

Fraenkel avait étudié, auparavant, l'action de l'acide carbonique sur la végétation des Bactéries, mais à la pression ordinaire. La conclusion à tirer de ses recherches, c'est que tous les cas sont réalisés dans l'action de ce gaz, ce qui était à prévoir. Dans cette question, d'ailleurs, comme dans celles qui concernent l'influence d'autres agents, une foule de facteurs entrent en jeu, et chaque organisme exige une étude spéciale.

Action de la température. — La végétation est dans un rapport immédiat avec la température extérieure; elle n'est possible qu'entre certaines limites extrêmes, et il existe une température moyenne déterminée où elle atteint sa plus grande énergie. Quand on dépasse l'une des deux limites extrêmes, la vie est suspendue; mais, au delà de ces limites, les écarts de température qui la suppriment peuvent être bien différents, et, pour les micro-organismes surtout, l'arrêt de développement est loin d'être synonyme de mort.

L'expérience journalière fait comprendre que ces diverses conditions varient suivant l'espèce considérée, suivant la période de son développement et la composition du milieu extérieur. Nous ne pouvons insister ici sur ces variations, dont l'examen détaillé relève des Traités de bactériologie. Contentons-nous de rappeler les principaux faits concernant l'action de température suivant que les Bactéries sont à l'état végétatif, ou à l'état de spore.

a. La plupart des Bactéries présentent au froid une résistance extraordinaire. Dans ses expériences relatives à la génération spontanée, Pasteur avait annoncé que certaines espèces peuvent résister à un froid de -50° . Plus tard, Frisch avait abaissé la température d'un liquide qui renfermait des Bactéries jusqu'à -110° , sans les tuer toutes, à la condition de ne revenir que peu à peu à la température ordinaire. En soumettant progressivement à un refroidissement de -150° des œufs d'Invertébrés, des graines, des microbes en végétation dans du bouillon (*Bacillus subtilis*, *ulna*, *Micrococcus luteus*) et des spores de *Bacillus anthracis*, Pictet et Yung ne sont pas arrivés à tuer complètement ces organismes. Mais du sang charbonneux, ne renfermant que des bacilles, était resté stérile après le refroidissement. Plus récemment, en opérant sur une trentaine d'espèces microbiennes différentes, à l'état végétatif ou sporulé, Pictet a pu abaisser la température à -200° sans supprimer la vie. Un résultat curieux obtenu d'abord par d'Arsonval, à 95° , et vérifié ensuite à -200° par Pictet, consiste en ce que le ferment inversif de la levure de bière, en solution dans la glycérine, est détruit, tandis que le globule de levure provoque encore la fermentation après l'action de ces basses températures.

Quelque surprenants qu'ils paraissent au premier abord, ces résultats peuvent s'expliquer. Quand une cellule ne renferme qu'une petite quantité d'eau, comme dans les graines, les bourgeons hibernants des végétaux supérieurs, l'action du froid a pour effet de contracter le contenu;

le suc cellulaire se concentre, tandis que la membrane et le protoplasme perdent progressivement la proportion d'eau qu'ils renfermaient et qui passe à l'extérieur, où elle peut se coaguler; à vrai dire la cellule elle-même ne gèle pas. Le protoplasme subit donc une sécheresse progressive, comme dans l'action de la chaleur. Si ensuite la température s'élève lentement, la cellule reprend peu à peu ses propriétés; mais, si le dégel est brusque, elle meurt. Il est très vraisemblable que c'est là le mécanisme de la résistance opposée au refroidissement par les Bactéries, dont les spores et même les cellules végétatives ne renferment qu'une proportion d'eau relativement faible.

Cependant toutes les Bactéries ne possèdent pas la même force de résistance: d'Arsonval et Charrin ont constaté qu'après douze heures à -65° le Bacille pyocyanique périt. Il en est aussi qui meurent par le seul fait de la congélation: Fraenkel et Prudden l'ont constaté dans leurs recherches sur les microbes de la glace. Un froid prolongé en diminue le nombre, et surtout les alternations de congélation ou de dégel exercent une action nocive prononcée.

Si maintenant nous jetons un coup d'œil sur les conditions de la vie active, nous aurons à mentionner tout d'abord un groupe de Bactéries chez lesquelles la multiplication peut avoir lieu à 0° : ce sont des microbes lumineux. Le *Bacterium phosphorescens*, observé d'abord par Forster, se cultive et luit presque également bien entre 0° et 20° ; il croît presque aussi rapidement dans la glace fondante qu'à cette dernière température. A 50° , il cesse d'être lumineux et succombe après un séjour de quelques heures entre 55° et 57° . Fischer a découvert ensuite dans le port de Kiel toute une série d'espèces adaptées à vivre à 0° ; par contre, un bacille lumineux de la mer des Indes exige un minimum de 15° . Les faits de ce genre ne manquent pas d'intérêt pratique; ils montrent que la réfrigération peut n'exercer, dans certains cas, qu'une influence restreinte sur la putréfaction.

Dans la plupart des cas, les exigences des microbes à l'égard de la chaleur sont tout autres.

Pour les espèces non parasites, les limites entre lesquelles la végétation est possible sont assez étendues. Le *Bacillus subtilis*, d'après Brefeld, croît entre 6° et 50° ; l'optimum de température est situé vers 50° . Le *Bacterium termo* de Cohn se développe entre 5° et 40° ; son optimum, suivant Eidam, est entre 50° et 55° . Le *Bacillus amylobacter*, cultivé dans la glycérine atteint, selon Fitz, son optimum vers 40° et son maximum vers 45° .

Parmi les espèces parasites, celles qui ont leur siège dans le corps de l'homme ou des Mammifères exigent une température se rapprochant de celle de leur hôte. Koch assigne, comme limites extrêmes, au Bacille de la tuberculose, 28° et 42° , et comme optimum $57-58^{\circ}$. Le Pneumocoque de Fraenkel a son minimum à 24° , son maximum à 41° , son optimum à 55° . Mais des variations se produisent suivant les milieux: par exemple

le *Bacillus anthracis*, cultivé sur pomme de terre, présente un minimum vers 15°, un maximum vers 45° et un optimum entre 20° et 25°; tandis que son optimum est vers 55° dans le bouillon de poule, vers 40° dans le sang d'un rongeur. Le Spirille du choléra végète déjà sur gélatine vers 16°, tandis que sur la pomme de terre, c'est seulement à 50°.

Entre la température la plus favorable pour les saprophytes de l'air, de l'eau, du sol, etc., et celle qui convient le mieux aux parasites, il y a, en général, un écart assez voisin de 10°. Il existe aussi, naturellement, de nombreux intermédiaires, parmi lesquels on peut citer les microbes de la suppuration (staphylocoque, streptocoque, etc.).

Si le plus grand nombre des Bactéries cessent de se développer vers 50° et succombent vers 60° après un temps variable, quelques-unes vivent à des températures plus élevées. C'est un fait depuis longtemps connu que certaines eaux thermales, telles que celles de Plombières et de Carlsbad, renferment des Oscillaires qui pullulent à 50°. L. Olivier a signalé, dans les sources chaudes de Cauterets, des organismes se multipliant au delà de 65°; Certes et Garrigou ont trouvé des Bacilles dans une source de Luchon à 64°; Van Tieghem a décrit également un bacille pouvant, dans un liquide neutre, croître et former ses spores à 74°. Le *Bacillus thermophilus* de Miquel se trouve dans l'eau, le sol, les eaux d'égout; il végète activement entre 65 et 70°; sur gélatine, il commence à pousser à 42° et cesse un peu au-dessus de 72°. Dans le bouillon neutralisé à 69° et 70°, il fournit des filaments, des pellicules et des spores. Des exemples très instructifs à tous les points de vue sont fournis par les Bacilles trouvés par Duclaux dans le fromage et appelés par lui *Tyrothrix* (formes de *Bacillus subtilis*?). Cultivé dans un liquide neutre et chauffé dès les premières heures de son développement, le *Tyrothrix tenuis* ne périt qu'entre 90° et 95°; au bout de vingt-quatre heures, le liquide étant devenu faiblement alcalin, il peut dépasser 100° sans mourir. L'optimum de cette espèce n'est pourtant compris qu'entre 25° et 55°. Le *Tyrothrix filiformis* supporte également, dans le lait, une chaleur de 100°; dans un liquide acide, cette température le tue au bout d'une minute.

Globig a pu isoler dans la terre de jardin une trentaine d'espèces qui se développaient de 50° à 70°; toutes étaient des Bacilles non pathogènes et donnaient facilement des spores. Cultivées sur pomme de terre, certaines espèces, qui poussaient à 50°, ne poussaient plus à 60°; mais à cette dernière température des espèces nouvelles apparaissent, puis leur nombre diminue peu à peu et, au-dessus de 70°, toute végétation disparaît. L'influence de la température est ici comparable à celle de l'altitude sur la flore des montagnes.

Ces espèces thermophiles se rencontrant aussi bien dans les régions les plus froides de la Norvège que dans la Nouvelle-Guinée, l'action directe de la chaleur solaire ne semble pas non plus pouvoir suffire à expliquer leur développement dans le sol. La source calorifique doit plutôt être cherchée dans les phénomènes chimiques dont le sol est le siège, bien que

le thermomètre soit insuffisant pour traduire les températures qu'ils produisent dans les fines particules des matières du sol.

b. En ce qui concerne la formation des spores, les conditions les plus favorables sont en général celles de l'optimum de végétation. Koch a fait voir que, pour le *Bacillus anthracis*, la sporulation n'a pas lieu au-dessous de 16°; à cette température, les germes n'apparaissent qu'au bout de sept jours; à 21°, les spores se développent en soixante-douze heures; entre 50° et 40°, après vingt-quatre heures.

La connaissance des conditions de température nécessaires, pour un microbe donné, à la formation des spores, comme d'ailleurs aux autres fonctions végétatives, fournit souvent des indications précieuses dans la diagnose des espèces. Hueppe et Wood ont trouvé à plusieurs reprises, dans le sol et dans l'eau, des Bactéries qui, non seulement par leur forme, mais aussi par leurs caractères végétatifs, présentaient une analogie complète avec la Bactéridie charbonneuse. Ces microbes sont des bacilles endospores, immobiles comme la Bactéridie, donnant le même feutrage de filaments contournés sur la gélatine, qu'ils liquéfient dans les mêmes proportions. Mais ils forment leurs spores à une température beaucoup plus basse que la Bactéridie; leur multiplication est en outre plus rapide, surtout si on la compare aux vaccins charbonneux, dont la croissance est relativement faible. Ces bacilles n'ont produit aucun effet pathogène sur les animaux. Il est même bon d'ajouter, à ce propos, que leur inoculation aux souris, aux cobayes, aux lapins, a presque toujours rendu ces animaux réfractaires au virus charbonneux. C'est là un fait sur lequel on reviendra à l'occasion de l'antagonisme des Bactéries.

On sait que c'est en cultivant la Bactéridie à 42°,5, au contact de l'air, que Pasteur, Chamberland et Roux l'ont rendue asporogène. Entre la température la plus favorable à la culture et la température mortelle, il existe une zone d'atténuation, qui a été étudiée avec soin par Chauveau. Que l'atténuation soit obtenue à l'aide de la chaleur ou par d'autres agents physiques ou chimiques, elle n'est d'ailleurs qu'une des formes de l'affaiblissement graduel d'une cellule de microbe qui marche vers la mort.

La germination exige ordinairement une température plus élevée que le minimum nécessaire à la végétation; par exemple, ce minimum étant de 6° pour le *Bacillus subtilis*, les spores commencent à germer à 20°, quoique l'optimum de végétation soit vers 50°; pour le *Bacillus anthracis*, la germination n'a lieu, d'après Koch, que vers 55°.

Quant à la résistance des spores à la chaleur, elle dépend de leur état de dessiccation, de l'espèce considérée, de la réaction du milieu, etc. Celles du *Bacillus subtilis* supportent durant cinq minutes l'ébullition dans l'eau à 110°, et pendant trois heures l'ébullition à 100°; celles du *Bacillus amylobacter* sont presque aussi réfractaires; celles de divers *Tyrothrix* résistent pendant quelques minutes dans un liquide faiblement alcalin, à 115° ou même 120°. Dans l'air sec, il est des spores qui ne périssent qu'après

un séjour de trois heures à 140° (*Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, etc.).

Toutefois, pour la plupart des Bactéries, la résistance des spores en milieu humide est moindre que dans les exemples précédents. Sternberg, entre autres, a fourni sous ce rapport des données intéressantes sur un certain nombre de microbes pathogènes. Parmi ceux-ci, le microbe du tétanos est, d'après Vaillard et Vincent, un de ceux dont les spores sont les plus résistantes; un séjour d'une heure et même deux heures à 90° en milieu humide ne les tue pas; à l'ébullition, elles résistent parfois pendant cinq minutes.

Les variations de la résistance tiennent à des causes qui ne sont connues que pour un nombre de cas fort restreint, et, comme les auteurs se sont rarement placés dans des conditions identiques, les données qui résultent de leurs expériences ne peuvent avoir qu'une valeur relative.

Ces variations dans l'action de la chaleur à l'égard d'une même espèce, suivant les conditions, Roux les a du moins parfaitement mises en évidence avec les spores du *Bacillus anthracis*. Ces spores résistent dans le bouillon pendant plus de dix minutes à une température de 95°, elles sont tuées en moins de cinq minutes à 100°. D'après Koch et d'autres auteurs, elles résisteraient parfois plus de dix minutes à l'action de la vapeur d'eau à 100°. Au-dessous de 80°, elles conservent longtemps leur vitalité. Mais leur résistance est inégale, suivant qu'elles ont pris naissance au début ou à la fin de la culture, au libre contact de l'air ou dans la profondeur; de plus, à l'action de la chaleur vient s'ajouter celle de l'air, ainsi qu'en témoignent les procédés d'atténuation auxquels on a recours aussi pour d'autres microbes. Dès lors, les spores charbonneuses chauffées à l'air pendant un certain temps germent moins facilement que si l'opération a eu lieu à l'abri de l'air; portées à la température de 70°, à l'abri de l'air, pendant soixante-six heures elles étaient devenues stériles, tandis qu'à la même température, mais en présence de l'air, les mêmes spores donnaient encore, après cent soixante-cinq heures une culture abondante. Une différence analogue s'observe quand on opère sur les germes d'une culture atténuée et rendue vaccinale; mais la chaleur nécessaire à les tuer, soit en présence, soit en l'absence de l'air, est moins élevée.

Parmi les manifestations d'un autre ordre dues à l'action de la chaleur pendant l'état purement végétatif des microbes, nous mentionnerons ici, sans plus amples détails pour le moment, les modifications de la fonction chromogène chez plusieurs Bactéries. On y reviendra ultérieurement.

Action de la lumière. — Nous avons vu que chez un petit nombre de bactéries possédant un pigment vert ou rouge, la lumière paraît intervenir dans l'assimilation, comme chez les plantes ordinaires à chlorophylle. Elle détermine aussi des mouvements chez quelques espèces mobiles, qui se dirigent vers la source lumineuse. Pour les autres, si l'on veut exprimer simplement l'action de la lumière, au sens vulgaire du

mot, on dira qu'elle n'est pas nécessaire et que même, à partir d'une certaine intensité, elle gêne leur développement et les fait périr. Mais il ne s'agit pas ici, physiologiquement, d'une différence absolue entre les Bactéries et les plantes plus élevées. Les unes et les autres ont besoin, à des degrés divers, de certaines radiations; seulement, on ignore encore quelles sont, parmi celles-ci, les plus favorables aux microbes.

Chez les végétaux supérieurs, qui s'allongent et s'étioilent à l'obscurité, la lumière exerce, comme on sait, une action retardatrice sur la croissance et permet au végétal de consolider ses tissus; ce sont les radiations les plus réfrangibles du spectre solaire qui produisent cet effet. Or, on verra dans un instant que l'action nocive de la lumière sur les Bactéries est due aux mêmes radiations; le phénomène est donc de même sens et rentre dans une loi commune. Mais comme il apparaît très manifeste chez les Bactéries, il devait avant tout fixer l'attention.

Après que Pasteur d'abord, puis Miquel, eurent prouvé que si l'air est peuplé de microbes vivants, il en contient bien plus encore d'incapables de se reproduire, on pensa naturellement à rechercher la cause de cette mort. Downes et Blunt furent les premiers à mettre en évidence le rôle important que la lumière joue dans ce phénomène. En exposant au soleil des liquidesensemencés de Bactéries, ils virent que le développement s'arrêtait plus ou moins, suivant la durée de l'exposition, tandis que d'autres, protégés contre l'action de la lumière, se peuplaient rapidement. De ses expériences sur des bacilles ferments de la caséine et sur des microcoques pathogènes, Duclaux conclut ensuite que la mort des microbes est d'autant plus rapide que l'insolation est plus forte et beaucoup plus prompte même à un soleil faible qu'à la lumière diffuse ou à l'obscurité. Presque en même temps, Arloing s'adressait au Bacille du charbon, dans le but de connaître l'influence de la lumière sur les propriétés physiologiques. Il constate que la lumière du gaz suffit à retarder l'évolution des sporesensemencées dans un milieu nutritif, mais n'altère pas sensiblement la virulence; celle du soleil gêne au contraire notablement le rajeunissement des spores et le développement du Bacille; de plus, elle transforme graduellement les cultures en une série de vaccins atténués. L'action bactéricide se produisant de même à la lumière électrique, en présence de la glace, la question de température, sur laquelle on avait discuté, se trouvait éliminée.

Dans ces expériences, les spores du charbon se montrèrent beaucoup moins résistantes que le mycélium, qui semble pourtant devoir être beaucoup plus fragile à l'égard des radiations solaires. Roux fit voir que si les spores sont soumises à l'insolation à l'abri de l'air, au lieu de l'être en présence de l'air, comme dans les observations précédentes, elles survivent beaucoup plus longtemps; dans le cas précédent, l'action de l'air vient s'ajouter à celle de la lumière. De plus, le bouillon pur, insolé pendant plusieurs heures, ne permet plus la germination des spores qu'on y sème, tandis qu'il se peuple abondamment quand on

l'ensemence avec la Bactéridie filamenteuse. Suffisante, dans ce cas, pour arrêter l'évolution de la spore, la modification du milieu n'est pas assez profonde pour entraver celle des bacilles déjà déformés. Roux conclut que cette modification dépend de l'oxygène de l'air, car le même bouillon insolé pendant le même temps, à l'abri de l'air, permet la germination des spores. La spore charbonneuse serait donc très sensible à de faibles altérations du milieu nutritif; les conditions nécessaires à la germination semblent plus étroites que celles qui suffisent au développement de l'être adulte, et c'est là, tout au moins en partie, la cause de la différence, au premier abord singulière, constatée par Arloing dans l'action de la lumière, suivant qu'elle agit sur la spore ou sur la Bactéridie filamenteuse.

Il est probable que le contenu de la spore subit une oxydation au contact de l'air, tandis que la Bactéridie filamenteuse, essentiellement aérobie, présente à cette oxydation une résistance physiologiquement plus grande. Mais les résultats fournis par le *Bacillus anthracis* ne peuvent être généralisés, car il est aujourd'hui démontré que, si tel ou tel milieu nutritif éclairé peut devenir impropre au développement des spores charbonneuses, et si la lumière a des effets nocifs plus rapides en présence de l'air, la plus grande résistance que les spores bactériennes, comparées à l'état végétatif, présentent à l'égard de la lumière, est une loi générale.

L'action de la lumière varie d'ailleurs, non seulement suivant les milieux, mais encore suivant les espèces microbiennes. Les résultats signalés par Duclaux en fournissaient déjà des preuves. Pansini a vu plus tard que le *Bacillus pyocyaneus*, par exemple, est plus résistant que le *Micrococcus prodigiosus*. En général, les cultures sèches résistent mieux à la lumière que les cultures humides, comme le montrent les recherches de Momont, de Pansini sur le charbon, de Gaillard, de Jonowsky sur le bacille typhique, de Ledoux-Lebard sur le bacille diphthérique. Les liquides chargés de bactéries donneront des résultats variables suivant une foule de conditions; d'une grande utilité pratique pour chaque cas particulier, ils ne peuvent être généralisés.

Mais, parmi les divers rayons qui forment la lumière totale, quels sont ceux qui possèdent le pouvoir bactéricide? Il y a longtemps que les botanistes ont abordé l'étude de l'action isolée de ces diverses radiations. On a déjà fait remarquer, précédemment, que les rayons les plus réfrangibles de la région bleu-violet du spectre solaire ont une action particulière sur la croissance des plantes; ces rayons chimiques interviennent en même temps dans le phénomène respiratoire, tandis que l'assimilation du carbone, sous l'influence de la chlorophylle, dépend principalement de l'action des rayons rouge-orange moins réfrangibles, situés du côté opposé, dans la région calorifique du spectre. D'autres phénomènes sont liés de même à l'action de rayons particuliers.

Il était donc naturel d'appliquer aux Bactéries les méthodes employées pour les autres plantes. Abordée par divers observateurs, cette question a été surtout approfondie par Marshall Ward, dans une série d'expériences

habilement conduites sur la lumière du soleil et sur celle de l'arc électrique, dont il séparait les diverses radiations, soit avec des écrans absorbants, soit avec le prisme. En opérant d'abord sur le *Bacillus anthracis*, dans des milieux de culture à l'agar ou à la gélatine, il arrive à conclure que l'action de la lumière est directe sur les spores elles-mêmes et que les rayons solaires ne modifient pas perceptiblement les qualités alimentaires des milieux en question. Par la méthode des écrans absorbants, il constate qu'il n'y a aucune action bactéricide derrière un écran qui intercepte les rayons bleus et violets, tandis que l'action est d'autant plus prononcée que ces rayons sont transmis en plus grand nombre. La quantité des rayons du rouge-orange et du jaune du spectre qui sont transmis est indifférente; aussi longtemps que le bleu violet est intercepté par l'écran, les spores ne sont pas tuées à la température ordinaire. Par la méthode du prisme, le quartz peut donner un spectre solaire suffisamment riche en rayons bleus et violets pour tuer les spores en quelques heures, à condition de remplacer aussi par le quartz le verre des plaques de culture. Le verre, en effet, arrête en grande partie les rayons bleus et violets; il agit comme le brouillard ou la brume dans l'atmosphère; la lumière d'un jour sombre n'a qu'une faible action sur la vitalité des spores. Avec la lumière électrique, les résultats ont été les mêmes. Aucune question de température n'intervenait dans ces expériences, car les plaques étaient exposées sur des glacières, et d'ailleurs la région des rayons calorifiques restait sans effet. Le sens des résultats est le même quand, au lieu d'opérer à la lumière directe du soleil, on opère à la lumière diffuse et plus ou moins affaiblie.

L'effet des divers rayons peut même être observé directement au microscope sur la cellule bactérienne individuelle. En se plaçant dans des conditions aussi comparables que possible et en diminuant l'action calorifique par des procédés appropriés, Marshall Ward a constaté que, derrière un écran bleu, la croissance est 24 fois moindre, pour le même laps de temps, que derrière un verre rouge. Par conséquent, les rayons bleu violet agissent comme modérateurs sur la croissance de la Bactéridie à l'état végétatif, autant que comme agents nuisibles sur la puissance germinative des spores.

Il est juste de rappeler que Downes et Blunt, Arloing, Buchner, Frankland avaient déjà, avec plus ou moins de netteté, reconnu l'action prédominante des rayons les plus réfrangibles. C'est également à cette action que Ganowsky et Geissler ont attribué la mort du Bacille typhique, et Ledoux-Lebard celle du Bacille diphthérique.

Nous n'avons pas à insister ici sur les conséquences pratiques qui découlent de ces observations, ni sur la destruction des microbes à l'air et au soleil dans la nature. Rappelons seulement que Buchner a vu les germes du *Bacillus pyocyaneus*, plus résistants que les *Bacillus typhi* et *Bacillus coli*, périr en mai et juin, en trois jours à la lumière diffuse, en une heure au soleil, dans de l'eau pure ou même additionnée de