

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica  
Departamento de Bioquímica  
Madrid (España)

## Observations biochimiques sur l'anguillule du vinaigre

M. Comenge Gerpe

(Recibido para publicar el 3 de septiembre de 1955)

L'anguillule du vinaigre c'est un ver appartenant à l'ordre Eunematodes superfamille des Rabdiadioidés famille Anguillulinidæ, sub famille Anguillulinés genre Anguillula, espèce acéti, Müller 1786; Turbatrix acéti, Peters 1927; Vibrio acéti, Muller 1783; Gordius acéti, Oken 1815; Rhabditis acéti, Dujardin 1845.

C'est un nématode cylindrique, avec la cuticule transparente, non striée.

Mâles de 1-2 mm. long par 24-40  $\mu$  de diamètre, avec deux spicules égales de 38  $\mu$  environ, avec un gouvernacle de forme de quille. Ils possèdent deux paires de papilles preanales; une pair de papilles adanales et une pair de papilles postanales toutes ventrales, ainsi qu'une pair de papilles postanales dorsales. Il n'existe pas bourse caudale, ni d'expansions aliformes.

Femelle de 2,4 mm. de longueur par 40 à 72 de diamètre; vivipare, elle donne naissance à des larves rabditoïdes mesurant 220  $\mu$  environ de longueur par 12  $\mu$  de diamètre.

*Habitat.* — Vinaigre, empois de farine aigri et milieux acides divers; accidentellement elle vit parasite de l'homme, dans l'urine et dans l'exudat vaginal, vraisemblablement introduits dans la vagine lors des injections de l'eau avec du vinaigre contaminé d'anguillules.

Quant à sa distribution géographique, elle est cosmopolite.

Voilà ce que nous apprend Pasteur sur la vie des anguillules (Pasteur: Oeuvres, T. III, ps. 69-70.1924):

« Les anguillules ont besoin de gaz oxygène pour vivre. Les faits les plus vulgaires, tels que la mort assez prompte des anguillules dans les flacons bouchés et remplis de vinaigre, me permettraient de le démontrer. Or, nous savons que l'acétification ne se produit qu'à la surface du liquide, dans un voile mince et frêle de micoderma acéti qui se renouvelle sans cesse par parties à la suite de chaque addition de nouveau vin dans les tonneaux de la fabrique. Si nous supposons ce voile bien formé et en travail d'acétification active, tout l'oxygène qui arrive à la surface du liquide est mis en oeuvre par la plante. Celle-ci en prive totalement les anguillules situées au-dessous d'elle et nageant dans les couches supérieures du vinaigre. Les anguillules se sentant alors dans l'impossibilité de respirer, et guidés par un de ces instincts dont les animaux à tous les degrés de l'échelle zoologique nous offrent de si curieux exemples, se réfugient sur les parois du tonneau, tout à près du niveau du liquide ou elles viennent former une couche humide, blanche, épaisse de plus d'un millimètre, haute de plusieurs centimètres, toute animée et grouillante. Là seulement ces petits êtres peuvent respirer. Mais on doit comprendre qu'ils ne cèdent pas facilement la place au mycoderme. J'ai assisté maintes fois, dans des expériences particulières, à une sorte de lutte qui s'établit entre eux et la plante. A mesure que celle-ci, suivant les lois de son développement, s'étale peu à peu à la surface, les anguillules réunies au-dessous d'elle, et souvent par paquets, paraissent faire un effort pour l'entraîner dans le liquide sous la forme de lambeaux chiffonnés. A cet état elle ne peut pas leur nuire, car nous avons reconnu que la plante submergée n'a plus qu'une action à peine sensible. »

D'après les indications de Pasteur, nous avons semé des anguillules sur un litre de vin étendu d'un litre d'eau ; tous les phénomènes décrits par Pasteur ont été observés.

Avec ce milieu de culture comme moyen nous avons fait les expériences suivantes :

Premièrement nous nous avons procuré du vinaigre de vin pur ; nous avons monté au laboratoire un appareil comme la fig. 1.

Il s'agit d'un grand flacon bouché avec un bouchon de liège triperforé. Un d'eux sert à insérer un entonnoir à long bec qui arrive jusqu'au fond ; un autre porte un tube terminé en double siphon ; le dernier trou assure l'entrée de l'air. On remplit de vin jusqu'à la moitié et on ensemece le *Micoderma acéti* dans la surface à l'aide d'une plume d'oie. On fait une légère succion dans le tube à siphon de façon de le remplir ; comme ça on peut soutirer de temps à temps une certaine quantité de

vinaigre sans nuire le voile en ajoutant une quantité donnée de vin par l'entonnoir pour recevoir la même quantité de vinaigre qui sort par le siphon.

Une fois résolue la fabrication de vinaigre de confiance nous avons tenté d'avoir des cultures pures d'anguillules dans ce vinaigre, stérilisé à l'aide de l'action oligodynamique du chlorure d'argent.

Nous avons fait maintes cultures dans des flacons de Roux avec du vinaigre stérile et nous avons échoué ; au bout de quelques jours les anguillules meurent.

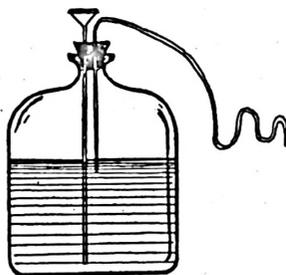


Fig. 1

Nous avons échoué de même dans des cultures dans une dissolution acétique d'un titre égal au vinaigre, même si nous ajoutons des solutions nutritives minérales ou bien des cendres de vinaigre. C'est n'est pas le vinaigre qui nourrit les anguillules ; les cultures dans du vinaigre stérile qui peuvent faire vivre quelques jours les anguillules ne varient pas son acidité comparée à des moyens de culture mis dans les mêmes conditions sans anguillules comme témoins.

Nous allons détailler quelques expériences :

Le 20 janvier 1953 nous avons fait une solution nutritive constitué par

Phosphate monopotasique ... ..	4 gr.
Chlorure de sodium ... ..	7 »
Chlorure de calcium ... ..	0'26 gr.
Eau q. s. p. ... ..	1 litre

De cette solution nous avons pris 100 cc. et nous lui avons ajouté :

Acide acétique glacial pur ... ..	20 c. c.
Eau ... ..	455 c. c.
Lactoflavine ... ..	10 µg.
Aneurine ... ..	20 µg.

Nous avonsensemencé, dans le tout disposé dans un flacon de Roux pour assurer la présence de l'air, avec 100 c. c. de vinaigre bourré d'anguillules. Finalement, pour stériliser la dissolution, nous avons ajouté 1 gr. de chlorure d'argent récemment précipité. Le flacon se dispose dans une armoire pour assurer une température  $\pm 15-20^\circ$ .

De même nous avons fait les expériences suivantes :

Solution nutritive minérale ... ..	100 c. c.
Alcool ... ..	20 c. c.
Eau ... ..	455 c. c.
Vinaigre bourré d'anguillules ... ..	100 c. c.
Chlorure d'argent récemment précipité ... ..	1 gr.

Solution nutritive minérale ... ..	100 c. c.
Glucose ... ..	2'5 gr.
Vinaigre rouge ... ..	25 c. c.
Acohol absolu ... ..	20 c. c.
Eeau ... ..	455 c. c.
Vinaigre bourré d'anguillules ... ..	100 c. c.
Chlorure d'argent récemment précipité ... ..	1 gr.

Au bout d'une semaine toutes les anguillules ont mort. C'est n'est pas la manque d'air, ni les vitamines, ni les éléments minéraux ; elles ont mort tout simplement de faim, puisque la valeur du vinaigre reste la même. C'est sûrement qu'il lui manque la nourriture habituelle qui ne doit être autre que le micoderma les levures et les bactéries qui souillent le vinaigre.

Pour le vérifier nous avons fait une série d'expériences, avec du vinaigre stérile au moyen du chlorure d'argent en ajoutant du extrait de levure libre de cellules.

5-III-53 :

Vinaigre ... ..	450 c. c.
Extrait de levure (Yeast extract, Difco) ... ..	1'25 gr.
Vinaigre bourré d'anguillules ... ..	50 c. c.
Chlorure d'argent récemment précipité... ..	1 gr.

On a mis un flacon témoin sans anguillules.

L'expérience finit le 17 avril 1953 ; les anguillules se sont développées pendant ce temps normalement et se sont reproduit.

On a déterminé la quantité globale d'azote dans le flacon de culture et dans le témoin ; voici les résultats :

Azote total du témoin 0,095 gr. ... ..	0'612
Azote total du liquideensemencé	
0'101 gr. N x 6'25 ... ..	0'631
Anguillules recoltées ... ..	0'304 gr.
Protéines contenues ... ..	0'096

Les anguillules peuvent habiter dans un milieu neutre ; nous avons préparé le milieu suivant :

Eau distillée... ..	500 c. c.
Disolution nutritive minerale... ..	50 c. c
Extrait de levure d'anguillules ... ..	3 gr.

elles ont vécu pendant 1 mois. Au bout de cet temps les cultures se sont infectés ; le chlorure d'argent en milieu neutre n'a pas de si fortes propriétés oligodynamiques que sous un milieu acide.

#### *Analyse de l'anguillule*

La séparation de l'anguillule du milieu pour l'avoir pure n'est pas difficile ; il suffit de mettre le vinaigre chargé d'anguillules dans un entonnoir bouché à son extrémité par un morceau de tube de caoutchouc avec une pince de Mohr. On attend une demi-heure que les anguillules atteignent la surface et on ouvre la pince de Mohr pour laisser égoutter lentement le contenu de l'entonnoir ; les anguillules restent adhérentes à la surface de l'entonnoir. Une fois le liquide essoré on ferme la pince et on lave à l'aide d'un jet d'eau. On reçoit le liquide qui entraîne les anguillules dans un verre et on chauffe à 70° C ; les anguillules meurent et on les laisse se déposer ; on décante l'eau qui surnage et finalement on sèche dans un dessiccateur à sulfurique auquel on fait le vide.

Nous avons obtenu, partant des anguillules desséchées dans le vide sulfurique, utilisant les techniques usuelles, les données suivantes :

Composition centésimale de l'anguillule aceti.

<i>Azote</i>			
<i>total</i>			
<hr/>			
4'82 %	Protides totaux ... ..	30'02 %	
	Lipides totaux ... ..	40'70 %	
	Glucides totaux ... ..	22'05 %	
	Cendres ... ..	7'26 %	
		<hr/>	
	TOTAL ...	100'13	

Indice de Hannus = 54'65.

Dans les cendres nous avons decelé le Fe et le Mn.

### Conclusions

Dans cet travail on recherche la manière d'obtenir des milieux dans lesquels l'Anguillule acéti se développe, libre de microorganismes et de bactéries, afin d'étudier son métabolisme.

On a étudié différents milieux de culture, et la résistance de l'Anguillule aux désinfectants et métaux lourds.

On a employé d'Anguillules libres de levures et de microorganismes, additionnées, d'extrait de levure.

L'Anguillule est préparée, pour résister l'acidité et la neutralité, mais elle ne résiste pas l'alcalinité; elle ne fait pas usage de l'acide acétique du milieu, mais elle vit aux dépens des levures et des bactéries qui se développent dans le vinaigre.

Une analyse des principes immédiats de l'Anguillule démontrent une élevée proportion de lipides dans sa composition.

### Resumée

Dans ce travail on a isolé l'Anguillule acéti, des moyens de culture et on fait son analyse immédiat.

On a étudié des moyens de culture sintétiques et on a déduit des données sur son métabolisme.