

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

TALCE-NIEDRA (Dagmara). — La catalase des bactéries d'acide lactique	225	teurs de la Répression des Fraudes. Application de la loi du 2 juillet 1935 en ce qui concerne les bis- cuits dits « Petit-beurre »	329
M. POLONOSVKI. — L'ammo- niaque du lait de vache. Sa signification en hygiène alimentaire. Application au lait concentré sucré	232	Circulaire à MM. les Inspec- teurs de la Répression des Fraudes. Vente de lait écrémé	330
Irène LIPSKA. — Les coli- bacilles et les coliphages chez les nourrissons	235	Arrêté du 22 octobre 1935 créant un comité du lait dans le département du Bas-Rhin	330
J. PIEN, J. BAISSE ET R. MARTIN. — Contribution à l'étude du diacétyle. (Fin.)	243	L'organisation internatio- nale des livres généalo- giques et du contrôle lai- tier	331
Revue :		Union des Fédérations de syndicats d'élevage	332
G. GÉNIN. — Emploi du caoutchouc dans l'industrie laitière	256	La production laitière alle- mande en 1934	332
Bibliographie analytique :		Production de la margarine au Danemark pendant les trois dernières années	333
1 ^o Les livres	260	Derniers recensements du bé- tail en Nouvelle-Zélande et au Danemark	333
2 ^o Journaux, Revues, Socié- tés savantes	268	Le bacille de la tuberculose dans le beurre	334
3 ^o Brevets	310	L'industrie laitière en Tché- coslovaquie	334
Bulletin bibliographique :		15 ^e Foire exposition de Vi- moutiers	335
1 ^o Les livres	312	Nécrologie. — M. HENNE- BERG	335
Documents et informations :			
E. HEGH. — Note sur l'orga- nisation et les travaux de la Fédération internatio- nale de laiterie	313		
Circulaire à MM. les Inspec-			

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

LA CATALASE DES BACTÉRIES D'ACIDE LACTIQUE

par

DAGMARA TALCE-NIEDRA

Institut de Microbiologie de l'Université de Lettonie

Directeur Dr. A. KIRCHENSTEINS.

On se sert assez souvent de la réaction de la catalase pour déterminer la qualité du lait, et on la recommande et l'applique à l'examen

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

de l'aptitude du beurre à la conservation, ainsi qu'au contrôle du levain lactique. Dans les deux derniers cas, le rôle décisif est attribué à la catalase des bactéries d'acide lactique ou à l'incapacité de ces bactéries de produire la catalase.

Qu'est-ce que la catalase ? : une enzyme possédant la faculté de décomposer le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène. Cette enzyme est fort répandue dans la nature.

D'après LOEV [1], l'importance de la catalase consiste en ce qu'elle paralyse l'activité de l' H_2O_2 qui se forme à l'oxydation des matières organiques, et qui est pernicieux pour les cellules. La théorie de la respiration de WIELAND [2] considère la déshydratation-catalase et un récepteur d'hydrogène. C'est l'oxygène qui agit dans l'organisme comme récepteur d'hydrogène ; à l'hydrogénation de l'oxygène il se forme du peroxyde d'hydrogène qui est déshydraté par la catalase.

GRIMMER [3] pense que la catalase est une enzyme réductrice ; le peroxyde d'hydrogène se réduit en eau, tandis que l'oxygène moléculaire est libéré. Quant à l'importance de la catalase, GRIMMER [3] trouve que des connaissances plus précises nous manquent encore en ce moment.

EULER [4] constate aussi qu'en ce moment il nous manque encore des idées précises sur le rôle de la catalase dans l'organisme ainsi que sur les rapports existants entre les fonctions de la catalase et les processus physiologiques et pathologiques.

En faisant un examen général de l'action de la catalase, il faut encore ajouter ce qui suit sur la concentration optimum des ions hydrogène. Nous savons que, parmi les ferments (ou enzymes), quelques-uns déploient leur activité seulement dans les milieux alcalins, comme la trypsine, ou dans les milieux acides, comme la pepsine ; d'autres ferments qui déploient leur activité aussi bien dans des solutions à réaction acide que dans celles à réaction alcaline, montrent tout de même un optimum d'activité à une certaine concentration d'ions H. ABDERHALDEN et FODOR [5] ont constaté qu'avec un changement des composants du milieu, l'optimum de la concentration d'ions H varie aussi. Pour cette raison, tout ce qui est dit sur le *pH* optimum de l'activité d'une certaine enzyme doit se rapporter seulement à un milieu défini avec des solutions définies quant à l'action-tampon. D'après FODOR [5], le *pH* exerce une influence sur la cinétique variable de l'activité des ferments, et le *pH* optimum dépend à son tour de la nature du milieu. C'est par cela qu'il faut expliquer l'optimum tellement variable de la réaction de la catalase, indiqué par les auteurs des épreuves en questions : ils ont travaillé dans de différentes conditions et avec de différents milieux. Ainsi, selon ITANO et ARAKAVA [6] (Japon), le *pH* optimum

de la catalase est 8,64, la réaction acide exerçant une influence plus dépressive que la réaction alcaline. MORGULIS [7] remarque, qu'en réalité, il n'y a pas d'optimum pH défini de la catalase, car l'activité de cette dernière est plus forte de 6,5 à 8,5.

VIRTANEN et WINTER [8] ont trouvé que la catalase du *Bact. Coli* ne dépendait pas du pH , parce que de 4,8 à 8,5, la catalase ne variait pas. En travaillant avec le *Bact. prodigiosum*, le *Staphylococcus pyogenes albus* et *aureus*, STAPP [9] constate un optimum de 7,5 à 8,0 avec un minimum jusqu'à 9,1 et un maximum de pH 3,1. En travaillant avec la catalase de différents fruits et en neutralisant le milieu avec du $n/10$ NaOH OVERHOLZER [10] a trouvé que l'activité de la catalase atteignait son plus haut degré à 6,0-6,5.

En neutralisant complètement le lait (avec de la phénolphtaléine) ROEDER et WASSERMANN [11] ont considérablement élevé le degré de décomposition de l' H^2O^2 . Un abaissement partiel du degré d'acidité favorise moins énergiquement cette décomposition.

Méthodes de définition de la catalase.

1. *La méthode volumétrique* peu définie, mais très souvent appliquée ; un grand nombre de différents appareils ; les résultats ne peuvent être comparés que si les expériences ont été effectuées avec des appareils identiques.

2. *La méthode du titrage avec du permanganate* plus définie, plus efficace que la méthode volumétrique, comme l'indique HENNICH, mais seulement dans le cas d'une forte activité de la solution de l'enzyme. Ne fournit pas non plus de résultats précis au titrage des milieux riches en substances organiques, tels que les milieux nutritifs des bactéries.

3. *La méthode des gouttes sur des plaques de verre*. L'auteur de cette méthode est le professeur Odo BUYVID, à Cracovie. Peu précise, cette méthode est rapide et fournit des résultats suffisants pour la comparaison.

4. *La méthode des capillaires* ressemble à la précédente en ce qui concerne la précision. Les résultats ne peuvent pas être énoncés en chiffres.

Dans mes recherches, j'ai employé *la méthode volumétrique* en me servant du catalyseur modifié de HENKEL, car, si les effets de la catalase sont faibles, cet appareil permet d'obtenir des résultats plus sûrs que l'appareil très estimé de FUNK. Je ne pouvais pas appliquer *la méthode du permanganate* à cause des milieux riches en substances organiques et de la faible réaction de la catalase. En appliquant parallèlement *la méthode des gouttes*, j'ai aussi obtenu de bons résultats.

Des épreuves relatives à la catalase des bactéries et des levures ont été publiées déjà en 1867 et on peut citer plusieurs auteurs

(SCHOENBEIN, GUTTMANN et autres [12]), qui l'ont constatée. En 1893 en examinant un grand nombre de cultures de bactéries, BEIJERINCK a constaté la catalase positive, à l'exception des vraies bactéries d'acide lactique et de différentes bactéries d'acide acétique. En 1907, O. JENSEN a encore appliqué, comme exception, les bactéries d'acide propionique et d'acide butyrique ; à son avis, les producteurs d'acide produisent en général une faible catalase. KONING, un des vieux auteurs, dit la même chose des vraies bactéries d'acide lactique (du groupe *Streptococcus acidilactici*). Les opinions de BEIJERINCK, JENSEN et KONING sont répétées, jusqu'à nos jours, par tous les manuels et une autorité contemporaine SONCKE-KNUDSEN [13] constate aussi en 1933, que les vraies bactéries d'acide lactique ne produisent pas la catalase.

Le bactériologue finlandais très connu VIRTANEN [14], qui durant ces dernières années a beaucoup travaillé à l'application de la nature et de l'action de la catalase, réfute ces deux vieilles constatations :

1^o Dans un ouvrage publié en 1925, en collaboration avec KAHRSTROM, il indique que le *Bact. prodigiosum* et le *Bact. lactis amari* élevés comme anaérobies, donnent un chiffre de catalase plus élevé, que s'ils sont élevés comme aérobies ; en 1928 et en 1931, il confirme son opinion concernant le chiffre de catalase beaucoup plus élevé des anaérobies ; de même les bactéries facultativement anaérobies, cultivées comme anaérobies, donnent une catalase plus élevée qu'elles ne donnent étant cultivées comme aérobies.

2^o Les bactéries d'acide propionique ont montré une plus grande capacité de produire la catalase que toutes les autres bactéries (contrairement à l'avis de JENSEN).

Nous possédons beaucoup de données contradictoires quant à l'intensité de la catalase des bactéries. Ces contradictions s'expliquent par la diversité des méthodes appliquées et des milieux employés.

Un certain ouvrage paru déjà depuis quelque temps, et dont les données sont mentionnées dans le manuel de LOEHNIS indique que la plus rapide catalase est produite par le *Bact. Coli* et une certaine sarcine ; en second lieu viennent la levure blanche, le *Streptococcus aureus*, ensuite le *Bacterium prodigiosum* ; une faible catalase est produite par le *Bact. Coli* et l'*Oidium albicans*. Les anaérobies auraient donné une catalase très faible.

En 1916, Odo BUYVID [15] a divisé les bactéries en quatre groupes au point de vue de la rapidité de la catalase. L' H^2O^2 est vigoureusement décomposé par les sarcines, les staphylocoques et divers microcoques ; moins forte est la décomposition par le *Bac. subtilis* et le *Bact. Coli* ; ensuite viennent le *Bact. typhi* et différentes bactéries aquatiques, les streptocoques et les diplocoques lactiques.

Odo BUYVID est le premier qui ait indiqué que *les diplocoques d'acide lactique produisent la catalase*.

A un des précédents congrès agronomiques en Lettonie, le Médecin-vétérinaire P. OZOLS avait parlé de différentes expériences concernant la catalase du beurre. Un certain streptocoque produirait la catalase, une catalase même plus forte que le *Bact. Coli*. Avec les mêmes recherches OZOLS [16] se présenta au Congrès international de laiterie en 1931, où l'information concernant la catalase des bactéries d'acide lactique fut reçue avec réserve. A l'Institut microbiologique de l'Université de Lettonie, l'étudiante Gerda LEPIKIS a comparé 76 différentes souches de bactéries isolées de l'air, de l'eau et du lait, Une catalase très rapide est donnée par les sarcines et les cocci produisant des pigments (ce qui est conforme à la classification de BUYVID) et les bâtonnets non sporulants ou sporulants qui liquéfient la gélatine. Les germes du groupe *Bact. Coli* donnent une faible catalase (ce qui correspond aux données de l'ancien ouvrage).

Expériences personnelles.

Pour contrôler le rapport entre la catalase et le degré de concentration du pH, j'ai tout d'abord observé la catalase dans du lait frais, ensuite — dans les mêmes échantillons — après 24 et 48 heures, le lait ayant été acidifié à 15° C. La catalase avait ordinairement diminué, à l'exception des cas, où l'acidification n'avait pas eu lieu. Si cependant les échantillons de lait avaient été neutralisés avec de la soude N/10 (pH 7,0-7,2), la catalase augmentait rapidement,

Nos	Catalase				Nos	Catalase				Lait stérile + NaOH (pH 7,0), catalase = 0,0
	Exploitation	Lait frais	Après 24 heures	Après 48 heures		Exploitation	Lait frais	Neutralisé à 15° après 24 heures	Neutralisé à 25° après 24 heures	
3	R	2,0	1,5	1,0	13	R	6,0	10,0	15,0	0,0
4	R	1,5	0,0	0,0	14	R	4,5	9,0	13,0	
9	R	4,0	1,0	0,0	15	R	3,0	8,0	12,0	
11	R	2,0	0,0	0,0	16	R	2,5	5,0	14,0	
2	M	3,0	1,5	1,0	14	M	5,0	7,0	14,0	
5	M	1,0	6,0(1)	0,0	15	M	2,0	5,5	10,5	
6	M	2,0	2,0(1)	0,0	16	M	2,5	5,0	14,0	
9	M	4,0	2,0	1,0	17	M	4,0	11,5	15,0	

(1) Après 24 heures, il n'y avait pas de coagulum.

comme le prouvent plusieurs exemples indiqués ci-dessus, surtout si l'échantillon avait été gardé à une température de 25° C. Ainsi, la catalase dans le lait est indubitablement arrêtée si le pH diminue jusqu'à 5,0, ou si le lait s'acidifie.

Les mêmes procédés de neutralisation ont été appliqués en travaillant avec les cultures pures liquides de bactéries d'acide lactique qu'on emploie ordinairement dans nos laiteries, c'est-à-dire avec la Flora Danica, les cultures de la Société centrale d'Economie rurale de Lettonie (L. L. C.) et celles de l'Institut microbiologique de l'Université de Lettonie (Latvijas Universitātes mikrobioloģiskais Instituts (L. U. M. I.).

Voici les résultats obtenus dans du lait :

Culture + NaOH	Age de la culture	pH	Catalase	Culture + NaOH	Age de la culture	pH	Catalase
Lait stérile	—	7,0	0,0	L. U. M. I.	18 h.	6,4	0,5
Fl. D.	18 h.	6,0	0,5	L. U. M. I.	24 h.	5,2	0,0
Fl. D.	24 h.	5,2	0,0	Dans un cas, la Fl. D. aussi bien que L. L. C. donnèrent une catalase = 1,0.			
L. L. C.	18 h.	6,2	0,5				
L. L. C.	24 h.	5,2	0,0				

Ensuite des souches isoléesensemencées furent mises à l'épreuve en appliquant la méthode des gouttes :

- 33 coloniesensemencées de Fl. Danica : 30 fois, la catalase fut négative.
3 fois, la catalase fut positive.
- 28 coloniesensemencées de L. L. C. : 24 fois, la catalase fut négative.
4 fois, la catalase fut positive.

Des souches positives, Fl. D. 16 fut transporté dans du lait neutralisé avec du NaOH et donna 1,0 après 24 heures ; la souche L. L. C. 7 donna 0,5 dans des conditions analogues. A titre de comparaison, dans les mêmes conditions, une souche du *Bact. Coli* donna aussi 1,0.

En ce qui concerne l'intensité de la catalase, j'ai obtenu en appliquant la méthode des gouttes, le résultat suivant : la plus rapide catalase est produite par l'*Oidium lactis* et par une certaine levure blanche ; ensuite viennent 4 souches du groupe du *Bac. mesentericus*, puis 5 souches du groupe *Bact. Coli* et 7 souches de diplocoques et de streptocoques d'acide lactique. En comparant les germes du groupe de bacilles et de coli indiqués avec les diplocoques et les streptocoques d'acide lactique dans le milieu nutritif de JENSEN, il apparaît aussi que les bacilles et certaines souches de *Bact. Coli* occupent la première place avec les chiffres de catalase suivants :

13,5, 8, 4,5, 4,0, 2,0 et 1,5, les streptocoques indiqués donnant 0,5. Toutes les expériences volumétriques furent effectuées à une température ordinaire et après 24 heures.

En outre, des diplocoques et des streptocoques d'acide lactique de Flora Danica furent isolés en 26 cas et, en observant la catalase des cultures pures de 24 heures, élevées dans du lait non écrémé et à une température de 25° C., dans 10 cas la réaction de la catalase fut positive et s'exprimait par 0,5-1,0. De même, de 24 ensemencements d'un certain échantillon de lait acidifié, en dix cas la catalase fut de 0,5-1,0. Je pensais que, en ce qui concerne la catalase, les souches positives appartiennent au groupe appelé *groupe de bactéries aromatiques d'acide lactique* ; mais il apparut que toutes les souches qui avaient produit la catalase d'après la méthode volumétrique, aussi bien que d'après celle des gouttes, donnèrent des résultats négatifs étant examinées à l'acétylméthylcarbinol.

Les recherches doivent être poursuivies dans les directions suivantes : 1° il faut se placer dans un milieu privé d'oxygène ; 2° il faut s'assurer si les vraies bactéries d'acide lactique ne produisent pas l'endocatalase (VIRTANEN indique aussi que la catalase des bactéries vivantes passe en petites quantités dans les solutions aqueuses, tandis que, dans les filtrats de cultures plus âgées, on trouve davantage de catalase).

A l'avenir, je me servirai aussi de la méthode de définition de la catalase du Professeur VIRTANEN, méthode, que j'ai eu l'occasion d'étudier l'été dernier en Finlande. VIRTANEN travaille avec une grande masse de cellules entièrement dégagées de milieu nutritif et il obtient, par voie de titrage, des résultats comparatifs numériquement calculables.

En pratique, la catalase des vraies bactéries d'acide lactique n'empêche pas l'application de la réaction à la définition de la qualité du beurre, car dans le beurre fraîchement préparé il n'y a pas de catalase — elle passe avec le babeurre et les eaux de rinçage.

La réaction de la catalase ne peut pas être recommandée pour la définition de la qualité du levain lactique (contrairement à l'avis de KNUDSEN), parce que dans les cas rares d'infection grave, une plus rapide augmentation de la réaction de la catalase peut avoir lieu. Une faible augmentation de la réaction peut arriver en conséquence de l'infection, ou sans infection, en considération de la catalase des vraies bactéries d'acide lactique.

CONCLUSIONS

1. Certaines souches de vraies bactéries d'acide lactique (du groupe *Streptococcus lactis*) produisent la catalase.

2. Si l'on cultive ces souches facultativement anaérobies, la

catalase n'est pas forte et s'exprime volumétriquement par 0,5-1,0.

3. La catalase ne peut pas servir à la définition de la qualité du levain lactique.

BIBLIOGRAPHIE.

- [1] Fr. SCHLUNK. *C. f. B.* 92. Orig. 116.
- [2] Felix HAUROWITZ. *Biochemie des Menschen u. der Tiere*, 1925, 41.
- [3] GRIMMER. *Lehrbuch der Chemie u. der Physiologie d. Milch*, 1926, 196.
- [4] H. EULER. *Chemie der Enzyme*, II, 3, 1934.
- [5] A. FODOR. *Das Fermentproblem*, 1929, 200.
- [6] *C. f. B.* II, 77, 1929, 401, Ref.
- [7] *C. f. B.* II, 82, 1930-1931, 427, Ref.
- [8] *Biochem. Z.*, 197, 1928-1929.
- [9] *C. f. B.* II, 75, 1928, 256, Ref.
- [10] *C. f. B.* II, 77, 1929, 257, Ref.
- [11] *Milchw. Forsch.*, 2, 1925, 138, Orig.
- [12] LÖHNIS. *Handbuch*, 1910.
- [13] *Le Lait*, 1933, t. XIII, p. 712.
- [14] *Le Lait*, 1927, t. VII, p. 181.
- [15] *C. f. B.* I, 77, 1916, Orig. 440.
- [16] *Congrès international de Laiterie* 1931.

L'AMMONIAQUE DU LAIT DE VACHE

Sa signification en hygiène alimentaire. Application au lait concentré sucré

par

le Professeur M. POLONOVSKI

L'ammoniaque est un constituant normal des milieux intérieurs, mais le plus souvent à l'état de traces seulement : ainsi ne trouve-t-on ordinairement dans le sang des mammifères que des concentrations infimes, de l'ordre du milligramme par litre. Chez l'homme ce taux se trouve même encore abaissé bien au-dessous de 0,1%.

Nous avons montré dernièrement (1) qu'il en était de même dans les laits, lait de femme ou lait de vache. Dans ce dernier, une série d'analyses, effectuées immédiatement sur des prélèvements de lait frais, recueilli aseptiquement, avec une technique rigoureuse de dosage, a donné des résultats assez variables, mais toujours compris entre 0 mgr. 2 et 1 mgr. par litre.

Les laits colostraux font par contre exception à cette règle. Il n'est pas rare de trouver de 15 à 25 milligrammes d'azote ammoniacal par litre.

(1) M. POLONOVSKI et P. BOULANGER, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1935, t. XVII, p. 1178.)