

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- I. LIPSKA. — Les bactéries alcalinisantes du groupe « *coli-aerogenes* » du lait . . . 705
- M. W. YALE. — La pasteurisation à température élevée de courte durée aux Etats-Unis. (*Fin.*) 710
- A. M. LEROY. — Contribution à l'étude de la valeur pratique des tables d'alimentation. (*Fin.*) 726
- J. PIEN. — La pasteurisation du lait en vue de la fabrication des fromages. 748

Bibliographie analytique :

- 1^o Les livres 755
- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 761
- 3^o Brevets 801

Bulletin bibliographique :

- 1^o Les livres 803
- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 804
- 3^o Brev. ts. 811

X^e Congrès mondial de laiterie (Rome-Milan, 30 avril-6 mai 1934). 4^e section :

- H. ISAACHSEN. — La valeur du lait écrémé pendant la période de croissance des animaux 812
- H. BRUNNER. — Recherches comparatives sur différents procédés de conservation du beurre 817
- J. GOLDING. — Progrès dans l'essai du lait 822

Documents et informations :

- E. LETARD. — Le concours laitier et beurrier de Paris, en 1935. 827
- G. GÉNIN. — Quinzaine internationale de l'industrie laitière, Exposition de Bruxelles (15-26 mai 1935) 827
- Association internationale des Négociants en lait (Chicago Illinois, U. S. A.) 832

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

LES BACTÉRIES ALCALINISANTES DU GROUPE « COLI-AEROGENES » DU LAIT

par IRÈNE LIPSKA

(Ecole d'Hygiène à Varsovie. Laboratoire de Biochimie.

Directeur : D^r G. SZULC.)

CHIARI et LÖFFLER [1] ont été les premiers à étudier (en 1925) le curieux phénomène de la décoloration par les colibacilles du milieu

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

d'Endo. Ces auteurs ont émis l'hypothèse que les produits alcalins diffusent dans la gélose et réactivent un proferment préexistant chez les colibacilles normaux, en les changeant en souches décolorantes, qu'ils ont nommées *Bact. coli alcaligenes*. GOLIKOVA [2] a repris l'étude de ces souches décolorantes en 1928, et, après avoir constaté leur influence sur les colibacilles normaux, même sans contact direct, elle en a conclu que la réactivation du proferment devait être attribuée à des alcalis volatils. KWASCHNINA [4], en 1931, dans son étude sur la dissociation et le cycle vital des bactéries du groupe paratyphique, mentionne des colibacilles décolorants, sans leur consacrer plus de temps. Dernièrement, en 1931, LAGRANGE [5, 7] se mit à les étudier. Cet auteur n'admet pas l'explication donnée par CHIARI et LÖFFLER et tend à prouver que ce phénomène est essentiellement de nature électrique ; il admet que les colibacilles décolorants émettent une énergie qui passe à travers des écrans ou qu'elle est retenue par ces derniers, ce qui dépend du métal employé.

Etant donné que, durant mes analyses bactériologiques du lait du district de Skierniewice (près de Varsovie), j'ai rencontré 65 souches de colibacilles décolorant la gélose d'Endo sur 200 souches isolées (32,5%), je les ai étudiées au point de vue biochimique, en employant les méthodes indiquées en détail dans mon mémoire traitant ces colibacilles [8]. Cette étude m'a permis de classer 10 souches comme *Bact. neapolitanum*, 30 souches comme *Bact. lactis aerogenes* ; ensuite, j'ai choisi les 20 souches les plus intéressantes pour en faire une étude plus détaillée, dont les résultats sont présentés dans le tableau suivant. Pour étudier le pouvoir fermentatif, il suffit d'employer, outre le lactose, les six substances hydrocarbonées qui différencient le mieux, à savoir : la glycérine, la sorbite, la dulcité, le saccharose, le raffinose et la salicine. On sait d'ailleurs que, par des passages successifs des colibacilles dans un milieu faiblement ou non attaqué, on peut augmenter la force de fermentation ou la voir apparaître ; ainsi, les deux souches 15₁₁ et 26₁₀, dès leur isolement, n'ont attaqué qu'un des deux polysaccharides, puis, après 3 passages, la souche 15₁₁ a commencé à acidifier le raffinose ; enfin, pour faire fermenter le saccharose par la souche 26₁₀, il a fallu faire 7 passages. Il faut noter que la fluorescence du milieu de culture additionné de rouge neutre dépend de la substance hydrocarbonée utilisée ; la fluorescence se produit bien facilement avec la sorbite, mais parfois, elle ne se fait sentir qu'avec le maltose ou le glucose. Le lait n'est pas caillé par 4 souches ; deux d'entre elles (15₁₄ et 23₁₄) font bien fermenter l'eau peptonée lactosée. Le milieu de Koser avec le citrate ou le propionate de sodium, comme source de carbone, m'a donné des résultats très concordants avec la réaction de Voges-Proskauer. Les vingt souches ne sont pas

Numéros d'ordre	Dénomination des espèces et des souches	Nombre de souches	Glycérine	Sorbité	Dulcité	Saccharose	Raffinose	Salicine	Fluorescence du rouge neutre	Lait tournesolé coagulé en 24 heures	H ₂ S	Indol	Voges-Proskauer	Citrate de sodium	Propionate de sodium
1	<i>Bact. coli communior</i>	1	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
2	<i>Bact. coli commune</i>	5	+	+	+	-	-	+	4	1	4	5	-	-	+
3	<i>Bact. acidi lactici</i>	3	+	+	-	-	-	-	1	-	2	1	-	1	2
4	7 ₅	1	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
5	6 ₇ , 18 ₂	2	+	+	-	-	-	+	1	1	1	1	-	-	2
6	8 ₂ , 9 ₁₄ , 18 ₁₅ , 41 ₁₃ ..	4	+	+	+	-	-	-	2	1	4	2	-	2	2
7	20 ₅	1	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
8	15 ₁₁	1	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-
9	26 ₁₀	1	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+
10	23 ₁₄	1	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-

toutes hémolytantes. En se basant sur les propriétés biochimiques, on peut ranger les vingt souches de la manière suivante : une souche (32₃) appartient à l'espèce *Bact. coli communior* ; cinq (8₁₁, 22₂, 40₂, 40₇, 42₁₂), à l'espèce *Bact. coli commune* ; trois (15₁₄, 23₅, 34₁₃), à l'espèce *Bact. acidi lactici* ; la souche 7₅ unit les propriétés fermentatives de *Bact. lactis aerogenes* et de *Bact. coli communior* ; les souches 6₇ et 18₂ font une transition entre les espèces *Bact. lactis aerogenes* et *Bact. coli commune* ; les souches 8₂, 9₁₄, 18₁₅ et 41₁₃ présentent les caractères transitoires entre les espèces *Bact. coli commune* et *communior* ; enfin, les souches 20₅, 15₁₁, 26₁₀ et 23₁₄ sont irrégulières dans leurs caractères biochimiques et sont décrites séparément. De cette constatation, il suit que l'espèce *Bact. coli alcaligenes*, créée par CHIARI et LÖFFLER en 1925, ne peut persister dorénavant, car la faculté de produire une décoloration du milieu d'Endo se trouve chez plusieurs espèces du groupe *coli-aerogenes*.

Maintenant, il faut discuter si la décoloration du milieu d'Endo est l'effet de la production par les colibacilles d'un alcali volatil ou non volatil, comme l'ont admis les premiers auteurs qui se sont occupés de cette question. LAGRANGE, dans son troisième mémoire [6], semble nier cette explication, en disant, entre autres, que la souche décolorante sur un milieu lactosé, vire au rouge le tournesol et ne saurait dégager des produits alcalins volatils ou non. Suivant mes observations sur les vingt souches décolorantes, l'intensité d'acidification du milieu lactosé et tournesolé, dépend, pour une

même souche, de la source d'azote employée, du pourcentage de lactose et de la température. Pour la culture sur bouillon lactosé à 1 pour cent réalisée pendant 24 heures à 37° C. et gardée ensuite à la température du laboratoire ($\pm 20^\circ$ C.), la phase d'acidification est suivie d'une autre phase, où s'observe l'alcalinisation et parfois la réduction du tournesol dans une culture en pleine vitalité. Ce phénomène a lieu d'une manière plus accentuée chez les souches 40₂, 7₅, 18₁₅, 20₅, 15₁₁, 23₁₄. Les plus adaptables sont les souches 8₁₁ et 20₅, car elles présentent une bonne croissance sur un bouillon acidulé avec l'acide lactique, croissance suivie de son alcalinisation ; les mêmes souches prospèrent sur un bouillon alcalinisé avec la soude caustique et l'acidifient. Les souches 7₅, 18₁₅ et 23₁₄ sont plus faibles, car elles alcalinisent le bouillon acidulé sans pouvoir acidifier le milieu alcalinisé. Une bonne tolérance seulement du bouillon alcalinisé où la croissance est suivie de son acidification, est constatée chez les trois souches 40₇, 18₂, 15₁₁, tandis que les souches 40₂, 42₁₂, 15₁₄, 6₇, 8₂, 41₁₃, 26₁₀, croissent bien mais n'acidifient pas le même milieu. Les cinq dernières souches : 32₃, 22₂, 23₅, 34₁₃, 9₁₄, sont les moins tolérantes, et elles refusent de croître sur ces deux milieux. En somme, sur les vingt souches décolorantes étudiées, il n'y en a que cinq qui sont de forts acidotolérants, tandis que quinze sont des alcalitolérants, ce qui s'explique justement par leur propriété d'alcaliniser tous les milieux. Par l'emploi des milieux à réaction acide ou alcaline aux doses successivement croissantes, j'ai pu obtenir d'une même souche des variétés fortement décolorantes, jusqu'au point de ne pouvoir plus fermenter la lactose et de ne pas changer la couleur initiale de la gélose d'Endo, et, d'autre part, j'ai pu produire des variétés qui acidifient intensément les milieux lactosés (Endo y compris) sans les décolorer ensuite.

Pour mieux étudier, durant mes recherches, le phénomène de la décoloration de la gélose d'Endo, j'ai introduit, pour la première fois, l'emploi de ce milieu dans des tubes inclinés ; cette innovation m'a permis de constater que les cultures des colibacilles décolorants se conservent bien pendant des mois entiers à la température du laboratoire, en opposition avec la faible vitalité sur le même milieu des colibacilles normaux — ce qui s'explique justement par la neutralisation d'effet morbide de l'acidité produite dans le milieu d'Endo, grâce à son alcalinisation par les souches décolorantes. Cette constatation explique le haut pourcentage (32,5) des colibacilles décolorants isolés dans mes analyses du lait. Le fait que ce sont les médecins qui ont, les premiers, observé, isolé et étudié les colibacilles décolorants des matières fécales, s'explique facilement par l'absence d'habitude d'utiliser la gélose d'Endo dans la technique bactériologique laitière. Les cultures des colibacilles sur la gélose

d'Endo inclinée m'ont permis de constater, en outre, que la décoloration de ce milieu dépend de l'état physiologique de la culture étudiée, contrairement à l'opinion de GOLIKOVA, qui prétend que ce phénomène n'est pas lié à la vitalité de ces bacilles. J'ai pu démontrer qu'il est possible d'obtenir dans la même culture âgée, conservée à $\pm 20^{\circ}$ C., une décoloration du milieu d'Endo en bas du tube, où les colibacilles sont en pleine vitalité, tandis que la couleur rouge foncé persiste en haut du tube, où la culture est affaiblie ou partiellement morte, à cause de la dessiccation de la gélose en faible épaisseur.

SIERAKOWSKI et ZABLUDOWSKA [10], en 1930, ont démontré que les bactériophages en milieu alcalin sont plus résistants que leurs bacilles. Cette constatation, ainsi que la discordance entre LÖFFLER [9] et LAGRANGE, quant au rôle du bactériophage dans le phénomène de la décoloration d'Endo (le premier nie cette influence et le second l'affirme), m'ont fait accorder plus d'attention à l'étude de l'ultrapureté de mes souches. Pour m'assurer que mes cultures n'hébergent pas de bactériophages, j'ai employé la méthode de Roux, indiquée par D'HÉRELLE [3] ; elle consiste à isoler les bactéries des colonies situées en haut de la gélose inclinée ; je l'ai changée, de manière à employer la gélose d'Endo inclinée, ce qui facilite encore mieux l'épuration des cultures des bactériophages. Pour plus de sûreté, j'ai fait tous les passages, entre deux géloses, sur le bouillon à la bile ; l'addition de bile au milieu exerce une inhibition sur les bactériophages. Après une vingtaine de passages faits de cette manière, la décoloration de la gélose d'Endo n'a changé ni en intensité, ni en rapidité — ces caractères variant suivant les souches des colibacilles.

Pour expliquer le phénomène de la décoloration de la gélose d'Endo, il faut invoquer la grande plasticité des êtres microscopiques, comme bactéries, et des invisibles, comme bactériophages — plasticité qui, unie à la vitesse de leur multiplication, permet à la sélection de créer des types fondamentaux étudiés par les premiers bactériologues sous les noms des espèces et, à côté de ceux-là, de subsister aux milliers de variations nommées souches, dont l'existence est plus ou moins éphémère, suivant les conditions de leur vie.

CONCLUSIONS

1. L'espèce *Bact. coli alcaligenes*, créée par CHIARI et LÖFFLER en 1925, est à supprimer.
2. L'alcalinisation et la décoloration de la gélose d'Endo sont causées par des influences biochimiques de la culture des colibacilles.
3. Ces phénomènes sont liés à la vitalité des colibacilles.
4. L'alcalinisation et la décoloration de la gélose d'Endo ont lieu dans les cultures ultra-pures des colibacilles.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] H. CHIARI et E. LÖFFLER. *Centralbl. f. Bakt.* Abt. I, 1925, 96, 95.
 [2] S. GOLIKOVA. *Idem*, 1928, 108, 213.
 [3] F. D'HÉRELLE. Le bactériophage et son comportement, 1926.
 [4] A. KWASCHNINA. *Centralbl. f. Bakt.* Abt. I, 1931, 120, 227.
 [5] E. LAGRANGE. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 107, 1263.
 [6] E. LAGRANGE. *Idem*, 1932, 109, 4 et 77.
 [7] E. LAGRANGE. *Idem*, 1932, 110, 335 et 419.
 [8] I. LIPSKA. *Le Lait*, 1934, 14, 673.
 [9] E. LÖFFLER. *Centralbl. f. Bakt.* Abt. I, 1925, 96, 598.
 [10] S. SIERAKOWSKI et F. ZABLUDOWSKA. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, 103, 422.

LA PASTEURISATION A TEMPÉRATURE ÉLEVÉE DE COURTE DURÉE AUX ÉTATS-UNIS

par

M. W. YALE

Section de Bactériologie de la Station d'Essais Agricoles
de l'Etat de New-York, Geneva (N.-Y.).

(Fin.)

Organismes de la tuberculose.

Les bacilles de la tuberculose ont été très employés comme organismes d'essai pour déterminer l'efficacité des pasteurisateurs industriels, parce que ce sont probablement les plus résistantes des bactéries pathogènes trouvées dans le lait. Ci-dessous les résultats des recherches scientifiques effectuées sur cette question :

Electropure. — La destruction des bacilles de la tuberculose a probablement été plus étudiée pour l'Electropure que pour tous les autres types de pasteurisateurs, soit rapides, soit lents (30 minutes). Dans tous les cas, on a utilisé des appareils industriels standard. Si la technique utilisée par les divers expérimentateurs a quelque peu varié, elle a été la même dans les grandes lignes, en ce sens que le lait a étéensemencé en doses massives avec un mélange de variétés humaine et bovine de bacilles de la tuberculose. Dans la plupart des expériences, plusieurs millions de bacilles de la tuberculose existaient par centimètre cube dans le laitensemencé, et leur nombre était bien plus élevé qu'il l'aurait été dans la pratique courante. Le laitensemencé a été traité à diverses températures, généralement à 150° F. (65°5 C.), 155° F. (68°3 C.) et 160° F. (71°1 C.). Le lait traité a ensuite été inoculé à des cobayes, lesquels ont été autopsiés à la fin de périodes déterminées et examinés pour voir s'ils avaient des lésions tuberculeuses.