**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 2 (1911)

**Heft:** 1

**Artikel:** Contributions à l'étude de l'action bactéricide et antimicrobienne des vins et des boissons alcooliques [à suivre]

**Autor:** Gaillard, A.Th. / Seiler, Frédéric

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-984308

**Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

**Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

**Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF:** 12.07.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch**

mit nur einer (Lacôte 1904), in welchem keine Invertase nachweisbar war. Die gallisierten Weine, Nr. 6 bis 9, enthielten nachweisbare Spuren von Invertase mit Ausnahme von Nr. 8. In den zwei Trockenbeerweinen Nr. 10 und 11 war Invertase unzweifelhaft nachweisbar. Diese Getränke können indessen nicht zu den längere Zeit gelagerten Weinen gezählt werden.

Aus den Ergebnissen der hiermit besprochenen Versuche lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Auch im ausgebauten, klaren und jahrelang gelagerten Wein können sich noch Spuren von Invertase vorfinden.
2. Gallisierte Weine und auch Kunstweine (Trockenbeerweine) scheinen sich in bezug auf den Invertasegehalt von Naturweinen nicht wesentlich zu unterscheiden.

---

# Contributions à l'Etude de l'Action bactéricide et antimicrobienne des vins et des boissons alcooliques.

Par le Dr. A. Th. GAILLARD.

(Travail exécuté au Laboratoire d'analyse chimique et bactériologique des denrées de l'Université de Lausanne. Prof. Frédéric Seiler, directeur.)

---

## *Introduction.*

C'est une idée assez généralement répandue que le vin, ainsi que d'autres boissons alcooliques, jouissent de propriétés hygiéniques et plus spécialement de propriétés bactéricides. Que ce soit dans les ménages où l'on additionne le vin d'eau ou l'eau de vin, que ce soit à la montagne où quelques gouttes de cognac, de rhum ou encore d'alcool de menthe doivent suffire à annihiler l'effet désastreux des microbes les plus dangereux, c'est toujours la même idée qui prédomine.

A ce propos un fait curieux se produisit en France lors des crises viticoles du Midi, encore présentes à la mémoire. Dans les sphères médicales françaises alors plutôt hostiles se dessina un mouvement très net en faveur du vin et celui-ci, que l'on ne buvait plus dans de nombreux milieux, par prudence peureuse ou par snobisme, de proscrit qu'il était, devint très prescrit.

On reconnut alors que cet antiseptique précieux du tube digestif pouvait et devait être recommandé, à condition d'en user modérément et de s'interdire tout vin non naturel ou falsifié.

En somme, un peu partout se fait de nos jours un mouvement bien reconnaissable de retour au vin. A notre avis, ce n'est pas seulement un courant déterminé par une mode passagère, mais bien plutôt le résultat des études scientifiques publiées ces dernières années.

On buvait autrefois du vin parce que c'était un plaisir et pour ce, on en buvait trop. On en boira maintenant parce qu'il est hygiénique et salutaire dans beaucoup de cas, mais on en usera avec mesure.

Cette croyance aux propriétés antimicrobiennes du vin, déjà très ancienne, a même donné lieu à des dictons assez curieux. Pline lui-même disait de l'usage du vin : « Un peu de vin fait bien aux nerfs ; trop de vin leur fait mal. Il récrée l'estomac, excite l'appétit, amortit les chagrins et les soucis. »

Il était intéressant d'examiner si la pratique d'additionner de vin ou d'une autre liqueur une eau ou une boisson douteuse, repose sur une base scientifique suffisante.

Des essais dans ce sens ont été faits à diverses époques par plusieurs bactériologistes dont nous citerons plus loin les travaux. Ces expériences ont été faites surtout en France et dans notre pays.

M. le professeur *Seiler*, ayant fait, en collaboration avec MM. de *Stoutz* et *Munier*, ses assistants, une série de recherches préliminaires sur ce sujet, entreprit d'établir d'une façon aussi exacte que possible les causes de l'action bactéricide des boissons alcooliques ainsi que les espèces microbiennes plus particulièrement sensibles à cette action. Une partie de ces recherches, celles faites en collaboration avec M. Munier[1]), a fait l'objet d'une publication parue dans le Journal Suisse de Chimie et Pharmacie.[2]) Ce travail, bien qu'ayant déjà éclairci une partie de la question, laissait en suspens bon nombre de points très importants, nécessitant pour leur élucidation une étude bactériologique spéciale. M. le professeur Seiler nous offrit de continuer ce travail sous sa direction et de chercher à résoudre les points restés obscurs, ce que nous avons accepté.

Nous avons eu, durant nos recherches, l'occasion de recourir à l'obligeance de M. le Dr Roux, chef du laboratoire cantonal de bactériologie, et nous le remercions ici vivement.

Avant de donner connaissance du résultat de nos propres expériences, nous pensons qu'il est nécessaire d'établir exactement quelle était la situation de l'étude de cette question au moment où nous l'avons reprise.

C'est donc par un premier chapitre en quelque sorte historique que nous faisons débuter notre travail.

---

## CHAPITRE PREMIER.

### Etude historique et didactique.

Ainsi que nous l'avons déjà dit, la question qui fait l'objet de notre travail a déjà été soumise à plusieurs études, entreprises dans des sens divers. Le mobile de ces études était toujours la recherche de l'action microbicide des boissons alcooliques ou contenant encore des essences et acides de fruits. Mais en parcourant ces travaux on se rend bientôt compte qu'aucun d'eux n'a envisagé la question sous toutes ses faces. Il est par consé-

---

[1]) Bactériologiste de la Grande Pharmacie Mendoza, République Argentine.

[2]) 1909, nº 42 et 44.

quent difficile d'opérer un classement de ces divers travaux sans suivre un schéma bien déterminé.

Il nous a paru que le plus simple, pour arriver à établir l'état exact du sujet, était de classer les travaux selon les différents éléments des boissons à étudier sur lesquels les divers auteurs avaient dirigé leur attention spéciale.

Pour cela voyons quels sont, dans les liquides améliorants dont nous nous occupons, les éléments qui pourraient jouir de propriétés modificatrices sur les microbes. Nous pensons que le procédé le plus simple pour cela est de faire la liste de ces éléments et d'opérer un triage par élimination.

La liste ci-dessous a été établie d'après les données du Manuel Suisse des Denrées alimentaires.

Eléments des vins ou liqueurs.

1° Alcool.
2° Alcools supérieurs ou fusels.
3° Extrait sec.
4° Matières minérales, sulfates, etc.
5° Acidité.
6° Colorants.
7° Sucre et substances réductrices.
8° Acide sulfureux.
9° Glycerine.
10° Tannin.

Nous pouvons tout de suite faire 3 classes :

*1re Classe.* Eléments favorisant plutôt, dans de certaines proportions, le développement des microbes :

*a)* sucre et substances réductrices,
*b)* glycerine.

*2me Classe.* Eléments à action incertaine ou nulle :

*a)* extrait,
*b)* matières minérales,
*c)* colorants,
*d)* alcools supérieurs ou fusels,
*e)* tannin.

*3me Classe.* Eléments à action bactéricide nettement reconnue :

*a)* alcool,
*b)* acidité totale,
*c)* acide sulfureux libre ou combiné.

### Première Classe.

*a) Sucre et substances réductrices, b) glycerine.* Ces éléments se trouvent dans les boissons dont nous nous occupons en quantités relativement faibles. Ils peuvent jouer, surtout la glycerine, et suivant leur plus ou moins grande proportion, des rôles différents, empêchant ou favorisant le développement des microbes suivant qu'ils sont en forte ou en faible quantité. L'action favorisante est le fait de solutions plutôt diluées, à cet état de concentration les sucres, par exemple, étant facilement décomposés sous l'action de plusieurs microbes ou levures. On utilise cette propriété dans certains milieux de culture auxquels on ajoute soit du sucre, glucose, dextrine, etc., soit de la glycerine. L'alcool et les acides dans les vins ou liqueurs ont, eux, un effet tout contraire.

A l'état de solution concentrée, les hydrates de carbone et plus particulièrement les sucres ont plutôt une action antimicrobienne. C'est ce qui les fait utiliser dans la conservation des fruits, confitures, sirops, etc.

La glycerine concentrée est également douée de propriétés conservantes et même bactéricides pour certaines espèces. C'est à cette dernière propriété qu'elle doit d'être employée pour la préparation du vaccin.

### Deuxième Classe.

*a) Extrait.* Nous ne pensons pas qu'il faille le faire entrer en ligne de compte dans la recherche de l'action bactéricide, car il dépend en somme du poids spécifique et de la teneur en alcool, leur étant proportionnel directement ou inversément. Il comprend d'ailleurs d'autres éléments qui seront étudiés pour eux-mêmes. Nous comparerons cependant le chiffre d'extrait avec les résultats obtenus, à titre de renseignement.

*b) Matières minérales.* Celles-ci sont très généralement, pour les vins ordinaires qui ne renferment pas une forte proportion de sucre, proportionnelles à l'extrait dont elles représentent environ le 10 %. Nous aurons l'occasion d'exposer plus loin que les acides combinés sous forme de sulfates, chlorures, etc. ont un pouvoir bactéricide excessivement faible. Nous ne voyons par conséquent pas l'utilité de prendre ici ce facteur en considération.

*c) Colorants.* Les produits employés comme colorants pour les boissons sont ordinairement inertes au point de vue bactériologique. Un vin naturel ne doit d'ailleurs pas en renfermer d'artificiels. D'autre part, les études qui ont été faites par différents auteurs (2, 26) avec des vins rouges et blancs ne semblent pas indiquer une supériorité du vin plus coloré sur le vin moins coloré ou inversément.

*d)* et *e) Alcools supérieurs ou fusels. Tannin.* Nous ne pensons pas que l'étude des propriétés bactéricides de ces éléments spéciaux ait fait l'objet d'un travail sérieux jusqu'à maintenant, du moins n'avons nous rien trouvé dans la littérature, qui s'y rapportât. On peut prévoir toutefois, vu

le caractère alcoolique des fusels ou en raison des qualités acides du tannin, que ceux-ci excercent une action se rapportant à celle des éléments que nous étudions dans la classe suivante, action cependant minime à cause des faibles proportions de tannin ou fusels contenus dans les vins ou liqueurs. Un travail spécial tendant à élucider ce point serait sûrement intéressant.

### Troisième Classe.

*a) Alcool.* De nombreux travaux d'auteurs très divers ont été faits dans le but de démontrer scientifiquement l'action bactéricide de l'alcool éthylique. Pour ce qui est des alcools autres que l'éthylique, la littérature est assez pauvre. Mentionnons cependant les travaux de *Koch* (14) sur l'alcool allylique, à la suite desquels cet auteur conclut que l'alcool soit absolu, à 50 ou à 33 % ne tue pas les spores charbonneuses même après une durée d'action de 110 jours et que l'alcool allylique enraye leur développement sans cependant les détruire, déjà à une dilution de 1 : 167,000.

*Barsikow* (15) également, dans ses travaux sur l'alcool amylique, lui attribue une action analogue à celle de l'alcool éthylique.

L'un des premiers qui se soit occupé de la question est peut-être *Buchholz* (16) qui trouva en 1875 que la présence de 2 % d'alcool suffisait pour empêcher le développement des bactéries ; que, dans des milieux additionnés de 20,88 % d'alcool absolu, les germes pouvaient végéter après une durée d'action de 85 minutes, tandis qu'une addition de 8,23 % agissant plus longtemps tuait les bactéries. Cet auteur conclut en disant qu'une proportion d'alcool de 10 % en moyenne suffit pour tuer les bactéries, si l'action se prolonge suffisamment.

*Furbringer* (17), *Reinicke, Schäffer, Ahlfeld, Vahle, Charles Leedham Green, Adolf Schmidt* (13) engagèrent en 1888 une polémique sur le fait avancé par *Furbringer,* que l'alcool, dans la désinfection des mains, avait une action purement mécanique, servant à faciliter l'action des agents microbiens ultérieurs. Finalement les qualités bactéricides de l'alcool éthylique furent reconnues de façon générale après de nouveaux essais.

Restait à savoir à quelle concentration l'alcool atteignait son maximum d'action.

Sans préciser autrement, *Poten* (18) déclare qu'il est préférable d'employer de l'alcool à 48 % plutôt qu'à 99 %, tandis que *Fuchs, Buchner* et *Megele* (13) désignent la proportion de 60 % comme douée de la plus grande puissance bactéricide.

Après ses expériences sur différentes cultures de Prodigiosus, Pyocyaneus, Staphyllococcus pyogenes aureus et Bacillus Anthracis, *Epstein* (19) conclut que l'action bactéricide de l'alcool était nulle aux concentrations de 99,6 % à 80 %, maximale entre 80 et 50 % et diminuait dans les dilutions contenant une proportion d'alcool inférieure à ce dernier chiffre.

*Minervini* (20), prenant comme sujets d'expérience les Micrococcus te-

tragenus, Bacilllus pyocyaneus, Micrococcus prodigiosus, Staphyllococcus, Coli, Subtilis et Anthracis arrive à des conclusions analogues en attribuant à l'alcool de 50 à 70 % la plus forte action bactéricide et à l'alcool absolu la plus faible.

*Weigl* (21), recherchant aussi à quelle concentration l'alcool était le plus actif, arrive aux chiffres de 90 et 80 %, tandis que *Baterelli* (22) trouve que la proportion de 50 % convient le mieux, les alcools à 70 et 25 % ayant une action moindre et les alcools à 80 % ou absolu étant quasi inactifs.

*Salzwedel et Elsner* (23) arrivent à des conclusions analogues et placent l'alcool, comme désinfectant, entre le phénol et le sublimé corrosif.

*Barsikow* (15), dans ses recherches avec les Bacillus anthracis, Staphyllococcus pyogenes aureus, Bacillus pyocyaneus, attribue aux concentrations de 40 à 60 % l'effet maximum, déjà après deux minutes de contact. En dehors de ces limites, l'action diminue et l'alcool absolu, même après 5 heures de contact, ne détruit pas la vitalité des germes en l'absence complète d'eau. En présence d'eau, sur des fils de soie humectés, l'alcool absolu agit comme l'alcool de 40 à 60 % le ferait sur des germes secs.

*Wirgin* (24) est l'auteur de l'un des travaux les plus importants traitant des relations entre l'alcool et les microorganismes, tels que Bacillus anthracis, typhi, coli, prodigiosus, pyocyaneus, Staphyllococcus pyogenes aureus, Corynebacterium diphteriae. D'après ses recherches, l'action serait plus marquée à 37° qu'à 25° ou 18° avec un alcool marquant 8,5 %. A 7 ou 5 % les résultats furent les mêmes, l'action devenant moins intense aux concentrations de 4 et 3 % et nulle à 2 et à 1 %. Le même auteur, continuant ses recherches, trouve que, un milieu de culture étant traité par l'alcool, s'il se produit une végétation microbienne à 37°, la même végétation se produira à température ordinaire, mais après un temps plus long. Si l'on ajoute de l'alcool de plus en plus concentré, on peut arriver à empêcher tout développement en plaçant le milieu de culture à 37°, tandis que l'on constatera un développement à la température ordinaire.

Enfin *Wirgin* est d'avis que de très petites quantités d'alcool peuvent servir de nourriture aux microorganismes, contrairement à l'opinion d'autres auteurs qui leur donnaient une fonction plutôt stimulante.

Voici, résumées ci-dessous, les conclusions auxquelles aboutirent *Harrington et Walker* (25), qui firent des essais au moyen de fils de soie desséchés :

*a)* l'alcool de 99,6 % (absolu) à 70 % est sans action bactéricide ;

*b)* les bactéries qui n'ont pas de spores, mises en contact, humides, avec de l'alcool à 40 % sont tuées en 5 minutes ; quelques concentrations agissent déjà après une minute ;

*c)* les concentrations de 60 à 70 % ont l'action la plus forte sur les bactéries soit humides, soit desséchées.

*Russ* (13) arrive à des conclusions qui s'éloignent assez peu de celles-ci. Il donne les proportions de 40 à 60 % comme ayant le pouvoir antimicrobien le plus puissant, celles de 20, 30, 70, 80 % ne produisant un effet qu'après un contact beaucoup plus long.

Les résultats changent quelque peu suivant les microorganismes qui ont servi de base aux expériences, mais, en aucun cas, les spores ne sont détruites.

Les conclusions de *E. Chr. Hansen* diffèrent de celles de *Russ* en ce que le premier admet que l'alcool même concentré exerce une action bactéricide sur les bactéries desséchées et étendues en couches infiniment minces.

Il résulte de l'examen de tous ces travaux que l'alcool a une action bactéricide bien marquée et maximale entre 40 et 80 % et qu'en s'éloignant de ces limites dans un sens ou dans l'autre, cette action diminue graduellement pour devenir nulle.

*b) Acidité totale.* Quelques auteurs, *Bodin* (3), *Sobrazès et Marcandier* (2) entr'autres attribuent à l'acidité du cidre ou du vin leur action bactéricide manifeste.

Au cours de son travail sur la conservation du bacille typhique dans le cidre, Bodin fit des recherches en prenant comme base d'expériences l'acide malique. Il trouva que dans des bouillons acidifiés, le bacille se développe facilement si la proportion d'acide ne dépasse pas 1 : 1000 ; à 1,5 : 1000 le développement est très lent et à 2 : 1000 il est nul et les bacilles existants sont même rapidement tués.

Dans une autre série d'essais, le même auteur étudia l'action de l'acidité seule, en neutralisant plus ou moins partiellement l'acidité des échantillons de cidre. Les résultats furent concluants : dans un cidre absolument neutre, le bacille typhique subsistait après 20 jours ; dans un cidre à demi neutralisé il subsista jusqu'au 4me jour et dans un cidre naturellement acide, il était tué après 24 heures.

Voici maintenant, pour ce qui nous intéresse, les conclusions de l'auteur :

1° Le bacille typhique introduit dans le cidre, y est détruit dans un laps de temps qui va de la 2me à la 18me heure après la contamination du liquide.

2° Cette destruction du bacille d'Eberth est surtout due à l'acidité du cidre et se produit toujours dans le temps indiqué, pourvu que l'acidité de la liqueur soit de 2 g pour 1000 au moins, en acide malique.

MM. *J. Sobrazès et A. Marcandier,* de Bordeaux, étudiant l'action du vin sur le même bacille d'Eberth, arrivent à des conclusions analogues et trouvent que l'acidité joue un rôle prépondérant. Ils constatèrent également ce fait en étudiant l'action de vins rouges ou blancs plus ou moins neutralisés ou dilués.

Les propriétés antimicrobiennes des acides ont été l'objet des travaux

de *S. Kitasato*. Après avoir constaté que l'acide sulfurique tuait le bacille du typhus à une concentration de 0,8 %, cet auteur établit une échelle qu'il est, pensons nous, utile de reproduire ici. Les acides sont rangés par activité décroissante et les chiffres indiqués entre paranthèses sont ceux des concentrations correspondant à une activité égale :

| | | |
|---|---|---|
| Acide | chlorhydrique | (0,2 %) |
| » | azotique | (0,2 %) |
| » | sulfurique | (0,28 %) |
| » | acétique | (0,3 %) |
| » | phénique | (0,34 %) |
| » | formique | (0,356 %) |
| » | oxalique | (0,366 %) |
| » | lactique | (0,4 %) |
| » | tartrique | (0,476 %) |
| » | malique | (0,476 %) |
| » | critique | (0,476 %) |
| » | tannique | (1,66 %) |
| » | borique | (2,7 %) |

Des résultats semblables, surtout en ce qui concerne les acides organiques, furent obtenus par Aloïs Pick.

Il semble donc bien établi que les acides, quels qu'ils soient, dans un vin ou liqueur, ont une action fortement bactéricide.

*c) Acide sulfureux.* L'action de cet acide a été étudiée spécialement par *P. Miquel* (30). MM. *Sobrazès et Marcandier* (2) s'en sont également occupés dans leur travail traitant de l'action du vin sur le bacille d'Eberth.

Les solutions aqueuses d'acide sulfureux à 1 : 1500 s'opposent à la multiplication du bacille d'Eberth et le tuent à 1 : 1000. Nous n'avons pas dans les boissons une proportion aussi forte d'acide sulfureux ; tout au plus l'analyse en décelle-t-elle dans la généralité des cas, une dose maximale de 0,200 g par litre. Par exception, cette quantité peut aller jusqu'à 0,400 g par litre. Il nous semble ainsi logique d'attribuer à l'acide sulfureux du vin le pouvoir d'en augmenter les qualités bactéricides.

Ces qualités seraient assez importantes, si tout cet acide sulfureux était à l'état libre. Mais il n'en est pas ainsi et nous avons tout au plus le dixième de l'acide sulfureux total trouvé par l'analyse chimique qui soit de l'acide libre. Certains vins contiennent bien jusqu'à 130 mg d'acide sulfureux libre par litre, mais ce sont là des cas spéciaux et le Manuel Suisse des Denrées alimentaires n'admet pas dans un vin normal plus de 200 mg d'acide sulfureux total ou plus de 20 mg d'acide sulfureux libre par litre.

La majeure partie de l'acide sulfureux se trouve donc combinée soit aux aldéhydes, sucres ou autres substances organiques, ou bien oxydé sous forme de sulfates alcalino-terreux ou autres, toutes substances de propriétés antimicrobiennes bien faibles. Pour ce qui est des combinaisons organiques,

MM. *Schmitt, Schaffer* et *Bertschinger* ont montré que le pouvoir antiseptique de l'aldéhyde sulfureux était au moins dix fois plus faible que celui de l'acide sulfureux libre.

En résumé, nous pensons être dans le vrai en disant que l'acide sulfureux augmente dans de faibles proportions les propriétés bactéricides du vin, si nous envisageons la petite quantité y contenue.

L'action microbicide du vin et du cidre serait donc indéniable d'après ce que nous avons dit plus haut et même, si l'on s'en rapporte aux publications de l'Institut Pasteur, le vin vieux serait un antiseptique assez sérieux et puissant pour qu'un chirurgien, obligé de faire une opération urgente et pris au dépourvu, puisse s'en servir avec succès.

Il ressort nettement de tout ce qui précède que les éléments qui jouent, et de beaucoup, le principal rôle antimicrobien ou bactéricide dans les vins ou liqueurs, sont les alcools et les acides. Aussi nous occuperons-nous surtout de ces deux facteurs, soit que nous envisagions leur action par eux-mêmes, isolément, soit que nous comparions l'action bactéricide aux résultats de leurs combinaisons.

---

## CHAPITRE II

### Partie expérimentale.

Au cours de ses expériences, faites en collaboration avec M. *Munier*, M. le prof. *Seiler* avait été amené à établir le plan d'études suivant pour la question qui nous occupe :

1° Employer comme base d'expériences une eau potable ordinaire, d'une composition bactérienne bien connue.

2° Se servir comme moyen de coupage d'un vin de compositions chimique et bactérienne bien définies.

3° Déterminer par l'expérience :

*a)* la proportion de vin à ajouter à l'eau pour obtenir la plus forte action bactéricide ;

*b)* le temps de contact nécessaire entre les 2 liquides pour obtenir la meilleure stérilisation.

4° Etablir si la stérilisation est complète ou sinon à quel degré de stérilisation on peut arriver.

5° Déterminer quelles sont les espèces microbiennes qui résistent et quelles sont celles qui sont détruites.

6° Enfin, établir si possible un rapport entre l'analyse chimique de chaque vin et son action bactéricide pour arriver si possible à préciser les causes ou les facteurs de cette stérilisation.

Tous ces points se rapportaient plus spécialement aux vins. Nous avons étendu le champ des observations en comprenant également dans ce pro-

gramme les autres boissons alcooliques les plus communes et quelques liqueurs à essences.

Rappelons à propos de boissons, que la composition bactérienne des boissons non alcooliques et gazeuses, ainsi que celle des vins sans alcool, vins non fermentés, a fait l'objet d'études spéciales portant sur les liquides suivants :

Vins de raisins rouges
» » » blancs
Cidre de pommes
» » poires
Limonade (Vanille)
» (Pêches)
» (Aspérule)
» (Citrons)
» (Oranges)
» (Grenadine)
» (Ananas)
» (Cerises)
» (Framboises)
» (Cassis)
» (Groseilles)
» (Abricots)
Ginger Ale (doux clair)
» » (doux foncé)
» » (sec clair)
» » (sec foncé)
Hop Ale
Ginger Beer (doux)
» » (sec)
Cidre-Champagne
Kola Water
Soda Water
Eau de Selters

Les points 1, 2, 3 et 4 du programme donné ci-dessus ont fait l'objet du travail de M. *Munier,* publié sous la direction de M. le prof. *Seiler.* Nous nous sommes proposés alors de vérifier les conclusions auxquelles cet auteur était arrivé et d'étudier les questions suivantes, sous chiffre 5 et 6.

---

## Choix des Echantillons.

Il fallait pour cela, en tout premier lieu, nous procurer les échantillons de vins ou liqueurs nécessaires. Nous avons eu soin de choisir ceux-ci de telle façon que chaque catégorie soit représentée et que nous puis-

sions éviter le reproche que l'on nous aurait peut-être fait, de choisir nos vins ou liqueurs parmi les meilleurs.

Les échantillons rassemblés, il fallait en faire l'analyse chimique. Afin d'être sûr de l'uniformité des méthodes employées pour la détermination des différents coefficients chimiques, nous avons fait nous-même toutes les opérations analytiques et ceci d'après les données officielles du Manuel suisse des Denrées alimentaires. Les résultats de ces analyses chimiques sont donc comparables aux résultats publiés par les laboratoires officiels.

A titre de renseignement nous ajouterons encore que tous les poids spécifiques, sans exception, ont été pris par la méthode du picnomètre, méthode certainement la plus exacte, à notre avis.

Pour satisfaire à la clause mentionnée sous chiffre 1 du programme, toutes les expériences ont été faites avec l'eau d'un lac, dont la composition bactérienne quantitative est connue, ensuite des très nombreuses analyses qui en ont été faites au laboratoire cantonal vaudois. Nous pensons qu'il est utile, afin de fixer un peu les idées à ce sujet, et intéressant également, de reproduire ci-dessous les résultats de quelques-unes de ces analyses :

| Echantillon n° | Nombre de germes par $cm^3$ | Coli bacilles |
|---|---|---|
| I | 230 | 0 |
| II | 500 | 0 |
| III | 640 | 0 |
| IV | 600 | 0 |
| V | 610 | 0 |
| VI | 320 | 0 |
| VII | 120 | + |
| VIII | 240 | + |
| IX | 250 | + |
| X | 170 | 0 |
| XI | liq. | 0 |
| XII | 500 | 0 |

Nous avons vu ce qui en était de la composition chimique de nos échantillons. Quant à leur composition bactérienne, les expériences, déjà faites dans ce domaine, nous ont guidé pour le choix d'une méthode rationnelle. Si l'on s'en rapporte aux recherches de *Schaffer* et *v. Freudenreich* (29), les vins soit naturels soit artificiels sont très riches en levures, ce qui était à prévoir ; mais les vins naturels bien conservés ne contiennent presque pas de bactéries, tandis que les vins artificiels fourmillent de bâtonnets ou de cocques de différentes espèces, ainsi que le démontrent les deux tableaux suivants, pages 51 et 52.

Tabelle d'après Schaffer et v. Freudenreich.

## Vins naturels.

| | |
|---|---|
| 1° Rivaz, vin blanc (âgé de 4 mois). | 3,000 colonies de levures de même espèce par cm³. |
| 2° Corsier, vin blanc (âgé de 4 mois) | 4,000 colonies de levures de même espèce par cm³. |
| 3° Vin rouge français (4 à 5 mois). | 2,500 colonies de levures de même espèce par cm³. |
| 4° Dézaley, vin blanc (18 mois). | 20,000 colonies de levures de même espèce par cm³. |
| 5° Etna, vin blanc (7 mois), très trouble. | 800 colonies de bactéries diverses par cm³. |
| 6° Goldberger, vin blanc du Rhin (5 ans de bouteille). | 266 colonies de levures par cm³. |
| 7° Mâcon rouge (4 ans de bouteille). | 236 colonies de levures de deux espèces par cm³. |
| 8° Dôle rouge (4 ans de bouteille). | 489 colonies de levures par cm³. |
| 9° Margaux rouge (15 ans de bouteille). | Sur les plaques ne se développent ni levures ni bactéries. |
| 10° Dézaley vieux | Les plaques restent stériles. |

Tabelle d'après Schaffer et v. Freudenreich.

## Vins alcooliques artificiels.

| | |
|---|---|
| 1° Vin de K. à Berne. | Par cm³ : 120,000 col. levures,<br>15,000 » bactéries,<br>300 moisissures. |
| 2° Vin rosé n° 1 de Porrentruy (5 mois). | Par cm³ : 110 col. levures et beaucoup de colonies du même coccus qu'au n° 3 de Porrentruy. |
| 3° Vin rosé n° 2 de Porrentruy (2 mois). | Par cm³ : 40 colonies de levures et beaucoup de petites colonies de coccus comme au vin suivant. |
| 4° Vin rosé n° 3 de Porrentruy (2 mois). | Par cm³ : 126,000 colonies, dont<br>1/10 levures,<br>9/10 micrococques. |
| 5° Vin de J. G., Zurich, n° 1. | 136,080 colonies. Seulement bactéries et micrococques. |
| 6° Vin de J. G., Zurich, n° 2. | 6,000 colonies bactéries et<br>1,000 levures. |
| 7° Vin rosé de St-Gall, un peu coloré avec du vin naturel. | 4,000 colonies d'un bacille liquéfiant. Un peu de moisissures. Pas de levures. |
| 8° Vin blanc (vin naturel additionné d'artificiel). | 2,400 colonies, surtout des levures. Peu de micrococques. |

Dans le but de simplifier les expériences, tous les échantillons dont nous nous servons sont soumis, avant leur emploi, à un chauffage intermittent (tyndalisation) pendant 6 jours, à raison d'un chauffage à 64° chaque jour pendant $^3/_4$ d'heure. Les résultats en ont été excellents puisque, comme il est facile de s'en convaincre par l'examen des expériences, tous les germes ont été détruits sauf un seul, alors que sans ce procédé de tyndalisation on en comptait 3, 5, 7, 10 et même jusqu'à 190 par cm³ de vin. C'étaient, il est vrai, presque uniquement des levures qui auraient pu gêner la numération des germes de l'eau mélangée aux échantillons.

Nous nous sommes demandé si ces chauffages n'altéraient pas, ne changeaient pas la composition chimique des échantillons. Des analyses nombreuses faites après aussi bien qu'avant la tyndalisation nous ont convaincu du contraire : les résultats avant et après etaient parfaitement concordants.

L'analyse bactériologique quantitative des eaux employées et des échantillons a été faite par la méthode des plaques de gélatine[1]), soit numérotation en milieu solide.

La gélatine, dont voici la formule,

| | | |
|---|---|---|
| Gelatine . . . . . | | 100,0 |
| Peptone Merck . . . | | |
| Glucose . . . . . | $\overline{aa}$ | 10,0 |
| Natrium chlorat. . . | | |
| » phosphoricum | $\overline{aa}$ | 2,5 |
| Aqua fontana . . . | q. s. ad | 1000,0 |

était coulée dans les plaques par quantités de 10 cm³ et rapidement solidifiée par refroidissement, après avoir été neutralisée au carbonate de soude et alcalinisée très faiblement (indicateur : Tournesol).

Ce milieu de culture avait, pour les essais comparatifs que nous devions faire, le grand avantage d'être constamment le même. En outre, pour obtenir une homogénéité plus grande encore, nous avons préparé pour chaque série d'ensemencements de la gélatine fraîche toujours de la même formule, de sorte que nous avons évité l'écueil d'avoir une fois des cultures sur plaques vieilles de 15 jours ou 3 semaines et une autre fois sur plaques de deux jours. Nos résultats de numérations sont donc exactement comparables et les anomalies éventuelles ne peuvent pas être attribuées à une instabilité de la composition du milieu de culture.

Les ensemencements se font d'après le procédé habituel à la cuiller de platine, soit au $^1/_{10}$ soit au $^1/_{20}$ de cm³. Toutes les plaques sont examinées (3 ou 5 pour une numération) jusqu'au moment de la liquéfaction complète ou jusqu'à ce que le nombre de colonies n'augmente plus et reste stationnaire au moins une semaine.

---

[1]) Formule de gélatine et système de plaques de M. le prof. Seiler.

Les déterminations sous chiffres 3 *a* et *b* du programme ayant été faites, nous avons commencé nos recherches en nous basant sur les résultats obtenus précédemment et sur les faits suivants qui ont été démontrés :

1° Le mélange de 50 % de vin à une eau potable diminue toujours dans une forte proportion le nombre de microbes ayant faculté de germination contenus dans celle-ci.

2° Cette diminution se produit avec tous les vins ; elle est plus forte pour les vins blancs que pour les vins rouges. La diminution moyenne immédiate du nombre des germes a été dans les vins blancs de 88,8 % et dans les vins rouges de 73,9 %.

3° La diminution du nombre des germes est immédiate ; elle augmente cependant encore pendant 2 à 3 heures, moment où elle atteint son maximum. Ce maximum peut être absolu, soit de 100 % ; cela s'est produit dans deux de nos expériences ; mais sur la moyenne des vins mis en expérience, on peut dire que la diminution du nombre de germes atteint au bout de 2 à 3 heures de contact le chiffre de 96,37 %.

Pour répondre à la question sous chiffre 4, partiellement résolue déjà, nous avons étudié l'action des vins ou liqueurs sur le nombre des germes de l'eau, en faisant un mélange à parties égales de chacun des facteurs, vin ou eau, soit 50 % de vin et 50 % d'eau en poids. Pour les liqueurs ou les boissons dont la teneur en alcool était particulièrement forte, nous avons fait des mélanges de 30 et 10 % de l'échantillon pour 70 et 90 % d'eau, afin de ramener la composition moyenne des mélanges à des chiffres plus comparables entre eux.

Toute autre et bien nouvelle était la question du chiffre 5. Pour la résoudre, nous avons repiqué, de chaque plaque, les colonies qui nous paraissaient différentes. Les milieux usuels employés pour les déterminations ont été les suivants :

Bouillon,
Agar,
Gélatine glucosée,
Lait,
Pomme de terre.

Les milieux spéciaux ont été préparés chaque fois que les résultats obtenus au moyen de l'observation des cultures sur milieux usuels l'indiquaient.

Le diagnostic a été porté après élucidation des points suivants :

1° Aspect microscopique } sans coloration.
2° Mouvement }

3° Aspect microscopique après coloration, groupement, vacuoles, spores ou autres particularités. Coloration à la fuchsine phéniquée ou au violet de gentiane phéniqué le plus habituellement et coloration de Hansen pour les spores. Celles-ci ont pu être observées souvent en

prolongeant simplement l'action de la chaleur sur la préparation recouverte du colorant.

4° Gram.
5° Aerobiose ou anaerobiose.
6° Gélatine plaque.
7° » strie.
8° » piqûre.
9° Agar strie.
10° » piqûre.
11° Bouillon (voile, odeur, etc.).
12° Réaction de l'Indol.
13° Lait (coagulation, coloration, réaction, odeur).
14° Pomme de terre (coloration, pigmentation).

En même temps que nous ensemencions des plaques pour la numération des germes de l'eau, nous en préparions aussi pour la détermination qualitative de ces germes. La même chose fut faite pour les mélanges.

Chiffre 6 du programme. Nous nous occuperons d'établir si possible un rapport entre l'analyse chimique de chaque échantillon et son action bactéricide après avoir mentionné les résultats auxquels nous sommes arrivés.

---

## RÉSULTATS

des analyses chimiques et bactériologiques, qualitatives et quantitatives.

---

### ÉCHANTILLON N° 1.

*Désignation :* vin rouge de table, ordinaire.
*Goût :* normal.
*Couleur :* rouge rubis.
*Poids spécifique :* 0,9948.
*Alcool en volume* %: 11,77 %.
*Extrait sec en g,* ‰ : 24,48 ‰.
*Acidité totale en acide tartrique :* 7,95 ‰.
» » » » *sulfurique :* 5,17 ‰.
*Chiffre de Gautier :* 19,72.
» » *Masure :* 11,84.

*Eau employée :* eau d'un lac[1]), prise toujours au même endroit, en notant chaque fois la température. T = 12° 4.
*Nombre de microbes par cm³ de l'échantillon :* 0.
*Nombre de microbes par cm³ d'eau :* (7030) 2266 (liquéfaction complète le 5me jour). Le 1er chiffre, entre parenthèses, indique les résultats ob-

[1]) Eau très employée dans l'industrie, autrefois utilisée comme eau potable.

tenus avec une eau riche en microbes. Le deuxième chiffre, celui que nous conserverons pour les comparaisons, donne les résultats obtenus avec une eau moins riche.

*Nombre de microbes par cm³ du mélange de 50 % d'eau + 50 % de vin :*

1° au moment du mélange : (3515) 1133 ;

2° après une durée de contact de 2 h. ½ : (50) 90.

*Diminution :* (98,58) 92,06 %.

**Espèces résistantes.**

1*a*) *Aspect microscopique.* Bâtonnets de grandeur moyenne, parfois en petits amas.

*Mouvement.* Nul.

*Aspect microscopique après coloration.* Rien de particulier. Coloration très bonne, soit à la fuchsine, soit au violet de gentiane. Pas de spores.

*Gram* +.

*Microbe aerobie.*

*Plaque de gélatine.* Petites colonies en relief gris-rosé, brillant mat, non liquéfiantes.

*Strie sur gélatine.* Bien développée, assez épaisse, grisâtre et ensuite gris-rosé. Contours nets.

*Piqûre gélatine.* Bien développée en surface. Voir strie.

*Agar strie.* Aspect crêmeux rosé pâle. Devient plus foncé avec le temps. Assez épais. Très légère peau sur l'eau de condensation. Dépôt presque insignifiant.

*Agar piqûre.* Surface comme agar strie. Profondeur, développement presque nul.

*Bouillon.* Dépôt léger, filamenteux. Liquide clair.

*Indol.* Négatif ou presque imperceptible.

*Lait.* Pas de changements.

*Pomme de terre.* Peu développé, couche mince, devenant d'un aspect farineux rosé en séchant.

*Diagnostic :*

**Bacterium cremoïdes.**

1*b*) *Aspect microscopique.* Petits coccus isolés ou en groupes de 4 et 5, de forme parfois irrégulière. Semblent mêlés à des bâtonnets courts, mais qui ne sont à examen plus approfondi que des diplococcus.

*Mouvement.* Nul.

*Gram* +.

*Gélatine plaque.* Petite colonie d'aspect crêmeux rosé non liquéfiante.

*Gélatine strie.* Assez développée de couleur rose-brune.

*Gélatine piqûre.* Surface comme la strie. Profondeur beaucoup moins développée.

*Agar strie.* Crêmeux, légèrement rosé, devenant peu à peu brunâtre clair aux places sèches.

*Agar piqûre.* Assez développée, un peu mamelonnée, aspect comme strie.
*Bouillon.* Liquide clair. Dépôt rose pâle un peu floconneux.
*Lait.* Coagulation excessivement lente. Réaction acide.
*Pomme de terre.* Enduit gras rosé.
*Diagnostic :*

**Micrococcus roseus.**

1*c*) *Aspect microscopique.* Nombreux filaments ramifiés. Ramifications souvent perpendiculaires, parfois assez courtes. Coloration très bonne au violet de gentiane.
*Gram* +.
*Gélatine plaque.* Colonie blanche avec duvet blanc, nageant dans la gélatine liquéfiée. Hyphes aériens. Au microscope filaments entrecroisés, avec ci et là un renflement (sporanges ?)
*Gélatine strie.* } Voir plaque. Forte odeur de terreau.
*Gélatine piqûre.* }
*Agar strie.* Il y a de nouveau formation du duvet blanc. Pas de pigmentation.
*Agar piqûre.* Surface grisâtre, résistante, s'enlevant d'un morceau, un peu plissée, recouverte par places de filaments aériens formant duvet.
*Bouillon.* Voile assez fort. Dépôt assez fort, arrangé un peu en lignes radiaires.
*Lait ?*
*Pomme de terre.* Formation du duvet blanc à la surface d'un enduit assez épais, tombant parfois par morceaux au fond du tube. Forte odeur de terreau.
*Diagnostic :*

**Actinomyces chromogenes $\beta$ (Gasperini) alba.**

1*d*) Nous avons isolé ici une colonie non liquéfiante sur plaque gélatine, de couleur jaunâtre à jaune-verdâtre, brillante. Au microscope, elle se présentait comme formée de cocques isolés, assez régulièrement distribués. Tous les milieux permettaient un développement assez avancé, et les enduits, d'aspect un peu crêmeux, étaient toujours jaunâtres. Le lait était acidifié, mais non coagulé ! Les préparations ne se coloraient pas bien au Gram.

Nous pensons, vu ces caractères, pouvoir ranger ce microbe dans le groupe que *Lehmann et Neumann* ont établi pour ces coccus non liquéfiants, de couleur jaune, soit dans le groupe du

**Micrococcus sulfureus.**

1*e*) *Aspect microscopique.* Bâtonnets assez réguliers, assez grands, arrondis aux extrémités, isolés ou en chaînes longues ou de 3 à 4 articles. Nombreuses spores ovoïdes.

*Mouvement.* Faible.

*Gram* +.

*Gélatine plaque.* Colonie grisâtre, liquéfiant la gélatine en forme d'assiette. Trouble plus marqué au centre de la partie liquéfiée. Bords un peu crénelés.

*Gélatine piqûre.* Liquéfaction en entonnoir, puis en cylindre. Les voiles se formant à la surface tombent au fond et sont remplacés par d'autres. Trouble uniforme.

*Gélatine strie.* Voir gélatine plaque. Il se forme aussi un voile à la surface de la partie liquéfiée.

*Agar strie.* Enduit gris-sale, rosé-brunâtre, couvrant toute la surface. Plissements se forment avec le temps. Faible odeur de terreau ou de terre après l'orage.

*Agar piqûre.* Voir agar strie. Plissements mieux marqués.

*Bouillon.* Voile assez fort. Trouble faible. Au bout de quelques semaines le bouillon prend une teinte brunâtre plus foncée.

*Indol.* Très faible.

*Lait.* Coagulé le 2me jour.

*Pomme de terre.* Enduit gris-rosé, sale, se plissant à la longue.

*Diagnostic :*

**Bacillus Mesentericus ruber.**

---

**ÉCHANTILLON N° 2.**

*Désignation :* vin rouge précédent additionné de 2 % d'alcool.
*Couleur :* normale.
*Goût :* normal.
*Poids spécifique :* 0,9927.
*Alcool en volume* %*:* 13,77 %.
*Extrait sec en g* ‰ *:* 24,48 ‰.
*Acidité totale en acide tartrique :* 7,95 ‰.
» » » » *sulfurique :* 5,17 ‰.
*Chiffre de Gautier :* 21,72.
» » *Masure :* 13,86.

*Eau employée :* la même que précédemment.
*Nombre de microbes par cm³ de l'échantillon :* 0.
*Nombre de microbes par cm³ d'eau :* (7030) 2266.
*Nombre de microbes par cm³ du mélange de 50 % d'eau + 50 % de vin :*
1° au moment du mélange : (3515) 1133 ;
2° après une durée de contact de 2 h. ½ : (70) 57.
*Diminution :* (98,01) 94,97 %.

**Espèces résistantes.**

2*a*) *Aspect microscopique.* Filaments très longs, avec embranchements courts ou longs.

*Gram* +.

*Gélatine plaque.* Colonie petite, brun clair, entourée d'une auréole d'un brun plus foncé, diminuant insensiblement dans la gélatine. Non liquéfiante. Le centre devient ensuite grisâtre, petit, sec, comme corné.

*Gélatine strie.* } Voir plaque.
*Gélatine piqûre.* }

*Agar strie.* Développement lent. Enduit blanchâtre, gommeux, sec. Ensuite pigment brun qui se fonce peu à peu.

*Agar piqûre.* Coloration brune du milieu. Voir strie.

*Bouillon.* Voile léger. Coloration brune très lente. Dépôt floconneux.

*Lait.* Brun clair à la surface. Réaction alcaline.

*Pomme de terre.* Pellicule gris-jaunâtre, se couvrant ensuite de filaments aériens blancs.

*Indol.* Très peu distinct.

Toutes les cultures ont une odeur de terreau faible.

*Diagnostic :*

**Actinomyces chromogenes.**

2*b*) *Aspect microscopique.* Streptobâtonnets. Chaînes régulières et chaînes à articles gonflés. Nombreuses spores ovales.

*Gram* +.

*Gélatine plaque.* Colonie blanche liquéfiante, trouble uniforme, centre jaunâtre. Liquéfaction rapide.

*Gélatine strie.* Voir plaque.

*Gélatine piqûre.* Prolongements latéraux. Liquéfaction en écuelle-entonnoir, puis cylindrique.

*Agar strie.* Enduit brillant humide, gris-blanchâtre. Surface parcourue de nombreux filaments entrecroisés, en tous sens, formant comme un réseau.

*Agar piqûre.* Prolongements latéraux perpendiculaires à la piqûre, en paquets, d'inégales longueurs. Surface blanc-gris, brillante humide.

*Bouillon.* Voile. Nombreux flocons. Dépôt filamenteux.

*Indol.* —

*Lait.* Coagulé rapidement.

*Pomme de terre.* Peu développé. Blanc grisâtre, mince, mat. Odeur faible indéfinissable (urine, moisi, terre ?).

*Diagnostic :*

**Bacillus mycoïdes.**

---

**ÉCHANTILLON N° 3.**

*Désignation :* vin rouge n° 1, additionné de 4 % d'alcool.

*Couleur :* } normaux.
*Goût :* }

*Poids spécifique :* 0,9906.

*Alcool en volume* %*:* 15,77 %.

*Extrait sec en g* ‰ : 24,48 ‰.
*Acidité totale en acide tartrique :* 7,95 ‰.
» » » » *sulfurique :* 5,17 ‰.
*Chiffre de Gautier :* 23,72.
» » *Masure :* 15,87.

*Eau employée :* la même que précédemment.
*Nombre de microbes par cm³ de l'échantillon :* 0.
*Nombre de microbes par cm³ d'eau :* (7030) 2266.
*Nombre de microbes par cm³ du mélange de 50 % d'eau + 50 % de vin :*
1° au moment du mélange : (3518) 1133.
2° après une durée de contact de 2 h. ½ : (43) 53.
*Diminution :* (98,78) 95,32 %.

**Espèces résistantes.**

3*a*) *Aspect microscopique.* Bâtonnets assez gras. Nombreuses spores. Chaînes nombreuses et longues.
*Gram* +.
*Gélatine plaque.* Colonie assez grande, liquéfiant la gélatine en forme de soucoupe. Couleur blanchâtre. Trouble plus accentué au centre. Forme ronde régulière.
*Gélatine strie.* Voir plaque.
*Gélatine piqûre.* Liquéfaction en coupole, puis cylindrique. Pellicule forte et résistante.
*Agar strie.* Enduit blanchâtre, brillant humide. Dépôt blanchâtre, pellicule légère.
*Agar piqûre.* Surface comme strie. Piqûre un peu granuleuse.
*Pomme de terre.* Enduit jaunâtre-gris d'abord brillant, puis devenant mat en s'étendant. A la fin, aspect farineux, grisâtre.
*Lait.* Coagulé en 24 heures.
*Indol.* —
*Bouillon.* Voile s'attachant aux parois. Dépôt floconneux blanchâtre.
*Diagnostic :*

**Bacillus subtilis.**

3*a*) *Actinomyces chromogenes* (voir 2*b*).

Deux colonies de coloration centrale brun très clair, avec pigment diffus brun plus foncé. Examen et cultures comme 2*a*.

3*c*) Comme 3*a*, mais colonies plus petites.

La coloration au Gram manque par places. La pomme de terre se recouvre tout de suite d'un enduit jaune-gris mat, farineux, qui devient un peu rouge-brunâtre après trois semaines.

Le lait est coagulé plus lentement qu'en 3*a*.
*Diagnostic :*

**Bacillus subtilis.**

### ÉCHANTILLON N° 4.

*Désignation :* vin rouge n° 1, additionné de 1,36 ‰ d'acide tartrique.

*Couleur :* } normaux.
*Goût :* }

*Poids spécifique :* 0,9954.
*Alcool en volume* %*:* 11,77 %.
*Extrait sec en g* ‰ *:* 25,82 ‰.
*Acidité totale en acide tartrique :* 9,29 ‰.
» » » » *sulfurique :* 6,04 ‰.
*Chiffre de Gautier :* 21,06.
» » *Masure :* 10,14.

*Eau employée :* la même que précédemment.
*Nombre de microbes par cm³ de l'échantillon :* 0.
*Nombre de microbes par cm³ d'eau :* (7030) 2266.
*Nombre de microbes par cm³ du mélange de 50 % d'eau + 50 % de vin :*
1° au moment du mélange : (3515) 1133 ;
2° après une durée d'action de 2 h. ½ : (53) 43.
*Diminution :* (98,49) 96,20 %.

#### Espèces résistantes.

4*a*) *Aspect microscopique.* Bâtonnets un peu moins réguliers et épais que pour 2*b*).
*Gram* +.
*Gélatine plaque.* Colonie grande, liquéfiante, bords réguliers, ronde. Trouble plus accentué au centre. Couleur blanchâtre.
*Gélatine strie.* Voir plaque.
*Gélatine piqûre.* Liquéfaction en entonnoir, puis cylindrique. Odeur aromatique.
*Agar strie.* Enduit brillant humide, jaunâtre. Petit dépôt floconneux et pellicule à la surface du liquide.
*Agar piqûre.* Surface comme strie. Piqûre peu grenue.
*Bouillon.* Voile mince et flocons rares.
*Indol.* Très faible.
*Lait.* Coagulé en 24 heures, puis coagulum reliquéfié lentement. Odeur de fromage.
*Pomme de terre.* Peu développé, grisâtre, mat.
*Diagnostic :*

**Bacillus butyricus.**

---

### ÉCHANTILLON N° 5.

*Désignation :* vin rouge n° 1, additionné de 2,72 ‰ d'acide tartrique.

*Couleur :* } rien de spécial.
*Goût :* }

*Poids spécifique :* 0,9960.
*Alcool en volume* %: 11,77 %.
*Extrait sec en g* ‰ : 27,17 ‰.
*Acidité totale en acide tartrique :* 10,64 ‰.
» » » » *sulfurique :* 6,92 ‰.
*Chiffre de Gautier :* 22,41.
» » *Masure :* 8,85.

*Eau employée :* la même que précédemment.
*Nombre de microbes par cm³ de l'échantillon :* 0.
*Nombre de microbes par cm³ d'eau :* (7030) 2266.
*Nombre de microbes par cm³ du mélange de 50 % d'eau + 50 % de vin :*
1° au moment du mélange : (3515) 1133.
2° après une durée de contact de 2 h. ½ : (36) 83.
*Diminution :* (98,98) 92,68 %.

**Espèces résistantes.**

5*a*) *Aspect microscopique.* Bâtonnets arrondis aux extrémités, quelques chaînes et de nombreuses spores.
*Gram* +.
*Gélatine plaque.* Colonie liquéfiante rappelant 3*a*, mais plus petite. Ronde, centre plus foncé.
*Gélatine strie.* Voir plaque.
*Gélatine piqûre.* Liquéfaction en entonnoir, puis cylindrique. Liquide uniformément trouble.
*Agar strie.* Enduit brillant humide, jaune-grisâtre. Dépôt blanchâtre ; liquide couvert d'une petite pellicule.
*Agar piqûre.* Surface comme strie. Piqûre très peu développée en profondeur.
*Pomme de terre.* Enduit assez épais, d'abord jaune brillant, ensuite mat, plus mince et plus étendu avec petits reliefs.
*Lait.* Coagulé en 24 heures. Coagulum redissout peu à peu.
*Bouillon.* Voile léger. Trouble uniforme, petits flocons.
*Indol.* —
*Diagnostic :*

**Bacillus mesentericus.**

5*b*) 2 colonies à pigment brunâtre ; tous les caractères correspondent à ceux donnés pour :

**Actinomyces chromogenes.**

---

**ÉCHANTILLON N° 6.**

*Désignation :* vin rouge n° 1, additionné de 2 % d'alcool et de 1,36 ‰ d'acide tartrique.

*Couleur :* } rien de spécial.
*Goût :* }

*Poids spécifique :* 0,9932.
*Alcool en volume* %*:* 13,77 %.
*Extrait sec en g* ‰ *:* 25,84 ‰.
*Acidité totale en acide tartrique :* 9,31 ‰.
» » » » *sulfurique :* 6,05 ‰.
*Chiffre de Gautier :* 23,08.
» » *Masure :* 11,83.

*Eau employée :* la même que précédemment.
*Nombre de microbes par cm³ de l'échantillon :* 0.
*Nombre de microbes par cm³ d'eau :* (7030) 2266.
*Nombre de microbes par cm³ du mélange de 50 % d'eau + 50 % de vin :*
1° au moment du mélange : (3515) 1133 ;
2° après une durée de contact de 2 h. ½ : (56) 50.
*Diminution :* (98,41) 95,59 %.

**Espèces résistantes.**

6*a*) *Aspect microscopique.* Bâtonnets isolés et en chaînes. Spores nombreuses.
*Gram* +.
*Gélatine plaque.* Colonie liquéfiante, grandissant assez rapidement, gris blanchâtre, trouble uniforme, pellicule flottant par grands morceaux.
*Gélatine strie.* Voir plaque.
*Gélatine piqûre.* Liquéfaction en entonnoir. Liquide uniformément trouble.
*Agar strie.* Grisâtre-jaunâtre, brillant humide. Par places sec, mat, nombreux replis secs. Eau de condensation trouble, pellicule s'attachant aux parois.
*Agar piqûre.* Comme strie à la surface, nombreux replis secs.
*Pomme de terre.* Après 8 heures un peu crêmeux, après 24 heures replis assez élevés, perpendiculaires, minces, secs. Deviennent brunâtre avec le temps.
*Lait.* Coagulé rapidement.
*Bouillon.* Trouble faible. Voile fort et résistant.
*Indol.* —

Les cultures ont un peu l'odeur de terreau et d'ammoniaque à la fois.
*Diagnostic :*

**Bacillus vulgatus** (Migula)
ou **Bacillus graveolens** (Meyer et Gottheil).

---

**ÉCHANTILLON N° 7.**

*Désignation :* vin rouge n° 1, additionné de 4 % d'alcool et 2,72 ‰ d'acide tartrique.
*Couleur :* } normaux.
*Goût :* }
*Poids spécifique :* 0,9917.
*Alcool en volume* %*:* 15,77 %.

*Extrait sec en g* ‰: 27,20 ‰.
*Acidité totale en acide tartrique :* 10,67 ‰.
» » » » *sulfurique :* 6,94 ‰.
*Chiffre de Gautier :* 26,44.
» » *Masure :* 11,82.

*Eau employée :* la même que précédemment.
*Nombre de microbes par cm³ de l'échantillon :* 0.
*Nombre de microbes par cm³ d'eau :* (7030) 2266.
*Nombre de microbes par cm³ du mélange de 50 % d'eau + 50 % de vin :*
1° au moment du mélange : (3515) 1133 ;
2° après une durée de contact de 2 h. ½ : (36) 60.
*Diminution :* (98,97 %) 94,70 %.

**Espèces résistantes.**

7*a*) Colonie absolument blanche avec duvet blanc, hyphes aériens, aucune pigmentation.

7*b*) Colonie semblable à 7*a*), seulement les milieux, surtout la gélatine, se colorent en rouge-vineux très vif, le pigment diminuant à mesure que l'on s'éloigne de la colonie.

7*c*) Colonie comme les deux précédentes, sauf le milieu, coloré en rouge-brun orangé.

Par des repiquages sur différents milieux on obtient des variations assez sensibles de pigmentations. En outre, nous avons remarqué que plus le pigment était foncé, plus les propriétés liquéfiantes des différentes espèces diminuaient :

7*a*) par exemple liquéfiait rapidement la gélatine ;
7*b*) ne liquéfiait qu'au bout de 15 à 20 jours,
et 7*c*) au bout d'un mois environ, tandis que
2*d*) que nous avons déjà vu, ne liquéfiait pas, du moins dans des temps s'étendant à plusieurs mois.

Tous les caractères réunis de ces cultures nous font penser que ces 3 espèces correspondent aux suivantes de Gasperini :

7*a*) **Actinomyces chromogenes β alba.**
7*b*) **Actinomyces violaceus.**
7*c*) **Actinomyces aurantiacus.**

(A suivre.)