

particulièrement du *Bacillus subtilis* avec lequel on l'a parfois confondue. Ce dernier bacille est très répandu : on le trouve dans les infusions de foin ; on peut le rencontrer également dans le corps des animaux ; nous l'avons observé à plusieurs reprises dans le foie d'animaux qui avaient succombé au surmenage. Nous rappellerons pour mémoire que Buchner avait pensé que la bactériidie charbonneuse provenait du bacille du foin et qu'il était possible de transformer ces deux microbes, l'un en l'autre ; on sait que les recherches ultérieures n'ont pas ratifié cette opinion.

Si l'on sème la bactériidie charbonneuse sur les différents milieux de culture employés en microbie, on la voit s'allonger ; elle se présente sous une deuxième forme, celle de longs filaments plus ou moins enchevêtrés (fig. 5). Ces filaments sont constitués par une mince gaine hyaline renfermant, dans son inté-

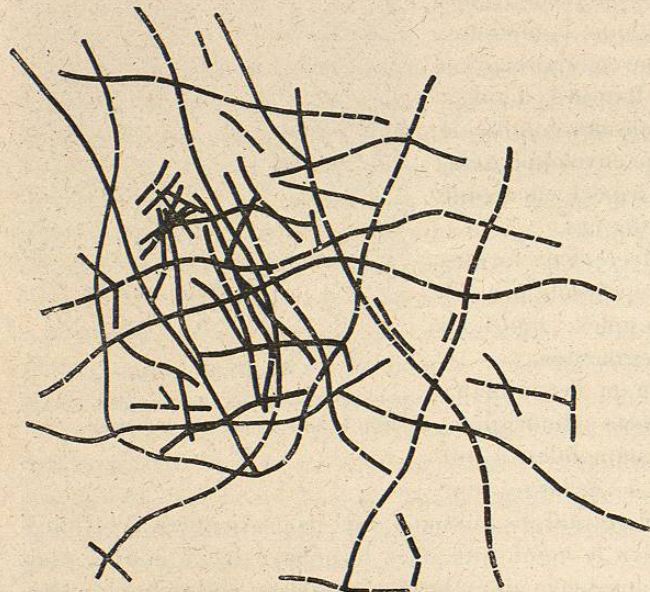


FIG. 7. — Culture dans du bouillon, âgée de 48 heures.
Gr. 700 D.

rieur, un protoplasma homogène ; dans la plupart des filaments, le protoplasma est divisé en segments réguliers, généralement plus courts que les bâtonnets du sang et séparés les uns des autres par des espaces clairs ; chaque segment représente une cellule végétale.

Dans la plupart des milieux de culture, les filaments donnent rapidement des spores endogènes reconnaissables à leur aspect brillant. Koch avait admis qu'elles étaient constituées par une goutte de graisse ou d'huile con-

tenue dans une mince enveloppe de protoplasma. On les voit surtout sur les préparations colorées à la fuchsine après un chauffage assez élevé, décolorées à l'alcool et recolorées par le bleu de méthylène ; dans ces conditions les spores apparaissent comme des points rouges au milieu des filaments teintés en bleu.

Au début, la spore est représentée par une petite granulation qui se produit dans le protoplasma et devient bientôt plus volumineuse et ovoïde ; il n'y a qu'une spore dans chaque cellule. Puis le protoplasma se désagrège, la membrane d'enveloppe persistant encore sous forme de gaine vide ; enfin les spores sont mises en liberté. Elles végèteront à la condition d'être reportées dans un nouveau milieu de culture ; on les voit alors augmenter de volume, perdre leur réfringence ; puis une saillie apparaît à l'un des pôles ; la membrane d'enveloppe se déchire en ce point ou plutôt se résorbe ; le protoplasma fait issue, il pousse et s'allonge sous forme de bacille. A ce moment du développement, quelques auteurs ont observé une certaine mobilité des éléments (V. Frisch, Toussaint) (1).

(1) TOUSSAINT, Recherches expérimentales sur la maladie charbonneuse. Thèse de Lyon, 1879.

Malgré le soin que nous avons apporté à cette recherche, nous n'avons jamais pu observer la déhiscence de la spore. Mais en mettant les spores dans des conditions eugénésiques, c'est-à-dire en les plaçant à l'étuve sur un milieu nutritif, nous avons constaté qu'au bout d'un quart d'heure, la plupart d'entre elles se laissent pénétrer par les couleurs d'aniline. Il est donc survenu une modification de leur membrane d'enveloppe qui doit permettre l'entrée des matières nutritives aussi bien que l'entrée des matières colorantes ; on conçoit ainsi leur mode de développement.

La sporulation se fait d'autant plus vite que les matières nutritives sont plus rapidement consommées ; aussi se produit-elle facilement dans l'eau distillée. Réciproquement, en assurant constamment l'apport des matériaux nutritifs, on peut obtenir une série ininterrompue de cultures non sporulées (Buchner) (1). Nous ferons remarquer qu'on n'observe pas de spores dans le sang ou les organes des animaux qui succombent au charbon. Behring n'en a pas trouvé non plus en semant la bactériidie dans du sérum ; mais en diluant ce sérum, les spores se sont développées. Il y a donc dans le sérum une substance, l'acide carbonique d'après Behring, qui empêche la sporulation.

La forme de la bactériidie se modifie quelque peu, suivant diverses circonstances et spécialement suivant les milieux de culture, et la température ambiante. Mais nous ne pouvons insister ici sur tous ces faits ; nous rappellerons seulement que, dans les vieilles cultures, on observe des formes bizarres, dites formes d'involution, donnant aux éléments l'aspect de renflements fusiformes, piriformes, cylindriques, etc.

Caractères des cultures. — La bactériidie charbonneuse se développe facilement dans les milieux artificiels, à la condition que leur réaction soit neutre ou légèrement alcaline et que l'oxygène puisse y arriver aisément.

Dans le bouillon, la végétation se fait sous forme de petits grumeaux qui nagent dans le liquide resté clair et, au bout d'un certain temps, finissent par tomber au fond du vase ; à ce moment la sporulation est terminée et les filaments commencent à se désagréger.

Sur l'agar, on observe une traînée blanchâtre, épaisse, crémeuse.

L'aspect est tout à fait caractéristique, quand on emploie un tube de gélatine et qu'on y sème le charbon par une piqûre ; dans le canal ainsi produit, on voit se développer une bande blanchâtre d'où partent de petits filaments devenant bientôt floconneux. Au niveau de la partie libre, on observe une colonie floconneuse, assez épaisse ; puis, au bout de quelques jours, la gélatine se liquéfie et renferme dans son milieu un amas blanchâtre qui finit par tomber

(1) BUCHNER, Ursache des Sporenbildung beim Milzbrandbacillus, Münch. med. Wochenschr., 1890.

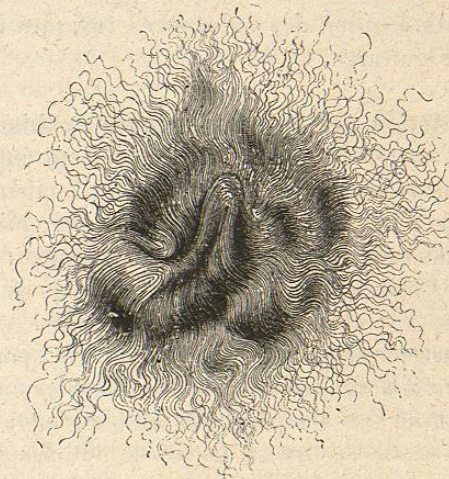


FIG. 4. — Colonie développée sur une plaque de gélatine et âgée de 3 jours.
Gr. 80 D.

au fond du tube. Sur une plaque de gélatine, la colonie, au bout de 2 ou 5 jours, se présente, quand on l'examine à un grossissement de 60 à 80 diamètres, sous l'aspect d'un disque arrondi, formé de filaments réunis en une masse chevelue (fig. 4) ou en flocons cotonneux.

Sur la pomme de terre, la végétation se fait abondamment, sous forme d'une couche opaque, épaisse et d'un blanc sale.

Les cultures dans le lait présentent quelques caractères particuliers⁽¹⁾. Si l'on sème la bactérie dans un tube à essai contenant 15 à 20 cc. de lait, on constate que le milieu est coagulé vers le troisième jour; si on la sème dans un matras à fond plat de façon que l'aération soit facile, le lait ne se coagule pas, il se transforme simplement en un liquide jaune brunâtre. La coagulation du lait est due à un ferment soluble; s'il n'agit pas dans les milieux fortement aérés, c'est que dans ces conditions la bactérie transforme la caséine en une matière incoagulable.

Outre cette caséase, la bactérie sécrète un ferment qui saccharifie le glycogène; mais dans les liquides où on a semé le microbe vivant, on ne trouve pas de glycose; le sucre est consommé au fur et à mesure qu'il se produit (Roger, Étienne).

La bactérie charbonneuse est donc apte à sécréter trois ferments: une diastase protéolytique qui se rencontre dans les cultures renfermant de la peptone; une caséase qu'on trouve dans le lait; une zymase saccharifiante qui prend naissance dans les milieux renfermant de l'amidon ou du glycogène.

Outre ces ferments solubles qui agissent sur le milieu, la bactérie produit différents corps bien définis chimiquement: Perdrix a montré qu'elle donne naissance à de l'acide carbonique et à de l'ammoniaque; Iwanow a reconnu qu'elle produit des acides gras. Nous parlerons à propos de la physiologie pathologique des substances toxiques et vaccinales qu'on peut déceler dans les cultures.

Action des agents physiques et chimiques. — Le développement et la vie de la bactérie sont considérablement influencés par la température; c'est à 55° que la végétation se fait le plus facilement; dès la vingtième heure la culture est sporulée. A 50°, les spores se produisent au bout de 50 heures; à 48 ou 20°, elles mettent 2 ou 5 jours à apparaître; enfin elles ne peuvent se former à 45°. Les cellules mêmes ne peuvent plus se diviser à partir de 42°. Il va sans dire que ces chiffres n'ont rien d'absolu. Ainsi, d'après C. Frankel, la végétation s'arrêterait au-dessous de 46° et la sporulation au-dessous de 24 ou 25°; il n'y aurait donc jamais de spores dans les cultures sur gélatine.

Pour les températures élevées, on admet que c'est à 45° que la bactérie cesse de croître; à partir de 45°, les spores ne se forment plus.

Lehmann, Heim, Buchner et surtout Behring, Roux ont étudié des *variétés asporogènes*; on les obtient en soumettant la bactérie à des conditions défavorables à son développement; c'est ce qu'on observe, par exemple, quand on la cultive dans des milieux additionnés de faibles doses d'antiseptiques, bichromate de potasse ou acide phénique au millième (Roux); acide rosolique ou acide chlorhydrique à 1 pour 100 (Behring).

(1) ROGER, Action de la bactérie charbonneuse sur le lait. *Soc. de biol.*, 18 mars 1895.

Si l'antiseptique agit pendant 8 à 10 jours, on obtient une race asporogène virulente; si son action se prolonge plus longtemps, la bactérie perd à la fois la propriété de donner des spores et de tuer les animaux.

L'action des différents agents physiques ou chimiques diffère totalement, suivant qu'elle s'exerce sur des éléments qui sont ou non sporulés; c'est un résultat qui a été parfaitement mis en évidence par les recherches de Koch, et qui explique certains faits contradictoires observés au début de l'étude du charbon. Ainsi, lorsqu'on enferme du sang charbonneux dans des tubes scellés, en ayant soin de ne pas y laisser pénétrer d'air, la bactérie périt en peu de temps; si l'on refait l'expérience avec des éléments sporulés, la vie peut persister pendant des années.

La présence ou l'absence de spores n'est pas la seule cause d'erreur contre laquelle on doit se mettre en garde. Il faut toujours noter soigneusement dans quelles conditions se trouvent placés les microbes sur lesquels on expérimente. Les résultats sont bien différents suivant qu'on emploie des cultures asporogènes ou du sang charbonneux, suivant qu'on opère sur des microbes humides ou desséchés, exposés ou non à l'action de l'air et de la lumière, enfin suivant qu'on élève ou qu'on abaisse la température ambiante. La question est donc complexe et se trouve entourée d'une série de difficultés qui modifient les résultats et expliquent un grand nombre de contradictions.

M. Momont⁽¹⁾ a essayé d'éviter ces diverses causes d'erreur. Il a reconnu que les bâtonnets du sang charbonneux sont bien plus résistants que les filaments des cultures asporogènes. Le sang desséché dans le vide sur l'acide sulfurique, peut rester virulent quand on le soumet pendant une heure et demie à une température de 92°; le sang humide est stérilisé à 55° en une heure. Les bâtonnets du sang desséché, quand on les laisse au contact de l'air, survivent pendant 60 jours à une température variant de 16° à 22°, et pendant 48 jours à 55°; si on les place dans le vide, la survie est de 48 jours à 22°, de 52 jours à 55°. En se servant du sang humide, la survie, qui est de 60 jours à 55° dans le vide, n'atteint pas 50 jours au contact de l'air.

Pour tuer les spores, il faudrait les soumettre, d'après Koch et Wolffhügel, à une température humide de 107° pendant 5 minutes; dans l'air sec elles résisteraient à 120° pendant 4 heures; il serait nécessaire de les laisser 5 heures à 140° pour les tuer sûrement. Il est vrai que dans des expériences plus précises, M. Massol a trouvé des chiffres bien moins élevés; les spores seraient détruites par une exposition de 5 à 10 minutes à une température de 100°.

Les modifications de la pression agissent peu sur les microbes, mais exercent encore des effets différents suivant qu'on opère sur des bactéries sporulées ou asporogènes: dans le premier cas, il se fait, sous l'influence de hautes pressions, 2600 atmosphères par exemple, une légère diminution du pouvoir pathogène; dans le second, il se produit dans les mêmes conditions, une stérilisation incomplète du liquide et une très grande atténuation: l'inoculation des cultures ainsi modifiées ne détermine plus qu'une maladie chronique⁽²⁾.

L'influence de l'air, dans toutes ces expériences, ne doit pas non plus être

(1) MOMONT, Action de la dessiccation, de l'air et de la lumière sur la bactérie charbonneuse filamenteuse. *Thèse de Paris*, 1891 et *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892.

(2) ROGER, Action des hautes pressions sur quelques bactéries. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1896; *Arch. de physiol.*, 1896.

négligée; M. Roux a démontré que les spores sont tuées quand on les soumet, pendant 60 heures, à l'action combinée de l'air et d'une température de 70°; si on répète l'expérience, en les laissant à l'abri de l'air, on les trouve encore vivantes au bout de 165 heures. On observe des faits analogues en étudiant l'influence simultanée de l'air et du soleil. Il est intéressant de rappeler à ce propos que, d'après M. Arloing⁽¹⁾, la lumière solaire est plus nuisible aux spores qu'aux bâtonnets, même quand on place le liquide ensoleillé dans de la glace, de façon à empêcher le développement de la spore, et la production de bacilles naissants peu résistants. M. Roux soutient que, dans ces conditions, les spores ne croissent pas, non parce qu'elles ont péri, mais parce que, sous l'influence de la lumière solaire, le bouillon a subi des modifications chimiques qui le rendent impropre à la végétation de la bactérie.

M. Momont, qui a repris cette étude, a reconnu que les spores maintenues une heure dans l'eau distillée, périssent après 48 heures d'insolation, quand elles sont au contact de l'air; enfermées dans un tube sans air, elles sont encore vivantes après 110 heures. Les cultures asporogènes succombent rapidement; un liquide qui donnait, au début de l'expérience, 2520 bactéries, n'en contient plus que 50 après 20 minutes d'insolation, 4 après 40 minutes; il est stérile au bout de 3/4 d'heure.

Des différences analogues s'observent quand on étudie l'action de l'eau. Hochstetter a trouvé que la bactérie non sporulée, contenue dans de l'eau distillée ou dans l'eau de Berlin, stérilisée au préalable, périt en 5 jours; les spores se montrent encore vivantes au bout de 154 jours (Nœgeli et Koch) et même au bout d'un an. La résistance est plus grande quand la température est basse; d'après Meade Bolton⁽²⁾, les bâtonnets meurent au bout de 6 jours à 20°, tandis que les spores restent vivantes pendant 5 mois; mais si on les maintient pendant le même laps de temps à 55°, elles perdent le pouvoir de se développer. Une nouvelle cause d'erreur a été mise en évidence par Straus et Dubarry⁽³⁾: dans l'eau distillée, la bactérie peut donner des spores à 15 ou 20°, et, dès lors, la végétation se trouve encore possible au bout de 151 jours.

D'après Sirena, les spores conservées dans de l'eau distillée et stérilisée seraient encore vivantes et virulentes au bout de 2 ans et 19 jours; dans l'eau ordinaire au bout de 4 mois; dans la terre stérilisée, au bout de 16 mois.

On a étudié l'action de l'ozone sur le charbon, et on a vu que les spores résistent pendant trois et quatre heures (Szpilmann), mais sont détruites par un séjour de cinq heures (Oberdöffer); elles ne sont pas tuées quand on les soumet pendant 21 jours à l'influence de l'oxygène comprimé à dix atmosphères, tandis que, dans les mêmes conditions, les bâtonnets succombent en 8 jours.

Nous ne pouvons, à notre grand regret, insister sur toutes ces expériences fort intéressantes; nous avons cru seulement devoir signaler les principaux faits observés, et nous terminerons l'étude de la résistance vitale du charbon en disant quelques mots de l'action des substances chimiques. Comme toujours, les résultats diffèrent suivant qu'on considère les bâtonnets ou les spores. Ces

⁽¹⁾ ARLOING, Influence de la lumière sur le développement et les propriétés du bacillus anthracis. *Arch. de physiologie*, 1886.

⁽²⁾ MEADE BOLTON, Ueber das Verhalten verschiedener Bacterienarten im Trinkwasser. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1886.

⁽³⁾ STRAUS et DUBARRY, Recherches sur la durée de la vie des microbes pathogènes dans l'eau. *Arch. de Méd. expér.*, 1889.

dernières résistent à un mélange d'alcool et d'éther; elles peuvent rester vivantes pendant 57 jours dans une solution d'acide phénique à 5 pour 100 (Guttman et Merke), tandis que les bâtonnets sont tués en 10 secondes par une solution au centième (Gartner et Plagge). Le sublimé à 1 pour 100 fait périr les bâtonnets en quelques minutes (Geppert); pour détruire la spore, il faut des solutions à 1/400^e et 1/200^e (Tscherni).

Behring a étudié le rapport qui existe entre le pouvoir antiseptique des diverses substances vis-à-vis de la bactérie et leur action toxique sur les animaux; il est arrivé à cette conclusion assez curieuse que la toxicité relative ne varie guère, et oscille autour du chiffre 6; c'est-à-dire que pour tuer 1 kilogramme d'animal il faut 6 fois moins de substance que pour stériliser un litre de liquide. Voici quelques-uns des chiffres qu'il donne et qui peuvent présenter un certain intérêt au point de vue pratique.

	Pouvoir antiseptique.	Pouvoir toxique.	Toxicité relative.
Acide phénique.	1 ^{er} ,7	0 ^{er} ,27	6,6
Sublimé	0 ^{er} ,1	0 ^{er} ,017	5,8
Chlorhydrate de quinine.	0 ^{er} ,8	0 ^{er} ,17	4,7
Mercurio-cyanure de potassium.	0 ^{er} ,017	0 ^{er} ,005	5,6
Argento-cyanure de potassium.	0 ^{er} ,02	0 ^{er} ,005	6,6
Auro-cyanure de potassium.	0 ^{er} ,04	0 ^{er} ,006	6,6

Mais il faut remarquer encore que tous ces chiffres n'ont qu'une valeur relative, car l'action des antiseptiques varie suivant la température ambiante. Koch a montré, en effet, que la chaleur est un adjuvant des antiseptiques. Heider⁽¹⁾ a trouvé que l'acide phénique à 5 pour 100 n'a pas détruit les spores en 56 jours à la température ambiante; il les fait périr en deux heures à 55° et en trois minutes à 57°.

Enfin d'assez nombreuses expériences établissent que les bâtonnets sont rapidement détruits sous l'influence de la putréfaction, tandis qu'au bout d'un mois les spores sont encore vivantes.

Les quelques considérations que nous avons cru devoir présenter sur la résistance du charbon aux diverses causes de destruction étaient indispensables pour pouvoir aborder l'étude étiologique de cette maladie.

Étiologie. — Distribution géographique. — Si le charbon peut s'observer dans toutes les régions du globe, il est certaines contrées qui semblent particulièrement disposées à subir ses ravages. En France, il sévit dans la Brie, la Champagne, la Bourgogne, le Dauphiné, l'Auvergne, les Charentes, le Languedoc et surtout dans la Beauce; dans cette dernière contrée, l'infection charbonneuse a pu, à de certains moments, frapper 20 pour 100 de la population ovine, amenant par an une perte de 7 à 8 millions de francs. En Allemagne, on l'observe surtout dans la Bavière et la Saxe; en Autriche, ce sont les provinces danubiennes et la Hongrie qui sont plus spécialement atteintes. Mais, parmi les États d'Europe, c'est la Russie qui paye le plus lourd tribut à la terrible infection; la Sibérie a été à maintes reprises ravagée par des épizooties et des épidémies qu'on a réunies sous le nom de peste sibérienne; c'est ainsi qu'à

⁽¹⁾ HEIDER, Ueber die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln bei höherer Temperatur. *Centralb. f. Bakteriologie*, 1891, Bd. IX, p. 221.