

**Médecine.** — *Exaltation et maintien de la virulence, variation du taux d'agglutination, accroissement de la vitesse de déplacement et de propagation du B. coli de passage.* Par ONG SIAN GWAN.  
(Communicated by Prof. W. A. P. SCHÜFFNER.)

(Communicated at the meeting of April 30, 1938).

Le *B. coli* peut, à la suite d'un ou plusieurs passages sur des lapins acquérir les propriétés suivantes:

1. *Augmentation de la virulence.*

Après passage sur lapins le *B. coli* devient en général plus virulent vis-à-vis de ces animaux. Ce résultat a été constaté sur plusieurs souches et en particulier sur les souches *D*, *K* et *R*. Exemple: en avril 1931 la dose mortelle de la souche *R* qui tue un lapin en 24 h. si l'on injecte par voie veineuse, est de  $\frac{1}{4}$  d'une culture de 24 h. sur gélose. Huit mois et demi plus tard la dose mortelle est devenue les  $\frac{7}{10}$  d'une même culture. A la suite de 3 passages sur lapins la dose mortelle est devenue  $\frac{1}{5}$  d'une culture sur gélose, mais la virulence de cette souche de passage *R*<sub>3</sub> s'affaiblit et en janvier 1933 la dose mortelle est devenue une demi-culture de 24 h. sur gélose.

Remarquons que depuis, la virulence s'est maintenue constante pendant au moins 4 ans (janvier 1933—1937). Le même résultat a été obtenu avec la souche *K*<sub>5</sub> (souche du 5e passage); en effet depuis décembre 1932 jusqu'au dernier titrage en janvier 1937 la dose mortelle pour un lapin en injection intraveineuse est égale aux  $\frac{3}{10}$  d'une culture de 24 h. sur gélose. Toutes les souches sont conservées à la glacière (température 5°) dans le sang d'un lapin mis en tube scellé. Dans cette condition le *B. coli* conserve sa vitalité au moins sept ans; en effet trois souches de *B. coli* *D*<sub>4</sub>, *D*<sub>5</sub> et *D*<sub>6</sub> mises en tubes au mois de mai et de juin en 1930 donnent encore une culture positive en juillet 1937.

L'exaltation de la virulence par passage sur animal est connue depuis 1869 par les expériences de COZE et FELTZ<sup>1)</sup> et surtout par les travaux de PASTEUR, CHAMBERLAND et ROUX<sup>2)</sup>. Depuis on a obtenu le même résultat avec d'autres microbes pathogènes et même saprophytes (CHARRIN et de NITTIS<sup>3)</sup>; H. VINCENT<sup>4)</sup>. On admet en général que le microbe perd facilement sa virulence dès qu'on cesse le passage sur animal. Les expériences rapportées ci-dessus représentent une exception à cette règle.

1) E. DUCLAUX. Le microbe et la maladie. Paris, p. 175 (1886).

2) C. R. Ac. Sc., 92, 429 (1881).

3) C. R. Soc. Biol., 49, 711 (1897).

4) Ann. Inst. Pasteur, 12, 785 (1898).

## 2. Variation du taux d'agglutination.

Les tableaux 1 et 2 montrent les résultats d'agglutination des souches de *B. coli*:  $D_n$ ,  $K_n$  et  $R_n$  vis-à-vis de deux sérums agglutinants différents: sérum anti  $K_5$  et anti  $R_3$ . Les souches  $K_5$  et  $R_3$  utilisées pour la préparation

TABLEAU I.  
Taux d'agglutination du sérum anti  $R_3$  vis-à-vis du *B. coli* de passage.

Souches de <i>B. coli</i>	m	Souches de <i>B. coli</i>	m	Souches de <i>B. coli</i>	m
$R_0$	11	$D_0$	9	$K_0$	13
$R_1$	10	$D_1$	8	$K_1$	7
$R_2$	10	$D_2$	7	$K_2$	7
$R_3$	10	$D_3$	6	$K_3$	7
$R_4$	10	$D_4$	6 <sup>1)</sup>	$K_4$	6
		$D_5$	6 <sup>1)</sup>	$K_5$	5
		$D_6$	5	$K_6$	4

Taux d'agglutination = 1/10.2<sup>m</sup>.

TABLEAU 2.  
Taux d'agglutination du sérum anti  $K_5$  vis-à-vis du *B. coli* de passage.

Souches de <i>B. coli</i>	m	Souches de <i>B. coli</i>	m	Souches de <i>B. coli</i>	m
$K_0$	3	$R_0$	3	$D_0$	5
$K_1$	3	$R_1$	3	$D_1$	5
$K_2$	8	$R_2$	3	$D_2$	5
$K_3$	7	$R_3$	3	$D_3$	6
$K_4$	8	$R_4$	3	$D_4$	5
$K_5$	8			$D_5$	5
$K_6$	6			$D_6$	6

Taux d'agglutination = 1/10.2<sup>m</sup>.

du sérum sont les souches couramment employées dans ce travail. Les indices, 1, 2,.....,  $n$  désignent le nombre de passages sur lapin. On peut en conclure que la souche  $R_0$  conserve son taux d'agglutination après 1 à 4 passages aussi bien pour le sérum anti  $R_3$ , que pour le sérum anti  $K_5$ . Le même résultat a été obtenu avec la souche  $D_0$  si l'on utilise le sérum anti  $K_5$  (tableau 2). Par contre le taux d'agglutination diminue progressivement après chaque passage si l'on emploie le sérum anti  $R_3$  (tableau 1).

1) Agglutination faiblement positive.

Le taux d'agglutination du sérum anti  $R_3$  vis-à-vis de la souche  $K_0$  diminue après le passage (tableau 1); par contre il augmente brusquement entre  $K_1$  et  $K_2$ , si l'on utilise le sérum anti  $K_5$ . La valeur d'agglutination demeure constante (1/2500) après d'autres passages. Le taux d'agglutination du sérum vis-à-vis de la souche employée ( $R_3$  ou  $K_5$ ) est supérieur ou égal au taux d'agglutination du même sérum vis-à-vis d'autres souches, c'est là un fait déjà connu. La souche  $K_0$  constitue une exception, le taux d'agglutination du sérum anti  $R_3$  vis-à-vis de cette souche (1/10 . 2<sup>13</sup>) est supérieur au taux vis-à-vis de la souche  $R_3$  employée (1/10 . 2<sup>10</sup>).

D'autres facteurs inconnus jouant un rôle, ces résultats doivent être considérés avec une certaine réserve. En effet, en inoculant la dose mortelle de la souche  $R_3$  (1/10 d'une culture de 24 h. sur gélose) dans le péritoine de sept cobayes, on trouve en employant le même sérum anti  $R_3$  (titre 1/10000) des taux d'agglutination variant de 1/40 à 1/5000 vis-à-vis des *B. coli* isolés du pus péritonéal. La souche  $R_3$  conserve son agglutinabilité non seulement après passages sur lapins, comme on vient de l'indiquer, mais encore après 31 passages sur gélose.

H. VINCENT<sup>1)</sup> a remarqué que le *B. mégaterium* cultivé en sac de collodion dans le péritoine d'un cobaye est moins agglutiné (1/10) qu'avant le passage (1/20) par le même sérum agglutinant. Un résultat semblable a été obtenu par VAN LOGHEM<sup>2)</sup>: certaines souches de *B. coli* peuvent perdre leur agglutinabilité après plusieurs passages sur gélose ou après avoir été cultivées en sac de collodion dans le péritoine d'un cobaye.

### 3. *Accroissement de la vitesse de déplacement.*

On désigne par vitesse de déplacement la projection horizontale de la distance moyenne parcourue en une seconde par le microbe. On la mesure à l'aide d'un microscope et de la cuve plate, employée généralement pour la numération globulaire (cyto-hématomètre). On introduit dans la cuve 1 à 2 gouttes d'une culture en bouillon de *B. coli* âgée de 2 à 4 h. On la recouvre d'une lamelle de verre. Une chambre claire est adaptée au microscope. Celui-ci a une position verticale, la préparation une position horizontale, on mesure donc la projection horizontale du déplacement du microbe. L'objectif employé a un fort grossissement sans immersion (objectif Leitz 7, oculaire 4). Le trajet parcouru est dessiné sur une feuille de papier, en même temps que le temps est mesuré au chronomètre. On connaît la longueur  $s$  du chemin parcouru en  $\mu$  (= 1/1000 mm) ainsi que le temps  $t$  en secondes; on en déduit la vitesse de déplacement:  $v = \frac{s}{t}$ .

Pour ces mesures on choisit des microbes possédant une mobilité différente et on prend la moyenne d'une vingtaine de mesures au moins.

Le tableau 3 donne les résultats obtenus avec les souches  $R$ ,  $D$  et  $K$  et

<sup>1)</sup> Ann. Inst. Pasteur, 12, 785 (1898).

<sup>2)</sup> Nederl. Tijdschr. v. Geneesk., II, 1966 (1921).

leurs dérivés après le passage  $R_n$ ,  $D_n$  et  $K_n$ , l'indice  $n$  désigne le nombre de passages sur lapins. On constate que la vitesse de déplacement augmente

TABLEAU 3.  
Vitesse de déplacement  $v$  en  $\mu$ /sec du B. coli de passage.

Souches de B. coli	$v$	Souches de B. coli	$v$	Souches de B. coli	$v$
$R_0$	22	$D_0$	23	$K_0$	20
$R_1$	31	$D_1$	30	$K_1$	33
$R_2$	30	$D_2$	30	$K_2$	31
$R_3$	32	$D_3$	24	$K_3$	22
$R_4$	35	$D_4$	23	$K_4$	31
		$D_5$	22	$K_5$	28
		$D_6$	23	$K_6$	31
				$K_7$	28
				$K_8$	37

en général après passage sur l'animal, mais cet accroissement n'est pas constant. Dans ces expériences les mesures ayant été faites 3 ans après les passages, il est probable que le résultat serait plus uniforme, si l'on pratiquait ces mesures peu de temps après le passage. La mesure de la vitesse de déplacement de la souche  $K_8$  a été faite peu après le passage, elle a donné une vitesse maxima :  $v = 37 \mu$ /sec. Il n'y a pas de relation entre la vitesse de déplacement et la virulence de deux souches différentes. En effet les souches  $D_6$  et  $K_7$  sont plus virulentes que la souche  $R_3$ , mais leurs vitesses ne sont pas plus grandes. La souche  $S_0$  et la souche  $D_u$  ont la même vitesse de déplacement:  $v = 18 \mu$ /sec; la première tue le cobaye en 24 h. si l'on injecte dans le péritoine 1/5000 d'une culture de 24 h. sur gélose. La deuxième ne le tue qu'à la dose d'un dixième d'une culture sur gélose, dose qui est 500 fois plus grande que la précédente. On verra plus bas qu'on peut augmenter in vitro la vitesse de déplacement du B. coli.

Une remarque concernant le mouvement et la vitesse de déplacement du B. coli. La vitesse de déplacement ne dépend pas toujours de la grosseur et de la longueur du bacille. Il existe des bacilles, qui se déplacent en ligne droite avec une énorme vitesse, difficile à mesurer, d'autres suivent cette même ligne droite en effectuant des mouvements ondulatoires.

Il n'y a pas de direction préférée. En effet un bacille qui se dirige tout droit peut s'arrêter tout à coup sans cause apparente et prendre ensuite, sans s'être retourné la direction opposée.

A la suite d'un choc contre un autre bacille, il s'arrête et semble étourdi, ou bien marche en sens inverse sans s'arrêter et sans se retourner. À côté

des bacilles qui suivent une ligne droite, il en est qui décrivent des cercles ou des courbes quelconques. D'autres, en tournant très vite sur eux-mêmes comme les ailes d'un moulin, avancent en ligne droite ou bien décrivent un cercle ou une courbe quelconque.

Est-ce un phénomène vital ou physico-chimique? On sait que certaines substances, par exemple une parcelle de camphre sur l'eau, effectue le même mouvement et on explique le phénomène par une différence de tension superficielle.

#### 4. *Accroissement de la vitesse de propagation.*

Un *B. coli* ou un autre microbe mobile ensemencé en tube à la surface d'un milieu de culture demi-solide (contenant 2 p 1000 de gélose) donne en fonction du temps une culture, qui se propage de haut en bas vers le fond du tube. Ce phénomène a été observé indépendamment l'un de l'autre par WASSÉN (1923) <sup>1)</sup> et DIMITRIJEVIC-SPETH <sup>2)</sup>. Remarquons qu'il se produit aussi bien dans un milieu de culture liquide (bouillon Martin), si l'on prend un tube ayant un petit diamètre: 3 à 5 mm. Dans toutes ces expériences on a utilisé le milieu demi-solide préconisé par FISCHER <sup>3)</sup> (gélose 2 p. 1000, peptone Chapoteaut 2 p. 100, pH 7.5). Dans ce milieu de culture le *B. coli* donne deux types différents de culture. 1. Un voile qui se propage de haut en bas. 2. Un disque opaque qui se forme au bout de 2 à 3 hrs. descendant de haut en bas. Ce disque opaque est nettement limité à la partie inférieure. Au-dessus du disque le milieu de culture se clarifie. Quelquefois on observe au-dessus de ce disque un ou plusieurs autres disques et FISCHER a distingué dans ce groupe deux types de cultures, suivant que la culture a donné un ou 2 disques. On a même observé jusqu'à 5 disques superposés et séparés les uns des autres par une zone claire. La plupart des souches employées ne donnent que deux disques. Pour ces expériences on tient compte seulement du disque qui se trouve le plus bas.

#### A. *Expression de la courbe de propagation.*

Désignons par  $y$  la distance mesurée en mm de la surface du milieu de culture à la partie inférieure du disque de culture et par  $t$  le temps en heures. On obtient une courbe expérimentale  $y = f(t)$  partant de l'origine  $o$ , dont la concavité est tournée vers le haut (fig. 1). Cette courbe peut être convenablement représentée par l'équation:

$$y = a t^b \quad . . . . . (1)$$

où  $a$  et  $b$  sont deux constantes positives et en général  $b > 1$  <sup>4)</sup>. Cette

<sup>1)</sup> C. R. Soc. Biol., 104, 523 (1930).

<sup>2)</sup> Zentralbl. f. Bakt. I. O., 93, 486 (1924).

<sup>3)</sup> Acta pathologica et microbiologica scandinavica. Suppl. IX (1932).

<sup>4)</sup> Il est curieux de noter l'identité de l'équation (1) avec la formule d'absorption de FREUNDLICH (1907):  $a = a c^{1/n}$ , qui trouve également son application biologique, dans

fonction est valable dans l'intervalle  $0 < t < 5$ ; pour  $t > 5$  une fonction du premier degré représentant une droite, donne une meilleure approximation.

$$y = a_1 t + b_1 \dots \dots \dots (2)$$

où  $a_1$  et  $b_1$  sont deux constantes,  $a_1 > 0$  et  $b_1 < 0$ .

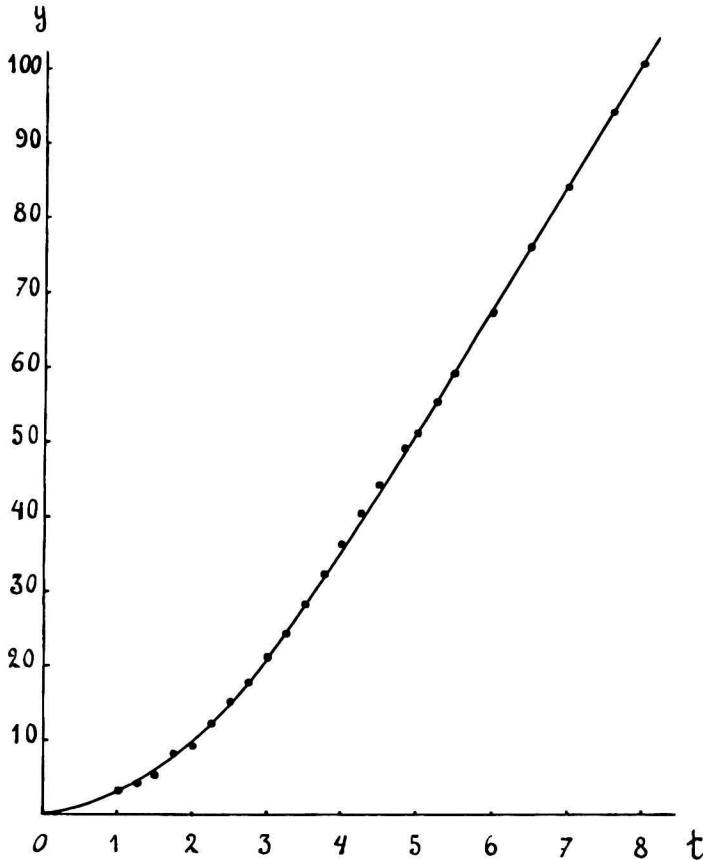


Fig. 1. Courbe de propagation du B. coli So.

Posons dans l'intervalle  $0 < t < 5$ ;  $T = \log t$ ,  $Y = \log y$  et  $A = \log a$ , on a

$$\log y = \log a + b \log t.$$

et l'équation (1) devient:

$$Y = A + b T \dots \dots \dots (3)$$

Cette équation du premier degré est représentée à l'échelle logarithmique par une droite, sur ce graphique  $b$  représente la pente de la droite (3). Il y a discontinuité pour  $t \cong 5$  où la courbe expérimentale (1) semble

---

cette formule la constante  $1/n \leq 1$ . La même équation a été obtenue par J. S. HUXLEY et G. TEISSIER dans l'étude de la croissance relative où  $y$  représente la dimension de l'organe étudié et  $x$  celle de l'organe de référence,  $y$  et  $x$  sont reliés par une équation de la forme:  $y = bx^a$  ou  $b$  et  $a$  sont des constantes. (C. R. Soc. Biol., 121, 934 (1936).)

prendre une forme linéaire (2). En effet, pour  $t > 5$  on a dit plus haut que (2)

$$y = a_1 t + b_1$$

représente mieux le phénomène. Prenons les logarithmes:

$$\log y = \log(a_1 t + b_1) = \log \left[ a_1 \left( t + \frac{b_1}{a_1} \right) \right] = \log a_1 + \log \left( t + \frac{b_1}{a_1} \right)$$

et le graphique logarithmique ( $\log y, \log t$ ) n'est plus linéaire, mais il ne s'écarte pas beaucoup de la ligne droite. Au point  $t=0, y=0$  la tangente à la courbe est horizontale; on a en effet  $y' = abt^{b-1} = 0$ .

Supposons la fonction  $y = at^b$  continue à partir de  $t=0$ ,  $y'$  croît en même temps que  $t$ , par conséquent la concavité de la courbe est tournée vers le haut, comme il a été constaté pour la courbe expérimentale. (fig. 1).

Afin de vérifier la formule empirique (1) on a choisi parmi de nombreuses expériences la suivante: trois tubes (longueur 45 cm, diamètre 1.5 cm) contenant le milieu de culture demi-solide indiqué plus haut, sont ensemencés à la surface avec le *B. coli* So. On colle derrière le tube une bande de papier millimétré, indiquant la distance à partir de la surface du milieu de culture. On place les tubes à l'étuve, on fait toutes les 15 min. la lecture à travers la vitre de l'étuve à l'aide d'une loupe et on note en même temps la température dans l'étuve.

De cette manière on évite les brusques changements de température qui pourraient influencer la vitesse de propagation lorsque l'on fait des lectures rapprochées. La température moyenne pendant l'expérience est de  $33^{\circ},9 \pm 0.53$ . Dans la tableau 4 on trouve les données du tube 1 et le graphique logarithmique (fig. 2) est construit avec ces données. Comme on l'a vu, la courbe expérimentale  $y=f(t)$  se compose de deux parties.

La première partie correspond à l'équation (1)  $y = at^b$ ,  $t$  varie de 0 à 4.5. Le calcul des constantes  $a$  et  $b$  est fait en remplaçant dans l'équation (3)  $Y$  et  $T$  par les valeurs observées correspondantes  $Y_K$  et  $T_K$ ; puis on range les équations approchées dans l'ordre des valeurs croissantes de  $T$ . Ensuite on divise les équations en deux groupes contenant un nombre d'équations égal ou à une unité près. On fait la somme des équations de chaque groupe, on obtient ainsi deux équations du premier degré en  $b$  et  $A$  dont les solutions sont les valeurs cherchées de  $A$ ,  $b$  et  $a$  (méthode des groupements) <sup>1)</sup>. On trouve ainsi pour cette courbe:  $A = \log a = 0.418$  ou  $a = 2.62$  et  $b = 1.89$ .

L'écart arithmétique moyen entre les valeurs logarithmiques observées  $\log y_{\text{obs.}}$  et les valeurs logarithmiques calculées  $\log y_{\text{calc.}}$  est égal à:

$$\omega = \frac{\sum |\log y_{\text{obs.}} - \log y_{\text{calc.}}|}{n} = \frac{0,211}{15} = 0,014$$

<sup>1)</sup> FRÉCHET et ROMANN. Représentation des lois empiriques par des formules approchées. 1930. Eyrolles, édit. p. 71, Paris.

TABLEAU 4.

$t$  = temps en heures.

$y_{\text{obs.}}$  = distance mesurée en mm de la surface du milieu de culture à la partie inférieure du disque de culture.

$t$	$y_{\text{obs.}}$	$\log t$	$\log y_{\text{obs.}}$	$\log y_{\text{calc.}}$	$ \log y_{\text{obs.}} - \log y_{\text{calc.}} $	$y_{\text{calc.}}$	$ y_{\text{obs.}} - y_{\text{calc.}} $	Temp.
-----	-------------------	----------	------------------------	-------------------------	--	--------------------	--	-------

première partie :  $y = at^b$

1.00	3	0.0000	0.4771	0.418	0.059	2.62	0.38	34°5
1.25	4	0.0969	0.6020	0.601	0.001	3.99	0.01	34°5
1.50	5	0.1760	0.6989	0.751	0.052	5.64	0.64	34°5
1.75	8	0.2430	0.9030	0.877	0.026	7.54	0.46	34°5
2.00	9	0.3010	0.9542	0.987	0.033	9.71	0.71	34°2
2.25	12	0.3521	1.0791	1.082	0.003	12.07	0.07	34°2
2.50	15	0.3979	1.1760	1.170	0.006	14.79	0.21	34°2
2.75	17.5	0.4393	1.2430	1.249	0.006	17.74	0.24	34°2
3.00	21	0.4771	1.3222	1.320	0.002	20.90	0.10	34°2
3.25	24	0.5118	1.3802	1.386	0.006	24.30	0.30	34°2
3.50	28	0.5440	1.4471	1.446	0.001	27.93	0.07	34°2
3.75	32	0.5740	1.5051	1.503	0.002	31.85	0.15	34°2
4.00	36	0.6020	1.5563	1.556	0.000	35.98	0.02	34°2
4.25	40	0.6283	1.6020	1.606	0.004	40.36	0.36	34°2
4.50	44	0.6532	1.6434	1.653	0.010	44.98	0.98	34°2

deuxième partie  $y = a_1 t + b_1$

4.83	49	0.6842	1.6902			48.14	0.86	34°2
5.00	51	0.6989	1.7075			50.96	0.04	34°2
5.25	55	0.7201	1.7403			55.11	0.11	34°2
5.50	59	0.7403	1.7708			59.26	0.26	34°4
6.00	67	0.7781	1.8260			67.55	0.55	34°8
6.50	76	0.8129	1.8808			75.85	0.15	31°6
7.00	84	0.8451	1.9242			84.14	0.14	32°5
7.58	94	0.8798	1.9731			93.76	0.26	33°5
8.00	100.5	0.9030	2.0022			100.73	0.23	33°9



et celui entre les valeurs observées  $y_{\text{obs.}}$  et les valeurs correspondantes calculées  $y_{\text{calc.}}$  est égal à:

$$\varepsilon = \frac{\sum |y_{\text{obs.}} - y_{\text{calc.}}|}{n} = \frac{4,70}{15} = 0,31.$$

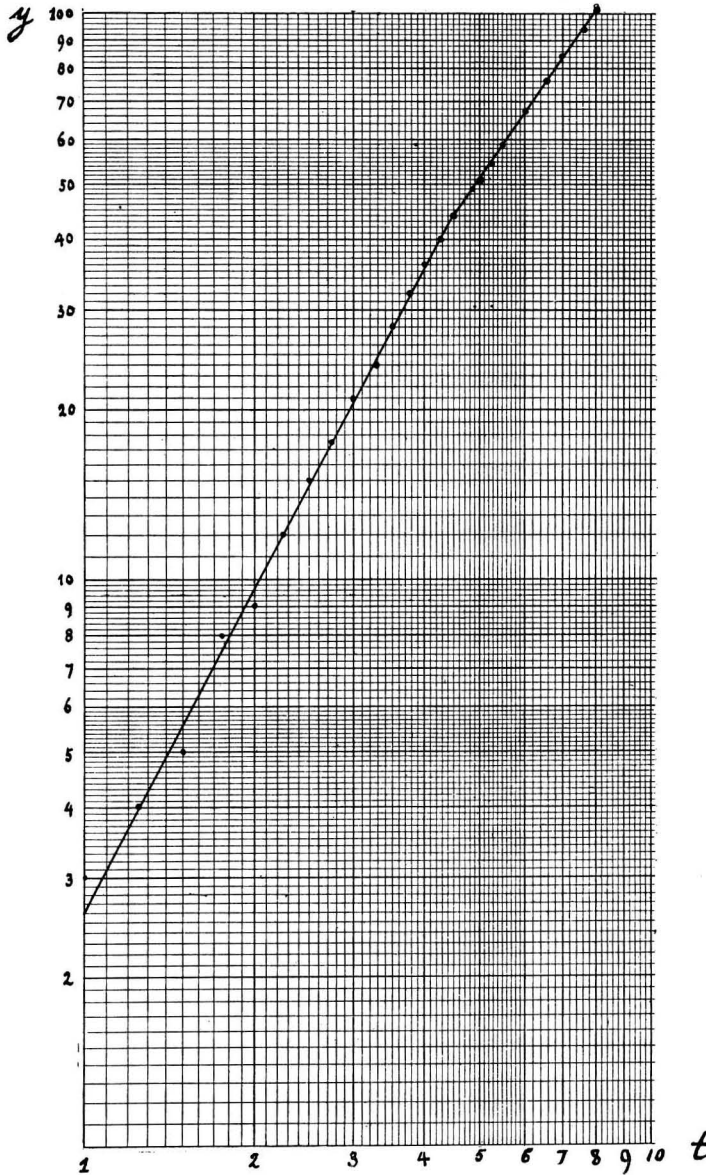


Fig. 2. Courbe de propagation du B. coli So. en coordonnées logarithmiques.

L'équation (1) représente donc assez bien la courbe expérimentale étant donné que l'erreur absolue commise sur la mesure de  $y$  est de  $\pm 0.5$  mm. L'écart  $\omega$  mesuré sur le graphique logarithmique est sensiblement propor-

tionnel à l'écart relatif  $\frac{\varepsilon}{|y_{\text{obs.}}|}$ . En effet, posons  $\omega = d \log y_{\text{obs.}}$ , on a :

$$d \log y_{\text{obs.}} = \log e \frac{dy_{\text{obs.}}}{|y_{\text{obs.}}|} = 0,434 \frac{\varepsilon}{|y_{\text{obs.}}|}.$$

L'interpolation par le graphique logarithmique permet donc de calculer les valeurs de  $y$  avec une erreur relative  $\frac{0,434 \varepsilon}{|y_{\text{obs.}}|}$ .

La deuxième partie de la courbe expérimentale (fig. 1) correspond à une droite (2)  $y = a_1 t + b_1$ ; le calcul des constantes par la méthode des groupements donne:  $a_1 = 16,59$  et  $b_1 = -31,99$  avec un écart arithmétique moyen entre les valeurs observées  $y_{\text{obs.}}$  et les valeurs correspondantes calculées  $y_{\text{calc.}}$ .

$$\varepsilon_1 = \frac{\sum |y_{\text{obs.}} - y_{\text{calc.}}|}{n} = \frac{2,59}{9} = 0,29.$$

L'équation (2) représente donc assez bien la courbe expérimentale pour  $t > 4,5$ . Dans d'autres expériences les valeurs  $y_k$  et  $t_k$  ont été mesurées jusqu'à  $t = 27,5$  et les équations (1) et (2) représentent de manière aussi satisfaisante la courbe obtenue. Le calcul des constantes  $A$  et  $b$  par la méthode graphique donne:  $A = 0,41$  et  $b = 1,98$ , qui correspondent aux valeurs calculées par la méthode des groupements:  $A = 0,418$  et  $b = 1,89$ .

FISCHER<sup>1)</sup> a obtenu une courbe expérimentale semblable, mais il situe la région linéaire à partir de  $t = 6$  ou 7, tandis qu'on a constaté et calculé au moyen de l'équation (1) que cette région semble commencer pour  $t \cong 5$ .

A quoi correspond la région linéaire (2) de la courbe expérimentale? Il est probable, comme M. J. RÉGNIER nous l'a suggéré, que le manque d'oxygène au fond du tube joue un rôle. Pour le démontrer, on verse le milieu nutritif demi-solide dans une boîte de PÉTRI, où on a collé un papier millimétré. Onensemence le centre de la boîte de PÉTRI avec un *B. coli* mobile et on mesure à partir du centre les distances franchies par la culture dans les quatre directions perpendiculaires. La courbe expérimentale ainsi obtenue ne devient plus linéaire pour  $t > 5$  et l'équation (1) semble donner dans cette région une meilleure approximation que l'équation (2). En effet, les expériences exécutées dans ces conditions avec deux souches de *B. coli*  $S_0$  et Badin ont donné le résultat suivant: les écarts arithmétiques moyens  $\varepsilon$  entre les valeurs observées  $y_{\text{obs.}}$  et les valeurs calculées  $y_{\text{calc.}}$  par l'équation (1) sont inférieurs à ceux entre les valeurs observées  $y_{\text{obs.}}$  et les valeurs calculées  $y_{\text{calc.}}$  par l'équation (2):  $\varepsilon_1$  (tableau 5). Il est à remarquer que les valeurs mesurées de  $y$  dans le tube vertical sont plus grandes que celles dans la boîte de PÉTRI. La pesanteur intervient-elle?

<sup>1)</sup> Acta pathologica et microbiologica scandinavica, suppl. IX (1932).

TABLEAU 5.

Souches de B. Coli	<i>a</i>	<i>b</i>	$\varepsilon$	$a_1$	$b_1$	$\varepsilon_1$
Badin.	0.95	1.88	1.15	7.75	-17.44	1.78
"	1.80	1.54	1.06	8.14	-21.14	1.13
"	1.32	1.71	1.07	8.61	-22.92	1.19
"	0.95	1.85	0.86	8.82	-26.68	0.91
"	2.15	1.59	0.64	11.25	-31.16	1.29
"	1.11	1.99	0.56	12.75	-37.03	0.69
So.	0.36	2.24	0.38	8.18	-29.28	0.40
"	0.36	2.24	0.39	8.35	-30.49	0.63
"	0.31	2.31	0.33	8.88	-34.18	0.44
"	0.28	2.36	0.38	8.52	-31.71	0.50

Le manque d'oxygène ne semble pas devoir être le seul facteur intervenant ici. Il est probable que l'intoxication du milieu de culture par les produits métaboliques et la vitesse de multiplication du microbe jouent un rôle.

JENSEN <sup>1)</sup> a montré qu'une culture de B. coli donne 4 phases distinctes de croissance. Dans la première phase (période latente), qui dure 1 à 2½ heures, le microbe ne se multiplie pas ou commence à se multiplier à la fin de la période.

La deuxième phase est la période de multiplication maxima. Soient *a* et *b* les nombres respectifs de microbes au début et après *n* générations, on a une fonction exponentielle:  $b = a \cdot 1,6^n$ . Cette période dure 2 à 4 h. pour le B. coli.

Dans la 3e phase la vitesse de multiplication diminue et enfin dans la 4e phase la mortalité des microbes est plus grande que la natalité. La première et la deuxième phase peuvent donc durer 3 à 6½ h. et en moyenne 4 h. 45 min.

M. RÉGNIER et Mlle LAMBIN <sup>2)</sup> ont également montré que ces deux périodes durent six heures.

Ou a vu qu'entre 0 et 5 heures la courbe de propagation peut être représentée par l'équation (1).

La période de multiplication maxima correspond à la vitesse maxima de propagation. Après cette période la vitesse de multiplication diminue parallèlement à la vitesse de propagation; en effet la courbe semble prendre une forme linéaire. Remarquons que la vitesse de déplacement ne varie pas

<sup>1)</sup> Undersøgelser over colibacillens normale Vækstforhold. Disputats København. 1927 (in FISCHER).

<sup>2)</sup> C. R. Ac. Sc., 199 (1934) séance du 10 décembre.

beaucoup pendant la propagation. Voici les moyennes des mesures de vitesse de déplacement en  $\mu/\text{sec.}$ , faites toutes les heures en milieu demi-solide à partir de deux heures après le repiquage: 18.4, 18.2, 16.3, 13.1, 16.2, 15.4, 16.8.

B. *Courbe de propagation du B. coli de passage.*

Dans la figure 3 on a porté sur l'axe des ordonnées la distance  $y$  en  $\text{mm}$  de la surface du milieu de culture à la partie inférieure du disque de culture et sur l'axe des abscisses le temps  $t$  en heures. On constate qu'après chaque passage la pente de la courbe expérimentale  $y = f(t)$  devient de plus en plus grande: la vitesse de propagation est augmentée. Le tableau 6 donne les valeurs des constantes  $a$  et  $b$  de l'équation  $y = at^b$  appliquée

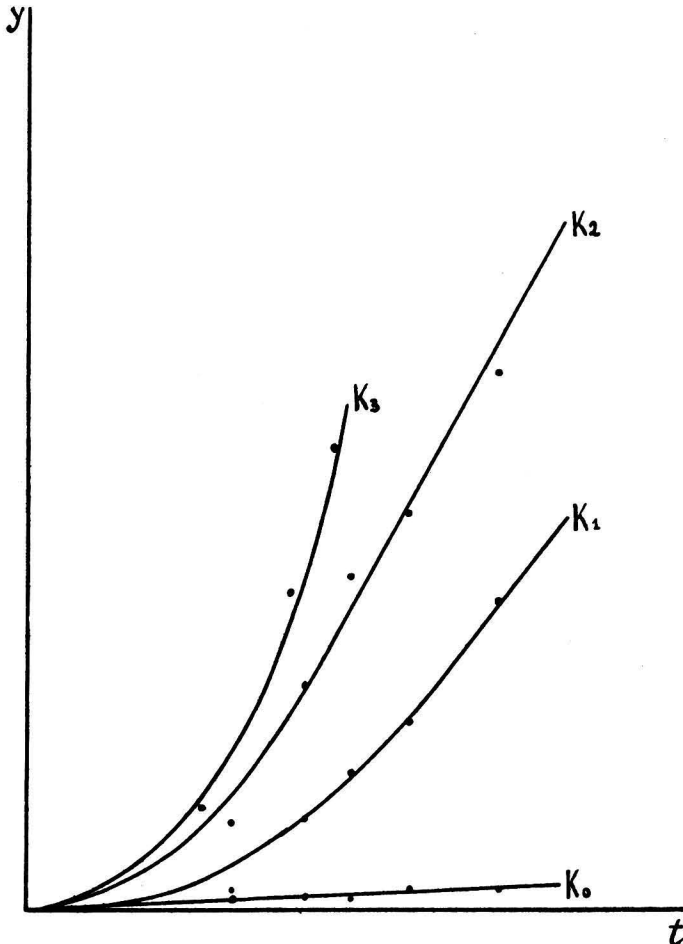


Fig. 3. Courbes de propagation du *B. coli* après passage sur lapin.  
 $K_0$  = souche d'origine.  
 $K_1$ ,  $K_2$  et  $K_3$  souches après le 1e, 2e et 3e passage.

aux données du *B. coli* de passage  $K_n$ ,  $t$  varie de 0 à 5.5. Les valeurs de  $a$  et  $b$  de la souche  $K_0$  ne sont que relativement exactes, car les mesures

de  $y$  ne sont pas précises. On constate que  $a$  augmente avec le nombre de passages, par contre  $b$  diminue. La 4<sup>e</sup> colonne donne la pente  $y'$  calculée

TABLEAU 6.

Souches de B. coli	$a$	$b$	$y'$
$K_0$	(0.63)	(0.76)	19°0
$K_1$	0.03	3.89	81°1
$K_2$	0.46	2.83	86°5
$K_3$	1.07	2.59	87°7

pour  $t = 4$ ,  $y'$  croit en même temps que le nombre de passages; ce résultat correspond aux courbes expérimentales de la figure 3.

Un résultat comparable a été obtenu avec deux autres souches  $D_n$  et  $R_n$ ,  $n$  désigne le nombre de passages sur lapin. Les mesures de la vitesse de propagation ont été faites au mois de juin 1932, peu de temps après les passages du B. coli. Elles ont été répétées trois ans plus tard en 1935; les résultats ne sont plus les mêmes. Il est donc nécessaire de faire la mesure de la vitesse de propagation peu de temps après le passage.

On peut augmenter in vitro la vitesse de propagation et de déplacement de deux manières.

1<sup>o</sup>. On cultive le B. coli dans le sang défibriné de lapin à l'étuve. Au bout de quelques jours on constate que la vitesse de propagation du B. coli est augmentée. Exemple: le B. coli  $K_4$  donne après 9 j. de contact avec le sang défibriné une vitesse de propagation égale à celle du B. coli  $K_5$ , obtenu après passage du B. coli  $K_4$  sur lapin. Les rapports des deux vitesses de propagation:  $\frac{V_5}{V_4} = 1.5$ ,  $v_4$  et  $v_5$  sont respectivement les vitesses de propagation de B. coli  $K_4$  et  $K_5$  (ou de B. coli  $K_4$  après contact avec le sang).

Si on laisse le B. coli  $K_4$  pendant 11 j. en contact avec le sang, la vitesse de propagation est sensiblement doublée.

La vitesse de déplacement n'a pas été mesurée.

2<sup>o</sup>. On enseme en tube un B. coli mobile à la surface d'un milieu de culture demi-solide. A l'aide d'une pipette Pasteur effilée, on prélève quelques gouttes au fond du tube, dès que la culture a atteint celui-ci. On l'ensemence aussitôt sur un nouveau milieu de culture demi-solide, on répète plusieurs fois cette opération. Après chaque passage on mesure la vitesse de déplacement et de propagation; en général on constate une augmentation. Voici les moyennes des mesures de vitesses de déplacement:  $v_n$  après des passages in vitro en  $\mu$ /sec. Les indices 0.1, 2 . . ,  $n$  désignent le nombre de passages dans le milieu demi-solide:  $v_0 = 17.5$ ;  $v_1 = 27.7$ ;  $v_2 = 24.2$ ;  $v_3 = 23.5$ ;  $v_6 = 28.7$ ;  $v_9 = 28.2$ ;  $v_{10} = 29.6$ ;  $v_{11} = 31.8$ ;  $v_{12} = 33.9$ .

On constate qu'en partant d'une souche de vitesse moyenne  $v_0 = 17.5$   $\mu$ /sec. on obtient après le 12<sup>e</sup> passage in vitro une vitesse moyenne de déplacement  $v_{12} = 33.9$   $\mu$ /sec. valeur presque deux fois plus grande. D'autres souches de B. coli ont donné un résultat semblable.

FISCHER a observé que le passage dans le milieu demi-solide fait augmenter la vitesse de propagation. BUONOMINI <sup>1)</sup> a trouvé un accroissement de mobilité de B. coli, qui a traversé des bougies poreuses.

Ce sont les faits tels que nous les avons mis en évidence. Plusieurs interprétations peuvent être données de ce phénomène. Bornons-nous à citer l'une d'elles, plus particulièrement à l'ordre du jour: l'hypothèse que ces variations de virulence, de vitesse de propagation et de déplacement peuvent être en relation avec ce qu'on est convenu d'appeler les „mutations microbiennes”.

---

<sup>1)</sup> Lo sperimentale, 5, 608 (1934).  
Bull. Inst. Pasteur, 34, 1125 (1936).