

de la dessiccation, etc. Parmi les espèces les plus résistantes, on peut citer le *Micrococcus prodigiosus*, dont on ne connaît d'ailleurs pas les spores.

Il va sans dire que la vitalité des spores est beaucoup plus grande. Au contact de l'air et à l'état sec, elle dépend, chez les espèces aérobies, de nombreux facteurs; mais on peut dire qu'elle est moindre qu'à l'abri de l'air. Duclaux a vu des spores conservées dans cette dernière condition qui germaient encore après un quart de siècle, et ce laps de temps peut certainement être dépassé. Nécessaire à la vie active, l'accès de l'oxygène détermine dans la spore une combustion lente qui vient hâter la mort.

**3° Actions sur les propriétés physiologiques.** — Cette action comburante de l'oxygène, qui finit par tuer la spore, s'exerce également, et d'une façon plus marquée, sur le microbe aérobie à l'état végétatif, quand ce microbe reste au libre contact de l'air après avoir épuisé sa provision de nourriture. Alors c'est sur la substance même du microbe que l'oxygène porte son action. La respiration lente, mais continue, en l'absence de matière alimentaire, produit l'affaiblissement de la vitalité et par suite des propriétés physiologiques.

Le rôle de l'oxygène dans cet affaiblissement graduel de l'organisme, Pasteur l'a mis en évidence, en 1880, par sa mémorable découverte de l'atténuation des microbes. Il a vu que, dans les cultures au contact de l'air, le microbe du choléra des poules perd graduellement sa virulence. Quand il a transformé la masse alimentaire présente, il continue encore à respirer, mais moins activement, et il ne tarde pas à périr, car il ne fait pas de spores. Or, cette respiration lente, alors que la nutrition est arrêtée faute d'aliments, brûle les matériaux de l'être vivant et l'affaiblit peu à peu. Ce qui le prouve, c'est que la culture mise en tube clos, en présence d'une proportion d'oxygène faible et limitée, conserve sa virulence pendant de longs mois.

La même influence de l'air se retrouve pour le microbe du charbon. Mais ici une difficulté se présente pour obtenir un bacille atténué. Ce bacille, en effet, donne facilement des spores, qui le soustraient à l'action atténuatrice de l'air, puisqu'elles sont, comme on sait, presque insensibles à l'influence des agents extérieurs. Il faut donc l'empêcher de les former. On y parvient, en même temps qu'on lui fait perdre peu à peu sa virulence, par l'action d'une température de 42°,5. Portés dans de nouveaux milieux de culture, les bacilles se multiplient en conservant les degrés d'atténuation divers auxquels on les a pris; et, chose très importante, ces cultures à 42°,5 fournissent, quand on les place à la température de 57°, des spores qui fixent pour longtemps la virulence atténuée des bacilles dont ils proviennent.

La température, on le verra plus loin, joue un rôle dans l'atténuation; mais c'est à la lenteur de l'action atténuatrice de l'oxygène, qui donne au microbe le temps de se plier aux nouvelles conditions d'existence, qu'il faut rapporter la propriété remarquable qu'il acquiert de transmettre ses facultés acquises à ses descendants. On pourrait croire que l'on a créé ainsi des espèces nouvelles, mais ce serait aller trop loin; les générations successives ne sont pas exactement semblables au point de vue de la virulence; même quand elle se transmet par hérédité, la virulence varie et n'est pas absolument immuable.

## 3° INFLUENCE DES AGENTS PHYSIQUES

**A. 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, suivant la nature et la composition du milieu extérieur. Sans insister ici sur ces variations, contentons-nous de rappeler les principaux faits concernant l'action de la température, suivant que les Bactéries sont à l'état végétatif ou à l'état de spore.

**1° Influence sur l'état végétatif : minimum, maximum, optimum.** — On connaît des Bactéries chez lesquelles la multiplication peut se faire à 0°; elles appartiennent au groupe 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°. A. 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 groupe du *Bacterium termo* de Cohn se développe entre 5° et 40°; son optimum, suivant Eidam, est entre 50° et 55°. Le *Bacillus butyricus*, cultivé dans la glycérine, présente, 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°. 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 intermé-

diaires, parmi lesquels on peut citer les microbes de la suppuration (Staphylocoque, Streptocoque, etc.).

Parmi les Mucédinées, le *Penicillium glaucum* végète entre 2°,5 et 45°; l'optimum est voisin de 20°. Pour l'*Aspergillus glaucus*, l'optimum est compris entre 10° à 12°; pour l'*A. niger*, il s'élève à 54° ou 55°; pour l'*A. fumigatus*, vers 40°.

Les levures ont leur optimum vers 25° à 50°; le minimum peut descendre à 0°, et le maximum atteindre 55°.

Quoique le plus grand nombre des Bactéries cesse de se développer vers 50° et succombent vers 60°, après un temps variable, il en est pourtant qui 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 Causerets, 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°. J. Karlinski a étudié deux espèces de sources sulfureuses, qui se développent au-dessus de 50° et dont l'une forme des spores qui résistent pendant 4 heures à 100°, en présence de la vapeur d'eau. 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.

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. Les Bactéries thermophiles se rencontrent aussi bien dans les régions les plus froides que sous l'équateur. Globig suppose que l'insolation des couches superficielles du sol est assez puissante, tout au moins pendant quelque temps, pour leur permettre de se développer. Il est possible aussi que la source calorifique qu'elles utilisent provienne des phénomènes chimiques dont le sol est le siège, bien que le thermomètre soit impuissant à traduire les températures produites dans les fines particules du sol.

Plus récemment, Lydia Rabinowitsch a reconnu que les Bactéries thermophiles sont plus répandues qu'on ne l'avait pensé. On en trouve, en effet, dans les poussières de l'air, dans le sol, dans l'eau de rivière, dans le fumier, etc. Elle a constaté ce fait curieux, qu'elles peuvent pulluler entre 54° et 44° sur agar et dans le bouillon, quand elles vivent en anaérobies. On s'explique dès lors leur abondant développement dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud, où leur présence a été mise en évidence. Leur développement aérobie peut se faire encore vers 56°, mais il est alors très faible; sur pomme de terre, il ne commence qu'à 50°.

Les spores de ces Bactéries thermophiles sont très résistantes; elles peuvent donner d'abondantes colonies après un chauffage de 5 à 6 heures dans la vapeur d'eau à 100°.

Si nous recherchons maintenant l'action des températures extrêmes, nous

verrons que la résistance à la chaleur est toute différente de celle qu'on observe à l'égard du froid. Dès qu'on dépasse l'optimum de température, ne fût-ce que de quelques degrés, pour certaines espèces, le microbe souffre, et, si l'on insiste, il périt. On atteint alors la zone des températures mortelles, dans laquelle la durée du chauffage a une grande importance, car elle supplée à l'insuffisance de la température pour amener la mort. Chacun sait, d'autre part, que le chauffage à sec doit toujours être fait à plus haute température ou pendant plus longtemps que le chauffage à l'état humide.

La nature du liquide a aussi une grande influence, ainsi qu'en témoignent, par exemple, les résultats suivants obtenus par Duclaux avec divers *Tyrophrix* trouvés dans le fromage. Cultivé dans un liquide neutre et chauffé dès les premières heures de son développement pendant une minute, le *Tyrophrix tenuis* ne périt qu'entre 90° et 95°; au bout de 24 heures, le liquide étant devenu faiblement alcalin, il peut supporter 100° sans périr. L'optimum de cette espèce n'est pourtant compris qu'entre 25° et 55°. Le *Tyrophrix filiformis* supporte également dans le lait, liquide neutre, une température de 100° pendant une minute; mais il est tué si la réaction du liquide est acide.

Ces espèces comptent d'ailleurs au nombre des Bactéries les plus résistantes à l'état végétatif. Beaucoup périssent, en effet, après un chauffage de dix minutes entre 50° et 65°, c'est-à-dire à une température relativement peu élevée; il en est ainsi pour la plupart des espèces pathogènes.

Tout autre est l'influence du froid sur l'ensemble de ces micro-organismes, car, s'il arrête leur développement, il ne parvient pas toujours à les tuer.

On peut remarquer d'abord que les alternatives de congélation et de décongélation sont beaucoup plus nocives, d'une façon générale, qu'une congélation unique, continue. La raison en est facile à comprendre.

Dans ses expériences relatives à la génération spontanée, Pasteur avait annoncé que certaines espèces peuvent résister à un froid de — 50°. Frisch a trouvé beaucoup de Bactéries vivantes après une heure de séjour à des températures comprises entre — 50° et — 87°,5. En soumettant progressivement à un refroidissement de — 150°, maintenu pendant 20 heures, des œufs d'Invertébrés, des graines, des microbes en végétation dans du bouillon (*Bacillus subtilis*, *B. 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 ne sont pourtant pas inexplicables. 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 congeler; 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 vu qu'après douze heures, à  $-65^{\circ}$ , 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.

On conçoit que la chaleur détermine des changements morphologiques et des changements physiologiques. Remarquons seulement ici, au sujet de ces derniers, qu'entre la température la plus favorable à la culture et la température mortelle, il existe pour la Bactéridie charbonneuse, par exemple, une zone d'atténuation qui a été étudiée avec soin par M. 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 qui conduit à la mort.

**2<sup>o</sup> Influence sur la formation, la germination et la résistance des spores.** — Si nous considérons maintenant les conditions de température nécessaires à la formation des spores, nous verrons que ce sont généralement celles de l'optimum de végétation.

Koch a montré que, pour le *Bacillus anthracis*, la sporulation n'a pas lieu au-dessous de  $16^{\circ}$ ; à cette température, les germes n'apparaissent qu'au bout de 7 jours; à  $21^{\circ}$ , les spores se développent en 72 heures; entre  $30$  et  $40^{\circ}$ , après 24 heures.

Pour un microbe donné, la connaissance des conditions de température nécessaire 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 les caractères végétatifs, présentaient une analogie complète avec la Bactéridie charbonneuse. Ces microbes sont des bacilles endosporés, immobiles comme la Bactéridie, donnant le même feutrage de filaments contournés sur 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  $42^{\circ},5$ , au contact de l'air, que Pasteur, Chamberland et Roux l'ont rendue asporogène. Physalix est arrivé au même résultat par des cultures en série à  $42^{\circ}$ .

La sporulation peut être également supprimée à une température moins

élevée quand la culture est additionnée de certains composés chimiques. Chamberland et Roux ont montré qu'il en est ainsi en présence d'une proportion déterminée de bichromate de potasse; puis Roux a obtenu le même résultat avec l'acide phénique. La Bactéridie ainsi traitée n'a pas perdu sa virulence. Si on la fait passer à travers un grand nombre de cobayes ou de lapins, en inoculant le sang d'un animal qui vient de mourir à un animal sain, elle ne reprend pas son aptitude à former des spores dans les cultures, bien que sa virulence ait augmenté. On a donc réalisé de la sorte un changement héréditaire.

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

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 5 minutes l'ébullition dans l'eau à  $100^{\circ}$ , et pendant 2 heures et demie l'ébullition à  $110^{\circ}$ ; celles du *Bacillus amylobacter* sont presque aussi réfractaires; celles de divers *Tyrophrix* résistent pendant quelques minutes, dans un liquide faiblement alcalin, à  $115^{\circ}$  ou même  $120^{\circ}$ . Dans l'air sec, il est des spores qui ne périssent qu'après un séjour de 5 heures à  $140^{\circ}$  (*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 de 1 heure et même de 2 heures à  $90^{\circ}$  en milieu humide ne les tue pas; à l'ébullition, elles résistent parfois pendant 5 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, E. Roux les a du moins parfaitement mises en évidence avec les spores du *Bacillus anthracis*. Ces spores résistent dans le bouillon pendant plus de 10 minutes à une température de  $95^{\circ}$ , elles sont tuées en moins de 5 minutes à  $100^{\circ}$ . D'après Koch et d'autres auteurs, elles résisteraient parfois plus de 10 minutes à l'action de la vapeur d'eau à  $100^{\circ}$ . Au-dessous de  $80^{\circ}$ , elles conservent longtemps leur vitalité. Mais leur résistance, d'après Roux, 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 sont plus vite tuées que si l'opération a eu lieu à l'abri de l'air. C'est ce qui ressort nettement des expériences de E. Roux : portées à  $70^{\circ}$  pendant 66 heures, en présence de l'air, des spores du charbon restèrent stériles, tandis que les mêmes spores chauffées pendant 165 heures à l'abri de l'air donnèrent une culture abondante en moins d'un jour. Les spores d'une Bactéridie atténuée se sont