies, c'est-à-dire par production d'acidité et de présure et de solubiliser la caséine en milieu acide, (sur quoi se fonde ma théorie acido-protéolytique de la maturation des fromages), s'est portée sur un nombre toujours plus grand d'espèces, et du champ de la microbiologie agricole elle est passée dans le champ de la microbiologie médicale.

J'ai ouvert ce chapitre de *bactéries acido-présurières* en 1892 [1] par le *B. prodigiosus* ; successivement j'y ai ajouté les bactéries suivantes : en 1894 [2], les trois espèces *B. indicus ruber*, *Proteus mirabilis* et *Ascobacillus citreus* ; en 1901 [3] et 1902 [4], les cocci de la mamelle et du fromage, qui présentent des variétés nombreuses que j'ai groupées plus tard [5] autour de deux types principaux : *M. caséi acidoprotéolyticus* I (qui liquéfie la gélatine) et *M. caséi acidoprotéolyticus* II (qui ne liquéfie pas la gélatine), en y comprenant aussi cette bactérie de la mamelle que par ses dimensions singulières aujourd'hui j'avais nommé alors *Bacillus minimus mammæ* [6] ; celle-ci, n'étant point sporigène, mérite d'être classée parmi les bactériacées ou mieux encore parmi les cocci, de la même façon que le *B. Güntheri* est aujourd'hui identifié avec le *Streptococcus lacticus* ; en 1904 [7], une bacille sporogène du fromage que j'ai décrit sous le nom de *Bacillus acidificans presamigenes casei* et dont plus tard j'ai rencontré des types similaires dans les fourrages ensilés [8] (1906) et dans les laits fermentés comestibles [9] (1908) ; enfin, en 1920, j'ai agrégé à ce groupe une catégorie de *B. coli*, principalement d'origine fécale [10].

Ces mêmes espèces ou des espèces analogues ont été retrouvées, (après moi), dans le lait du marché par C.-O. JENSEN [11] et par LAXA [12], dans le lait de laiterie par PETER [13] ; dans la mamelle par BURRI [14], HASTINGS et HOFFMANN [15], HARRISON et SAVAGE [16], ROGERS [17], HARDING et WILSON [18], EVANS [19], LÖHNIS [20], HAMMER et CORDES [21], SADLER [22] (différents types de coccus et de bâtonnets) ; dans plusieurs types de fromages par FREUDENREICH [23]

et Orla JENSEN [24] (*M. casei liquefaciens*, qui équivaut à mon *M. casei acidoproteolyticus* I), VAN BOEKHOUT et DE VRIES [25], RUSSEL et HASTINGS [26], HARDING et PRUCHA [27], HARTET HINT [28], EVANS [29], HUCKER [30], GRIMMER [31], LAXA [32] (principalement différents types de coccus et certains types de bâtonnets), dans différentes sortes de laits fermentés comestibles par RIST et KHOURY [33], GRIXONI [34]; dans la crème par SANDELIN [35] (*B. coagulans*, qui est analogue à mon *B. acidificans présamigenes casei*); dans les selles de différents animaux et dans le terrain par BARTHEL [36] (*Streptococcus liquefaciens* qui équivaut à mon *B. minimus mammae*).

*
**

Cet ensemble important de bactéries acidoprésurigènes protéolytiques se prête déjà à des déductions générales relatives à leur ubiquité, à leur circulation dans la nature et à leur rôle dans la transformation de la matière, comme je l'ai exposé dans un travail précédent [37].

Mais depuis quelque temps ces bactéries prennent position sur le terrain de la médecine.

Déjà BURRI [38], en 1906-1907, avait signalé une race acido-protéolytique de *B. Güntheri* comme cause de la peste des abeilles. Ensuite il y a le genre *M. pyogenes* de ROSENBACH dont l'action acido-protéolytique sur le lait a été mise en lumière par plusieurs savants [39]; LÖHNIS [40] l'identifie nettement avec mes coccus acido-présurigènes. Aussi le genre *Streptococcus pyogenes* présente plusieurs races qui sont acidoprotéolytiques [41].

Plus récemment, en 1920, TISSIER [42] place parmi les acidoprotéolytiques le *B. Bookeri*, une variété de *B. Coli* isolée par FORD [43] dans une infection intestinale et LE RÛTTE [44] a trouvé un bacille acidoprotéolytique dans les conserves avariées de crevettes de mer, en le nommant *B. crangonicus*.

*
**

Tout dernièrement MAZZEO a publié un travail spécial pour démontrer que l'*enterococcus* et le *pneumococcus* caillent le lait par production d'acidité et de présure. Mais il ajoute que ces deux germes ne peptonisent point la caséine du caillot, même pas après trois mois de conservation.

Cette observation m'amène à revenir sur un problème que j'ai posé en 1908 [47], à savoir si les bactéries acidoprésurigènes sont toujours douées aussi de l'activité solubilisante, de sorte qu'on puisse présumer que les présures microbiennes, par analogie aux présures animales, sont pourvus d'un double pouvoir caillant et peptonisant

sur la caséine. Je n'entends pas entrer dans la discussion toujours vive parmi les physiologistes si ce double pouvoir de la présure animale appartient soit à un enzyme unique (SAWLOW et PARATSCHUK [48], SAWYALOW [49], soit à deux enzymes différents mais indissolublement unis (HAMMARSTEN [50], HILMANN [51], FULD [52], LOEWEHNHART [53], SLOWTZOFF [54], PETRY [55]).

J'avais répondu alors affirmativement, puisque chez tous les germes acidoprésurigènes examinés par moi j'avais constaté un lien étroit entre l'action coagulante et l'action caséolytique. A vrai dire, RIST et KHOURY [33] avaient déjà donné un exemple d'un bacille acidoprésurigène non-protéolytique dans le Leben, lait fermenté d'Egypte ; mais j'avais objecté qu'il ne semblait pas que ces auteurs s'étaient préoccupés d'approfondir une telle observation qui exige certaines précautions, eu égard aux conditions dans lesquelles on opère.

Aujourd'hui je me suis pénétré davantage de cette idée, à la suite de recherches ultérieures, d'où il ressort que la constatation de la faculté caséolytique n'est pas toujours facile, car elle est subordonnée notamment à la température et à la qualité du lait.

Quant à la température, j'ai confirmé ce que j'avais démontré déjà en 1897 [56] que, en général, tandis que les températures hautes favorisent l'attaque du lactose, les températures basses favorisent l'attaque de la caséine. En effet, au moyen de cultures tenues aux températures basses qui sont habituelles pour la maturation du fromage (15-20 C.), j'ai pu révéler l'activité caséolytique chez des bactéries appartenant aux groupes *Micrococcus* et *Streptococcus* qui, à des températures plus élevées, en semblaient dépourvues. A cette opinion s'est rattaché, entre autres auteurs, M. BARTHEL [57] dans un travail spécial sur le *Streptococcus lacticus*.

Mais encore plus décisives sont les influences de la qualité du lait. Je ne parle pas des influences qui dépendent de la race, de l'état physiologique, de l'alimentation des vaches, ou bien des modifications que le lait subit avant et après son arrivée au Laboratoire, et qui engagent à toujours employer du lait frais et stérilisé récemment ; mais d'une influence toute particulière que j'ai indiquée dans les altérations que le lait subit du fait de la stérilisation même et qui résultent en général d'une hydrolyse de la caséine. On a la mauvaise habitude de stériliser le lait trop profondément, à l'autoclave, au point de lui faire prendre une teinte brunâtre ; or, c'est précisément dans cet état qu'il devient impropre à mettre en jeu, à déceler l'activité protéolytique des ferments lactiques, tandis que le lait qui est soigneusement tyndalisé, de façon à lui conserver sa teinte blanche presque inaltérée, y est bien adapté.

Dans la négligence des susdites précautions, j'ai pu trouver la rai-

son pour laquelle certains auteurs n'ont pas observé des propriétés peptonisantes chez certains types de ferments lactiques auxquels, contrairement à mon opinion, ils ont méconnu tout rôle dans la maturation des fromages. Tels sont, par exemple, les cocci acidoprotéolytique dont j'ai démontré la présence normale dans la mamelle. Le lait sortant des mamelles en contient déjà, ainsi que des enzymes protéolytiques qui sont utiles, nécessaires même à sa transformation en fromage (1).

*
**

Mais il y a plus. Mes recherches démontrent que les effets du procédé de stérilisation du lait que je viens de critiquer se manifestent aussi sur l'activité coagulante de la présure bactérienne, qui à ce point de vue se comporte précisément comme la présure animale. Il est connu que le lait excessivement chauffé, au-delà de 65-70° C, ne se prête plus à la préparation du fromage précisément parce qu'il ne réagit plus normalement à la présure, ne parlons pas du lait bouilli ou autoclavé, d'où l'impossibilité de fabriquer du fromage avec du lait stérilisé. Eh bien, une influence analogue, nous l'observons avec les présures bactériennes, à tel point que pour contrôler la présence de la présure dans une culture, il est bon de l'essayer, cela va sans dire, sur du lait cru frais traité aseptiquement, plutôt que sur du lait stérilisé. S'il y a de la présure, la coagulation doit s'accomplir rapidement à 37-40° C. Ce contrôle en blanc est d'autant plus nécessaire que j'ai démontré qu'un lait peut sortir de la mamelle même avec des caractères apparemment normaux, et toute fois être déjà chargé de microbes et d'enzymes présuriques au point de présenter le phénomène de la *coagulation prématurée*.

Moyennant ces avertissements, j'ai pu constater la production de la présure chez des espèces microbiennes qui en semblaient dépourvues. L'exemple du *B. Coli* est frappant. Les auteurs sont en désaccord sur l'action coagulante de ce microbe au point de l'avoir tantôt acceptée et tantôt refusée comme criterium diagnostique du groupe, ou bien comme caractère distinctif des *Coli* d'une origine déterminée, animale ou végétale, humaine ou bovine, etc., en en tirant des données plus ou moins valables soit par sa différenciation du *B. typhi*, soit pour juger le degré de contamination des eaux. Pour ma part, je répète ce que j'ai exposé dans un travail précédent [59], c'est-à-dire que je n'ai pas encore rencontré des souches de *Coli* dépourvues

(1) Vraisemblablement l'enzyme peptonisant que BAACOR et RUSSELL ont découvert en 1897 dans le lait frais et qu'ils ont nommé *galactase* en le supposant sécrété par la glande mammaire n'est autre chose que l'enzyme protéolytique des cocci que j'ai découvert en 1901 dans la microflore normale de la mamelle.

du pouvoir coagulant, et cela même contrairement à l'affirmation des collègues qui me les avaient envoyés pour les examiner. J'ai noté seulement que, au point de vue du mécanisme de la coagulation, on peut établir deux catégories de *Coli*, une qui caille même le lait autoclavé brùnâtre, et l'autre qui caille seulement le lait tyndallisé blanc ; les premiers sont des *Coli* acidificateurs énergiques qui n'ont pas besoin de l'enzyme présurique, les seconds sont des *Coli* acidificateurs faibles qui ont évidemment besoin de l'aide d'un enzyme présurique pour cailler le lait. La première catégorie, qui est plus diffusée dans les fourrages, justifie l'opinion générale, que moi-même j'ai soutenue pendant quelque temps que le *Coli* n'est pas présurigène ; la seconde catégorie, qui est plus diffusée dans l'intestin, serait celle qui, si elle vient à être essayée sur un lait autoclavé, peut être jugée non coagulante. Il reste à savoir si le *Coli* présurigène est capable aussi de solubiliser le caillot. Même sur ce point je répons affirmativement, bien que je doive reconnaître que la protéolyse n'est pas toujours des plus avancées ; du reste on doit rappeler que les bactéries acidoprotéolitiques ne sont jamais aussi profondément peptonisantes que les alcalinoprotéolytiques. Toutefois, comme il y a des *Coli* qui liquéfient la gélatine [60] il y en a aussi qui solubilisent le caillot lacté.

*
*
*

Résumé. — Le groupe physiologique des bactéries acidoprésurigènes, que j'ai introduit il y a trente ans, est allé progressivement en s'enrichissant d'espèces nouvelles.

Après avoir intéressé largement la microbiologie agricole par la microflore du lait, de la mamelle, du fromage, de la crème, des laits fermentés comestibles, des fourrages, des litières, des selles, du sol, il attire depuis quelque temps aussi l'attention de la microbiologie médicale (*Staphylococcus pyogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *B. Coli*, *Enterococcus*, *Pneumococcus*).

En vue de l'intensification des études sur le mécanisme de coagulation du lait par les bactéries, je crois bon de mettre en lumière les points suivants que mes recherches ont établis :

1^o Que, ordinairement, les bactéries acidoprésurigènes se révèlent douées d'une double faculté coagulante et protéolytique de la caséine, soit que ces deux facultés soient réunies dans un enzyme unique, soit qu'elles appartiennent à deux enzymes intimement associés ;

2^o Que pourtant la manifestation de ces deux facultés est subordonnée aux conditions physiologiques du germe, notamment à la température et au milieu de culture et cela en conformité au principe fondamental de DUCLAUX par rapport à la production des diastases en général.

Elle est favorisée par des températures non trop élevées et par un lait frais qui a subi les moindres modifications possibles du fait de la stérilisation.

Avec le guide que peuvent constituer ces remarques il est à présumer que la propriété acidoprésurière protéolytique sera décelée de plus en plus diffusée parmi les bactéries.

Du reste, elle peut être vérifiée même dans des cultures dépourvues de caséine (bouillon, gélatine), comme je l'ai fait connaître déjà en 1892 (1) et comme il a été confirmé récemment par CATFOLIS [62]; cela prouve que la sécrétion de l'enzyme présure constitue une fonction normale de ces genres.

BIBLIOGRAPHIE.

- (1) GORINI C. — Atti dei Laboratori della Sanità Publica al Ministero Interni, Roma, 1892. *Rivista d'Igiene e Sanità Publica*. Roma, 1893, IV, p. 549. *Hygien. Rundschau*, 1893, III, p. 381.
- (2) *Giornale della R. Soc. It. Igiene*, Milano, 1894, XVI, 4.
- (3) *Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett.*, 1901, 34°.
- (4) *Rend. R. Acc. Lincei*, 1902, 7 septembre, XI, p. 159 *Landw. Jahrb. Schweiz*, 1902, p. 22. *Centralbl. f. Bakt.*, II, Abt., 8°, 1902. *Revue générale du Lait*, 1902, I, p. 169.
- (5) *Rend. R. Acc. Lincei*, 7 Agosto 1910.
- (6) *Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett.*, 1906, 39° e 1907, 40°. *Revue Générale du lait*, 1907, 6°, pagg. 179 e 553.
- (7) *Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett.*, 1904, 37°.
- (8) *Annuario Istituzione Agraria Ponti annessu alla R. Scuola Sup. di Agric. di Milano*, VI, 1906.
- (9) *Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett.*, 41°, 1908 e 46°, 1913. *Atti della Soc. Med. Biol. Milanese*, 1910, V°.
- (10) *Rend. R. Acc. Lincei*, 1920.
- (11) JENSEN C.-O. — Grundriss der Milchkunde, Stuttgart, 1903, p. 50.
- (12) LAZA O. — Berichte d. Iaktolog. Anstalt d. technischehochschule in Prag., 1914.
- (13) PETER. — *Schweiz. Milchzeitung*, 1903.
- (14) BURRI. — *Molkerei Zeitung*, Berlin, 1903. *Landw. Jahrb. Schweiz*, 1916, N° 3-8.
- (15) HASTINGS et HOFFMANN. — *Bull. Wiscons. Agr. Exper. St.*, 1909, 6, p. 189.
- (16) HARRISON et SAVAGE. — *Revue Générale du lait*, 1912, 9, p. 121.
- (17) ROGERS et DAHLBERG. — *Journal of Agric. Res.*, 1914, p. 491.
- (18) HARDING et WILSON. — *Techn. Bull. Geneva Agr. Exper. St.*, 1913, 27.
- (19) EVANS Alice. — *Journ. of infect. Diseases*, Maggio, 1916.
- (20) LOHNIS F. — *Centralbl. f. Bakter.*, II, Abt., 43°, 1915, p. 279.
- (21) HAMMER et CORDES. — *Journal Dairy Science*, 1921, n° 4.
- (22) SADLER WILFRID. — *Scientific Agriculture*, Marzo, 1922.
- (23) FREUDENREICH. — *Annuaire Agr. de la Suisse*, 1903 e 1905.

- (24) ORLA JENSEN. — *Ibidem*.
- (25) BOEKHOUT et DE VRIES. — *Centralbl. f. Bakt.*, II, Abt. 12°, 1904.
- (26) RUSSELL et HASTINGS. — *21° Report of Agr. Exp. St. Un Wisconsin*, 1904.
- (27) HARDING et PRUCHA. — *N. Y. Agr. Exp. St. Geneva. Techn. Bull.*, 8-1908.
- (28) HART et FLINT. — *Journ. Agric. Researc.*, 2°, 1914.
- (29) EVANS ALICE. — *Wis. Agric. Exp. St. Res. Bull.*, 25, 1912.
- (30) HUCKER. — *N. Y. Agr. Exp. St. Geneva. Techn. Bull.*, 90, 1922.
- (31) GRIMMER W. — *Forschungen*, 1921, n° 12.
- (32) LASCA. — *l. cit.*
- (33) RIST et KHOURY. — *Ann. Pasteur*, 1902.
- (34) GRISCONI. — *Ann. Medicina Navale*, 1905.
- (35) SANDELIN. — *Centralbl. f. Bakter.*, II, Abt. 1919, 49°.
- (36) BARTHEL CHR. — *Recherches bactériologiques sur le sol. Copenhagen*, 1922.
- (37) GORINI C. — *Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett.*, 1922, 55°.
- (38) BURRI R. — *Centr. f. Bakter.*, I, Abt. Referate. 1906, p. 257 e 1907, p. 389.
- (39) LEHMANN et NEUMANN. — *Bakteriolog. Diagnostik*, passim.
- (40) LOHNIS F. — *Handb. landw. Batker*, 1910, p. 199.
- (41) TISSIER E COULON. — *Bull. Pasteur*, 1920, n° 10. — WOLMANN. — *Bull. Pasteur*, 1923, N. 4. V. anche LEHMANN E NEUMANN, *l. cit.*
- (42) TISSIER. — *Ann. Pasteur*, Octobre 1920.
- (43) FORD W. — *Studies from the Royal Vict. Hosp. Monreal*, I, n° 5, 1903.
- (44) LE RUTTE. — *Bull. Inst. Pasteur*, 1920, n° 11.
- (45) KRUSE E PANSINI in Mazzeo (V. Mazzeo).
- (46) MAZZEO M. — *Pathologica*, 15 Marzo 1922.
- (47) GORINI C. — *Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett.*, 1908, 41°, p. 117.
- (48) SWLOW E PARATSCUK. — *Zeitch. f. phys. Chemie*, 42°, 415.
- (49) SAWYALOW. — *Ibidem*, 46°. 307.
- (50) OLOF HAMMARSTEN. — *Zur Kenntniss des Caseins und der Wirkung des Labferments*. Nova Acta. Upsala, 1877. *Zeitschrift f. physiol. Chem.*, 28°, 114.
- (51) HILMANN. — *Milchzeitung*, 25°, 86.
- (52) FULD. — *Beitrage z. chem. Phys. u. Path. Spiro-Ashers Ergebnisse*, I, 16.
- (53) LOEWENHART. — *Zeitsch. f. Phys. Chem.*, 41°, 177.
- (54) SLOWTZOFF. — *Beitrags z. Chem. Phys. u. Path.*, 9°, 149.
- (55) PETRY. — *Ibidem*, 8° 339.
- (56) GORINI C. — *Boll. Uff. Min. Agric.*, 1897. *Annales de micrographie*, 1897, 1897, p. 433.
- (57) BARTHEL CHR. — *Centralbl. f. Bakter*, II, Abt. Vol. 44, 1915.
- (58) GORINI C. — *Rend. R. Acc. Lincei*, 1917, Vol. 24 e 26.
- (59) GORINI C. — *Rend. R. Acc. Lincei*, 1920, V. 29. — *Policlinica*, 1920, Vol. 27. Sezione Pratica.
- (60) LEHMANN E NEUMANN. — *l. cit.*
- (61) GORINI C. — *Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett.*, 14 aprile 1921. *Rend. R. Acc. Lincei*, 8 Maggio 1921. *Comptes Rendus Acad. Sciences*, Paris, Séance du 30 mai 1921.
- (62) CATFOLIS E. — *C. R. Soc. Biologie*, 1922, T. II, p. 381.