

## RECHERCHES SUR L'IRRADIATION DES MILIEUX NUTRITIFS BACTÉRIOLOGIQUES PAR LES RAYONS ULTRA-VIOLETS.

par le Dr JOSEF PROKS

Directeur de l'Institut lactologique de l'Ecole des hautes études agronomiques à Brno.

(Travail de l'Institut lactologique de l'Ecole polytechnique tchèque, à Prague.)

On sait, depuis les recherches de BUCHNER (1) et d'autres auteurs, que la lumière exerce une influence défavorable sur le développement des bactéries. DIEUDONNÉ a constaté que cette influence nuisible augmente avec la diminution de la longueur des ondes lumineuses. Il semble donc, d'après cela, que l'effet sur le développement des bactéries sera maximum en utilisant les rayons ultra-violets.

On a cherché aussi à utiliser ces qualités des rayons ultra-violets pour la destruction des bactéries dans le lait. M. SEIFFERT (2) a construit, le premier, un appareil pour l'irradiation du lait, un appareil destiné à en détruire les bactéries par l'utilisation de ces radiations. Partant de ces recherches, d'autres auteurs (WOLF, THIELE, OELSCHLAGER, SCHULTZ, etc.) ont cherché à leur tour à débarrasser le lait de ses bactéries par l'effet des rayons ultra-violets, mais les résultats obtenus dans ces recherches n'ont pas été tels qu'on ait pu songer, commercialement, à remplacer les procédés de pasteurisation par l'irradiation du lait.

Quoi qu'il en soit, il semble bien démontré que l'irradiation par les rayons ultra-violets exerce une influence nuisible sur les bactéries. Cette influence paraît se faire sentir aussi, sur quelques milieux nutritifs, de telle manière qu'elle rendrait le milieu considéré moins favorable à la multiplication des organismes. Pour élucider cette question, j'ai entrepris une série d'essais sur l'irradiation des milieux nutritifs bactériologiques, afin de constater dans quelle mesure se produisent ces modifications dans leur aptitude à la culture des bactéries. Une petite lampe de MÜLLER, dite analytique, me servait de source de rayons ultra-violets ; les rayons calorifiques et lumineux étaient, pour la plus grande partie, absorbés par des filtres convenables.

Les milieux nutritifs dont je me suis servi en premier lieu étaient la gélose peptonée et la gélatine peptonée au petit-lait. Dans la première partie des essais, ces milieux étaient irradiés dans des tubes fermés, la source des rayons étant à environ 25 cm. Comme

(1) BUCHNER, *Centralbl. für Bakter.*, 11, 1892.

(2) SEIFFERT. *Die Versorgung der Grosstädte mit Kindermilch*, Hamburg, 1903.

le verre absorbe les rayons ultra-violet, la paroi des éprouvettes était en verre très mince, de 0  $\frac{m}{m}$  5 environ d'épaisseur, de façon à laisser passer la plus grande partie des rayons. Pour contrôler les effets de l'irradiation, j'ai employé parallèlement les mêmes milieux nutritifs non irradiés.

La constatation de l'effet produit par l'irradiation fut faite de la façon suivante : les milieux nutritifs furent, après l'irradiation,ensemencés de 1 cm<sup>3</sup> de culture diluée et, après quelques jours, on dénombra sur les boîtes de PÉTRI le nombre des colonies formées ; on le compara à celui donné par le milieu non irradiéensemencé de la même culture. La durée de l'irradiation fut différente dans les divers essais, mais toujours assez courte. Les premiers essais furent faits avec la gélatine au petit-lait. Comme cultures, on choisit la culture de *Streptococcus lactis* (essais n<sup>os</sup> 1 à 5) et celle de *Streptococcus cremoris* (essai n<sup>o</sup> 6) avec des dilutions différentes. Mais, pour le même essai, on employa pour le milieu irradié et pour le milieu-témoin non irradié la même dilution de la culture et la même quantité. Les résultats du dénombrement des colonies sont consignés au tableau I.

TABLEAU I.

Numéro des essais	Milieu irradié		Milieu non irradié
	Durée de l'irradiation	Nombre des colonies	
1	6 minutes	10	15
2	10 minutes	148	676
3	16 minutes	239	717
4	15 minutes	32	61
5	15 minutes	3	6
6	30 minutes	327	482

Pour les essais suivants, j'ai utilisé la gélose au lieu de la gélatine. Le procédé de travail est resté le même ; l'ensemencement a été fait de nouveau avec les cultures diluées de *Streptococcus lactis* (essais 7 et 8) et de *Streptococcus cremoris* (essai n<sup>o</sup> 9). On en trouvera les résultats au tableau II.

TABLEAU II.

Numéro des essais	Milieu irradié		Milieu non irradié
	Durée de l'irradiation	Nombres des colonies	
7	15 minutes	107	172
8	30 minutes	30	43
9	30 minutes	130	690

De l'examen de ces deux tableaux, il résulte que pour les deux milieux nutritifs utilisés, l'irradiation a eu un effet évident sur le nombre des colonies dénombré sur les plaques de contrôle. L'abaissement du nombre des colonies sur le milieu irradié a atteint jusqu'à plus d'un cinquième (essai n° 9) ; dans les autres cas, il était d'un quart, un demi, un tiers, deux tiers, etc. En aucun cas, on n'a trouvé un nombre de colonies plus grand que dans le milieu non irradié. Quant aux cultures employées, on n'a trouvé aucune différence entre le développement du *St. lactis* et celui du *St. cremoris*.

Les recherches suivantes sont destinées à montrer l'influence de la durée de l'irradiation. Dans les deux essais on a utilisé la gélatine peptonéeensemencée de la culture diluée de *St. cremoris*. La durée de l'irradiation a été la même pour les deux essais, alors que la quantité de culture, la température pendant la croissance des colonies, la durée de la végétation étaient différentes. Les résultats des recherches sont fournies par le tableau III.

TABLEAU III.

Numéro des essais	Milieu irradié		Milieu non irradié
	15 minutes	30 minutes	
10	514	344	662
11	511	378	656

On voit clairement, par ces deux essais, que le nombre de colonies développées sur les milieux nutritifs est d'autant plus petit que la durée de l'influence des rayons ultra-violetts a été plus grande.

Dans les essais suivants, le milieu nutritif fut irradié directement, dans le but d'éliminer l'influence du verre des éprouvettes, qui retient une partie des rayons ultra-violetts. Le milieu utilisé fut encore la gélatine au petit-lait, doucement réchauffée dans les éprouvettes, puis versée sur les boîtes de PÉTRI, lesquelles, non couvertes, furent exposées aux rayons de la lampe de MÜLLER placée à 25 cm. La gélatine était irradiée à l'état liquide à une température d'environ 30° C. La boîte fut ensuite couverte et on glissa, à l'aide d'une pipette stérile, 1 cm<sup>3</sup> de culture diluée de *St. cremoris*, que l'on répartit uniformément dans le milieu nutritif par un balancement de la boîte. La gélatine de contrôle fut également versée dans une boîte de PÉTRI etensemencée de la même manière. Les boîtes furent conservées dans des circonstances identiques et le dénombrement effectué. Les résultats sont groupés dans le tableau IV.

TABLEAU IV.

Numéro des essais	Milieu irradié		Milieu non irradié
	Durée de l'irradiation	Nombre des colonies	
12	15 minutes	63	97
13	15 minutes	257	332
14	15 minutes	260	302
15	15 minutes	195	410
16	20 minutes	1,620	1.920

Comme on pouvait s'y attendre, les résultats de ces recherches sont d'accord avec les précédents. Le nombre de colonies développées dans les milieux nutritifs irradiés est remarquablement plus faible que celui trouvé dans les milieux non irradiés.

La recherche suivante fut effectuée avec de la gélatine au bouillon, au lieu de petit-lait. L'irradiation dans la boîte ouverte de PÉTRI eut une durée de 15 minutes et l'ensemencement fut fait comme précédemment. Les résultats furent les suivants :

	Nombre de colonies	
	Milieu irradié	Milieu non irradié
Essai n° 17 .....	41	144

Ces résultats confirment pleinement les précédents.

Pour répondre à la question de savoir si l'irradiation directe des bactéries est plus puissante que l'irradiation du milieu nutritif, j'ai effectué les recherches suivantes :

Trois boîtes de PÉTRI ont été préparées. Dans la première, de la gélatine au petit-lait, légèrement chauffée, fut soumise aux radiations ultra-violettes, puisensemencée par 1 cm<sup>3</sup> de culture de *St. cremoris* ; dans la deuxième, le même milieu fut d'abordensemencé, puis irradié dans les mêmes conditions ; enfin, la troisième contenait le milieu-témoin non irradié etensemencé par la méthode citée plus haut. Les résultats des essais sont indiqués au tableau n° V.

TABLEAU V.

Numéro des essais	Milieu irradié		Milieu non irradié
	avant l'ensemencement	après l'ensemencement	
	Nombre des colonies		
18	195	145	425
19	71	66	194

On voit que l'effet de l'irradiation est plus grand lorsque le milieu nutritif est ensemencé avant de subir l'action des rayons ultra-violet. Il est vraisemblable que dans ce cas, il y a deux influences qui s'ajoutent : l'action directe des radiations sur les bactéries et leur action sur le milieu nutritif lui-même. Ces essais viennent en outre confirmer les résultats des recherches précédentes.

Pour toutes les recherches effectuées jusqu'ici, j'ai utilisé, pour l'ensemencement, des cultures de *St. lactis* ou de *St. cremoris*. Il était intéressant de rechercher si les effets de l'irradiation se feraient sentir de la même manière sur d'autres microorganismes. J'ai employé à cet effet des cultures diluées du *Bacterium coli commune*, de *Sarcina lutea* et de *Torula lactis*. Les milieux utilisés, la méthode d'irradiation et les procédés d'ensemencement furent les mêmes que lors des essais précédents. Dans les recherches n<sup>os</sup> 20, 21 et 22, les milieux nutritifs furent ensemencés avec 1 cm<sup>3</sup> de culture diluée de *Bacterium coli commune*, dans les n<sup>os</sup> 23 et 24 avec *Sarcina lutea* et dans les n<sup>os</sup> 25 et 26 avec *Torula lactis*. Le tableau n<sup>o</sup> VI donne les résultats de ces recherches.

TABLEAU VI.

Numéro des essais.	Milieu irradié		Milieu non irradié
	Durée de l'irradiation	Nombre de colonies	
20	20 minutes	1.280	2.900
21	23 minutes	310	690 } +
22	25 minutes	110	290 } +
23	20 minutes	18	41 } ++
24	20 minutes	118	146 } ++
25	20 minutes	20	34 } +++
26	20 minutes	194	250 } +++

+ *Bacterium coli commune*.

++ *Sarcina lutea*.

+++ *Torula lactis*.

Ces résultats montrent que l'irradiation de la gélatine au petit-lait par les rayons ultra-violet a pour effet d'abaisser considérablement le nombre des colonies des autres bactéries et même des autres microorganismes, comme des levures du genre *Torula*. Ces résultats concordent parfaitement avec ceux que nous avons obtenus avec l'ensemencement par des streptocoques.

Toutes les recherches précédentes ont été réalisées en irradiant des milieux nutritifs solides. Dans la dernière série de recherches, j'ai utilisé le lait comme milieu nutritif à irradier. 100 cm<sup>3</sup> de lait

ont été pasteurisés chaque fois dans des boîtes à parois verticales, fermées par un couvercle en verre. Pour chacun des essais, j'ai employé deux boîtes parfaitement identiques et, après refroidissement, le lait de l'une des boîtes était irradié par les rayons ultraviolets, le couvercle ayant été enlevé pour faciliter le libre accès des rayons. Le lait de la seconde boîte, non irradié, était conservé comme témoin, puis les deux boîtes étaientensemencées d'une même quantité (1 cm<sup>3</sup>) de culture pure de *St. lactis* et abandonnées au repos dans les mêmes conditions. Au bout de quelque temps, on déterminait, simultanément, l'acidité (exprimée en degrés Soxhlet-Henkel) du lait de chacune des boîtes. Cette acidité comparée devait permettre de juger de l'influence de l'irradiation sur le lait. Les recherches ont été faites, soit avec du lait écrémé (essais nos 27 à 31), soit avec du lait non écrémé (essais nos 32 à 34). Les résultats sont réunis dans le tableau VII.

TABLEAU VII.

Numéro des essais	Milieu irradié		Milieu non irradié	Différence d'acidité
	Durée de l'irradiation	Acidité en degrés Soxhlet-Henkel		
27	15 minutes	25,1	25,3	0,2
28	15 minutes	18,7	21,1	2,4
29	15 minutes	33,0	33,8	0,8
30	15 minutes	25,3	26,6	1,3
31	15 minutes	24,0	25,3	1,3
32	15 minutes	17,1	24,8	7,7
33	25 minutes	11,8	12,8	1,0
34	30 minutes	11,6	13,6	2,0

+ Lait non écrémé.

++ Lait écrémé.

En comparant le degré d'acidité du lait irradié à celui du lait non irradié, on voit que dans tous les cas, le premier est inférieur au second, preuve que dans le lait irradié la multiplication des bactéries a été un peu plus faible. Mais les différences d'acidité sont en général assez faibles, sauf dans un seul cas (essai n° 32). Les résultats sont les mêmes pour le lait non écrémé et pour le lait écrémé.

Comme la couche de lait, exposée aux rayons dans la boîte, avait une épaisseur d'environ 1 cm. 6, on pouvait supposer que la faible influence de l'irradiation sur l'acidité du lait était due au fait que les rayons pouvaient difficilement agir en profondeur. J'ai donc fait de nouveaux essais dans lesquels les couches de lait n'avaient

que 4  $\frac{m}{m}$  d'épaisseur. Les résultats n'ont pas été différents des précédents, comme on peut le voir au tableau VIII.

TABLEAU VIII.

Numéro des essais	Milieu irradié		Milieu non irradié	Différence
	Durée de l'irradiation	Acidité en degrés S.-H.		
35	15 minutes	18,5	20,0	1,5
36	15 minutes	19,2	20,5	1,3
37	15 minutes	16,8	18,8	2,0

Ainsi, les rayons ultra-violetes produisent dans le lait, comme dans les milieux nutritifs étudiés précédemment, mais dans une mesure moindre, certains changements d'où résulte une diminution dans le développement des bactéries.

En résumé, on peut dire que dans tous les milieux bactériologiques qui ont été examinés, l'irradiation par les rayons ultra-violetes produit des modifications qui amènent un ralentissement de la multiplication des bactéries et des levures. Ces modifications sont d'autant plus prononcées que la durée de l'irradiation est plus longue. L'influence des rayons ultra-violetes est très marquée sur les milieux nutritifs solides ; elle s'est montrée beaucoup plus faible sur le lait écrémé et sur le lait non écrémé.

## LES ANIMAUX COMME CORPS ÉTRANGERS DANS LE LAIT (1)

par

le Dr F. G. KOHN.

(Administration du Marché municipal de Karlsbad.

Président : Dr MESSNER, Professeur.)

On sait que la mamelle, et plus encore son produit, le lait, constituent un milieu très favorable pour le développement des schizomycètes, mais on ne sait pas grand'chose des rapports permanents qui existent entre les animaux et la glande mammaire ainsi qu'avec le lait. Les échinocoques, qui figurent [1] parmi les parasites de la glande mammaire, ne peuvent pas être rendus responsables d'une infection du lait, car, habitant l'interstitium, ils sont isolés du tissu glandulaire par une enveloppe imperméable.

(1) Traduction de M. C. WOLF, d'un article de *Prager Archiv für Tiermedizin*, XII, 1932.