

tôt la Photobactérie se met à briller. De là, une méthode élégante pour juger si un microbe donné sécrète ou non l'une ou l'autre de ces diastases.

Pour que les phénomènes d'accroissement et d'émission de lumière se manifestent, il est donc nécessaire que la peptone d'une part, et les éléments carbonés d'autre part, soient entre eux dans certaines proportions, qui représentent les « équivalents plastiques ». Les meilleures substances photogéniques, en effet, comme la glycérine, peuvent devenir une cause d'obscurcissement si leur proportion est trop forte. Une substance est « plastique » si elle entraîne la multiplication des Photobactéries en culture. Un élément photogénique doit toujours être plastique, mais la réciproque n'est pas vraie : un aliment plastique n'est pas toujours photogénique. Il suit de là que, chez ces organismes, la production de lumière n'est en connexion nécessaire ni avec l'acte respiratoire, ni avec l'accroissement.

On est ainsi conduit à présumer que, même dans les cellules fortement lumineuses, c'est seulement une partie de l'énergie qui est nécessairement et généralement émise sous forme de lumière. L'oxygène libre est indispensable à la phosphorescence; les cultures sur milieux solides ne brillent qu'à la surface; les cultures liquides agitées au contact de l'air peuvent briller dans toute leur masse. La phosphorescence est intimement liée à la nutrition, dont elle ne fait que traduire l'intensité. En l'absence d'oxygène, les espèces qui peuvent continuer à vivre pendant quelque temps, comme le *Ph. phosphorescens*, cessent d'être lumineuses.

La lumière, chez les Photobactéries, a-t-elle une signification physiologique et ces êtres peuvent-ils tirer profit, dans la lutte pour l'existence, de leur faculté photogénique? La réponse à cette question doit être négative. De même que les animaux phosphorescents ne le sont pas par symbiose avec des Bactéries lumineuses, mais par suite de phénomènes spéciaux et intimes, de même les Photobactéries n'émettent pas nécessairement de la lumière quand elles vivent dans les conditions normales, et nous avons fait remarquer précédemment que certaines d'entre elles, telles que le *Ph. luminosum*, sont plus faciles à obtenir et à conserver à l'état non lumineux. C'est seulement par exception que l'eau de la mer offre les conditions nécessaires pour la multiplication rapide avec dégagement lumineux énergique.

La fonction photogénique n'est pas, comme on le verra, sans analogie avec la fonction chromogène et même avec la virulence. Comme celles-ci, elle n'est indispensable ni à la vie, ni à la reproduction des micro-organismes; elle est subordonnée à la nature de l'aliment et à certaines conditions de température. L'âge des cultures, la vieillesse surtout et l'épuisement ont une influence manifeste sur l'activité fonctionnelle. Et, de même que dans certaines conditions combinées d'atténuation, divers microbes cessent d'élaborer leurs pigments ou de fabriquer leurs toxines, de même les Photobactéries, dans les conditions précaires de la vie habituelle des plages, ne mènent plus que l'existence obscure de microbes vulgaires.

2° CHROMOBACTÉRIES

On peut distinguer deux groupes de Bactéries colorées. Dans l'un, l'élaboration du pigment est un attribut inséparable du développement : c'est le cas des Sulfobactéries pourpres. Dans l'autre, la formation des pigments est une fonc-

tion qui ne se manifeste que dans les conditions normales ou favorables et peut faire défaut dans des conditions moins bonnes, sans que pour cela le développement cesse de s'effectuer; c'est le cas de la majeure partie des Bactéries chromogènes. Nous n'envisagerons ici que ce second groupe, le premier présentant des caractères tout particuliers et devant être examiné dans un paragraphe spécial consacré aux Bactéries sulfureuses.

Les principaux pigments observés sont le rouge (*Micrococcus hæmatodes*, *Bacillus prodigiosus*, *B. indicus*, *B. ruber*, *B. erythrosporus*, *B. erythrogenes*. Bacilles rouges de la sardine, de la morue, etc., *Spirillum rubrum*, etc.), le rose (*Micrococcus roseus*, *M. agilis*, *Sarcina rosea*, *Bacillus rosaceus metalloides*, *Spirillum roseum*, etc.), le violet (*Bacillus violaceus*, etc.), le bleu (*Micrococcus cyaneus*, *Bacillus pyocyaneus*, *B. syncyanus*, etc.), le vert (*Bacillus chlororaphis*, Bacille de la diarrhée verte infantile, etc.), le jaune (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *S. aurea*, *Bacillus luteus*, *B. synxanthus*, etc.), l'orangé (*Micrococcus aurantiacus*, *Sarcina aurantiaca*, etc.), le brun (*Sarcina fusca*, *S. fuscescens*, *Bacillus brunneus*, *B. fuscus*, etc.), le noir (*Bacillus melanosporus*, etc.).

On n'est pas suffisamment fixé sur la nature des organismes signalés par Van Tieghem, sous les noms de *Bacillus virens* et *B. viridis*, et par Engelmann sous le nom de *Bacterium chlorinum*, dont ces auteurs assimilent sans preuve la matière colorante verte à la chlorophylle. Ces espèces, incomplètement décrites, n'ont pas été retrouvées.

Tantôt la matière colorante reste dans le protoplasme, sans diffuser dans le milieu ambiant : c'est le cas des Bactéries que l'on peut appeler *endochromées*, telles que les Sulfobactéries pourpres et sans doute le *Bacillus prodigiosus*. Tantôt la matière colorante paraît imprégner seulement la membrane et surtout la couche gélatineuse externe, comme chez le *Bacillus violaceus*, dont la couche gélatineuse violette réunit les cellules en zoogées sur les milieux solides, qui seuls permettent la formation du pigment. Tantôt enfin le pigment diffuse dans le milieu ambiant et le colore d'une façon plus ou moins uniforme, ainsi qu'on l'observe dans le plus grand nombre des Bactéries chromogènes.

Chez certaines espèces endochromées, le pigment ne paraît diffuser à l'extérieur qu'après la mort de la cellule; c'est du moins l'avis de Schottelius pour le *Bacillus prodigiosus*. Macé, il est vrai, a observé dans une culture de ce microbe, entre des cellules bien vivantes, des amas de granulations plus ou moins grosses, colorées en rouge rubis très brillant; Eidam a remarqué de même que le pigment du *Bacillus melanosporus* peut former un précipité granuleux dans le milieu ambiant. Mais ces granulations pouvaient provenir de cellules mortes.

Exceptionnellement, la matière colorante apparaît à l'état cristallisé, ainsi que Guignard et Sauvageau l'ont constaté pour le *Bacillus chlororaphis*, dont le pigment se montre, dans les cultures dépourvues de fluorescence, sous la forme de très longues aiguilles cristallines de couleur vert chlorophylle, presque insolubles dans tous les véhicules neutres. Beyerinck a remarqué aussi que la matière colorante du *Bacillus cyaneo-fuscus* donne de petits cristaux d'abord verdâtres, puis bleus, devenant finalement bruns par oxydation. Dans ces deux cas, il est possible que le pigment imprègne simplement des cristaux amidés ou protéiques.

Diverses espèces produisent, outre le pigment que l'on peut considérer comme caractéristique pour elles, une matière à fluorescence verte (*Bacillus pyocya-*

neus, *B. syncyanus*); un plus grand nombre ne donnent que la fluorescence. Les nuances varient d'ailleurs sensiblement pour une même espèce, et même on a vu, chez certaines, toute la gamme des couleurs. Un bacille, étudié par Macé et Thiry, fournit, en culture sur gélatine peptonisée, le rouge, le jaune, le bleu et d'autres nuances spectrales. Il n'offre pas de fonction chromogène en bouillon; les diverses teintes semblent dépendre des conditions de milieu et de température.

Les Bactéries chromogènes, si l'on en excepte la plupart de celles qui sont fluorescigènes, sont surtout des saprophytes, qu'on trouve sur le lait, le pain, la viande, le riz cuit, etc. Les espèces à pigment rouge ou proches du rouge paraissent être les plus fréquentes.

Le plus souvent, les pigments ne se forment qu'au contact de l'air; c'est en partie la raison pour laquelle les milieux solides, à la surface desquels ils apparaissent beaucoup plus fréquemment que dans les milieux liquides, sont les plus favorables à la culture des espèces chromogènes. Quelques-uns peuvent dériver par oxydation d'un principe incolore fabriqué par la cellule; cette question, toutefois, est encore très obscure.

La nature du milieu, sa réaction neutre, acide ou alcaline, la température ont une grande influence. Le *Bacillus syncyanus*, ou Bacille du lait bleu, ne développe aucune matière colorante dans les solutions de sucre ou de peptone; en milieu neutre, dans le lait frais, dont la réaction est amphotère, le pigment est d'abord gris ardoisé; il passe au bleu quand la réaction devient acide; les alcalis font virer la couleur au rouge plus ou moins violacé. Par contre, la matière colorante du Bacille pyocyanique apparaît avec la réaction ammoniacale de la culture.

La lumière peut n'avoir aucune action sur la production du pigment. Des cultures de *Bacillus prodigiosus* et de *Bacillus violaceus*, faites et conservées à l'obscurité, se montrent après quelques semaines tout aussi colorées que d'autres faites en même temps au grand jour. Cependant, elle l'entrave dans certains cas, par exemple chez le *Bacillus mycoides roseus*, dont les colonies ne deviennent rouges qu'à l'obscurité. Il en est de même pour le *B. lactis erythrogenes*. Mais, tandis que celles du premier perdent leur couleur à la lumière, celles du second la conservent. Nous avons eu aussi l'occasion de faire remarquer que le Bacille rouge de Kiel perd sa coloration au soleil, surtout en présence de l'air.

D'une façon générale, on peut dire que toutes les conditions qui peuvent diminuer le développement, telles que l'âge, la lumière et la chaleur, les antiseptiques, font aussi décroître le pouvoir chromogène. On en verra la preuve un peu plus loin.

Les caractères physico-chimiques de la plupart des pigments sont encore fort peu connus. Schræter, Griffiths et d'autres observateurs ont montré que souvent ils présentent, dans l'ensemble de leurs réactions et de leurs propriétés optiques, une grande analogie avec les matières colorantes d'aniline. Plusieurs cependant en diffèrent d'une façon notable, par exemple le pigment bleu du *Bacillus syncyanus*, que, seules, l'eau acidulée et la glycérine peuvent dissoudre faiblement.

L'action des dissolvants neutres sur la matière colorante est d'ailleurs très variable. Cette dernière peut être soluble dans l'eau et dans l'alcool (Bacille rouge de Kiel, de la sardine, etc.), ou soluble dans l'eau, mais insoluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme (*Micrococcus cyaneus*, *Bacillus synxanthus*, *B.*

indicus, etc.), ou insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool (*Micrococcus luteus*, *M. ochroleucus*, *M. fulvus*, *Sarcina aurea*, *Bacillus luteus*, *B. prodigiosus*, *B. violaceus*, etc.) ou à peu près insoluble dans les véhicules neutres (*M. aurantiacus*, *Sarcina rosea*, *Bacillus lactis erythrogenes*, *B. syncyanus*, *B. chlororaphis*, *B. cæruleus*, *B. melanosporus*, etc.). Quand elle se dissout dans l'alcool, elle peut, suivant les cas, être ou ne pas être soluble dans le chloroforme, l'éther, la benzine, etc.

La difficulté d'obtenir des pigments de composition définie et toujours identiques à eux-mêmes enlève à leur examen spectroscopique une partie de son intérêt. La question mériterait pourtant d'être reprise. On sait que la matière colorante du *Bacillus prodigiosus* montre au spectroscope deux bandes d'absorption caractéristiques, une forte dans le vert, une plus faible dans le bleu; celle du *B. lactis erythrogenes* offre deux bandes noires entre les raies D et E et une autre dans le bleu; celle du *B. rosaceus metalloides* laisse passer les rayons rouges, orangés et jaunes et éteint tous les autres.

Parmi les Chromobactéries, l'une des plus intéressantes, au point de vue qui nous occupe, est le Bacille pyocyanique.

Fordos, le premier, isola la pyocyanine à l'aide de l'ammoniaque et du chloroforme. Gessard fit ensuite de ce pigment et de ceux qui l'accompagnent dans les cultures du Bacille pyocyanique une étude spéciale. Agité avec les cultures alcalinisées à l'aide de l'ammoniaque, le chloroforme se colore en bleu de ciel foncé et contient, outre la pyocyanine, un pigment jaune ou pyoxanthose, et des matières grasses. L'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique étendu d'eau s'empare de la pyocyanine et donne avec elle une combinaison rouge. Mise ensuite en liberté par un alcali, la pyocyanine est dissoute dans le chloroforme, qui la laisse cristalliser par évaporation sous formes d'amas bleu foncé, que l'on peut dissoudre dans l'eau chaude pour obtenir, par évaporation lente, des aiguilles isolées ou groupées en aigrettes, en étoiles ou en faisceaux, parfois des octaèdres ou des tables rhombiques ou hexagonales. La pyocyanine se dissout aussi dans l'alcool; elle est moins soluble dans l'éther. Les acides la font passer au rouge en donnant des composés salins; c'est une base que l'on peut rapprocher des ptomaines ou des alcaloïdes. Elle ne paraît pas toxique, même à forte dose.

L'air et les agents oxydants transforment la pyocyanine en pyoxanthose, qui se dissout également, comme on l'a vu, dans le chloroforme, et peut cristalliser en petites aiguilles jaunes.

Le microbe sécrète aussi, dans les milieux ordinaires, un pigment verdâtre, qui leur communique une fluorescence verte, dont l'apparition peut être tout à fait indépendante de celle de la pyocyanine. Ce troisième pigment, moins connu, est soluble dans l'alcool ordinaire, insoluble dans le chloroforme, l'éther, l'alcool amylique; sa solution ammoniacale donne une belle fluorescence à la lumière réfléchie et une coloration jaune à la lumière transmise. Ajoutons encore que certaines différences, portant principalement sur les pigments autres que la pyocyanine, ont été signalées par divers auteurs, suivant les milieux de culture employés dans leurs recherches.

La fluorescence, qui se manifeste, comme on l'a fait remarquer, dans les cultures d'un certain nombre d'autres Bactéries, ne paraît se produire que dans les milieux d'origine animale; les milieux végétaux semblent impropres à sa formation. Les plus connues, parmi les espèces fluorescigènes autres que le