

BULLETIN

DE LA

SOCIÉTÉ DES SCIENCES

DE NANCY

→ FONDÉE EN 1828 ←

Série IV. - Tome II



NANCY

IMPRIMERIE J. COUBÉ & FILS, 25, RUE DE LA PÉPINIÈRE

1923

MESURE DES EXCITABILITÉS NERVEUSE & MUSCULAIRE

Par ALBERT OBRÉ

Les nerfs et les muscles sont *excitables*, c'est-à-dire qu'ils entrent en activité sous l'influence d'excitants divers.

Les excitants sont :

1) MÉCANIQUES (choc, piqûre, compression, pincement).

2) CHIMIQUES (acides faibles, sels, etc.).

3) PHYSIQUES : a) *Variations brusques de température.*

b) *Électricité* (courant continu, décharges de condensateurs, courant induit). C'est l'excitant de choix, car on peut en régler, avec rigueur, l'intensité et la durée, et le produire ou le suspendre avec la plus grande facilité ; de plus, il n'y a pas à craindre de désorganisation de tissus.

Il y a deux sortes d'excitation du muscle :

1° *Excitation directe* (muscle excité directement par deux électrodes piquées sur lui) [fig. 1].

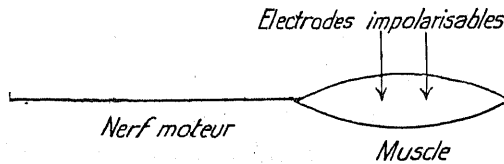


Fig. 1

2° *Excitation indirecte* (muscle excité par l'intermédiaire de son nerf moteur) [fig. 2].

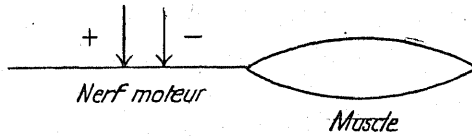


Fig. 2

L'excitation du muscle se traduit par une *secousse* ou *contraction*.

Conditions de l'excitabilité

1° *L'intégrité* du nerf et du muscle (une lésion par une forte compression rend un nerf inexcitable).

2° *L'intensité de l'excitation* :

Si l'énergie électrique employée est trop faible, le nerf n'est pas excité, il n'y a pas de contraction musculaire ; celle-ci n'apparaît que pour une valeur déterminée de cette énergie, c'est le *seuil de l'excitation*. Si on dépasse le seuil, la secousse musculaire augmente d'amplitude, mais seulement jusqu'à une valeur donnée de l'énergie (*excitation maxima*) au-delà de laquelle cette secousse reste constante.

3° *Durée de l'excitation* :

DU BOIS-REYMOND (1848) montre que le nerf moteur et son muscle sont excitables, non par le passage du courant, mais par les *variations de densité du courant* (intensité par unité de surface), en un mot, c'est la *brusquerie des variations de flux électrique qui provoque l'excitation*, cette dernière est fonction de la dérivée de l'intensité de courant $\xi = \alpha \frac{di}{dt}$. Par exemple, on a une contraction musculaire soit à la fermeture et à l'ouverture du circuit d'excitation, soit pour une augmentation ou diminution d'intensité du courant.

WEISS (1901) montre que pour avoir une contraction musculaire, il faut employer un courant d'autant plus fort que la durée de l'excitation est plus courte (quelques millièmes de seconde).

L. et M. LAPICQUE (1903-1905) établissent que la durée du passage du courant est un élément important dans l'efficacité de l'excitation électrique ; on ne peut abaisser indéfiniment l'intensité du courant constant par accroissement de la durée du passage, il y a une durée à partir de laquelle une prolongation de l'excitation est sans effet ; à cette durée se trouve donc atteinte l'intensité minima efficace, c'est la *Rhéobase* ou *Seuil fondamental* (Intensité liminaire, c'est-à-dire la plus basse possible, du courant constant à début brusque et indéfiniment prolongé).

En deçà de cette durée, l'intensité nécessaire varie avec le temps de passage du courant et augmente au fur et à mesure que ce temps devient plus court ; la rapidité de cette augmentation et la limite pour l'influence de la durée sont liés à un coefficient chronologique

que Lapicque a appelé *Chronaxie*, c'est l'inverse de la vitesse d'excitabilité, elle caractérise un tissu donné (nerveux ou musculaire).

Prenons un *exemple* :

1) Faisons passer un courant pendant un temps assez long (trois secondes) et notons l'intensité correspondante.

2) Baissons cette dernière, nous arriverons jusqu'à une certaine intensité au-dessous de laquelle le nerf ne répond ni à l'ouverture ni à la fermeture du courant, cette intensité est la *Rhéobase*.

3) Laissons cette intensité invariable, diminuons la durée de passage du courant, l'expérience montre qu'à un moment donné le courant n'excite plus le nerf, même brusquement, c'est que la durée est trop courte.

4) Conservons cette durée et augmentons l'intensité du courant, alors le nerf répond, donc il doit y avoir une relation entre l'intensité du courant et sa durée au point de vue de l'excitation : un courant trop fugace excite le nerf si on augmente son intensité.

Pour un temps t il faut I
 — t' — I'
 — t'' — I''

On a établi alors la formule simple suivante :

$$I = b \left(\frac{\tau}{t} + 1 \right)$$

I : Intensité nécessaire pour avoir le seuil ;

t : Durée de passage du courant ;

b : Rhéobase (Intensité liminaire du courant constant indéfiniment prolongé).

τ : Caractéristique de temps pour le nerf et le muscle considéré, c'est la *Chronaxie* (Lapicque 1909).

Comment est-on arrivé à cette formule ?

HOORWEG (1898) pour les décharges de condensateurs, WEISS (1901) pour le courant constant, ont trouvé la relation :

$$Q = a + bt$$

Q : Quantité d'électricité nécessaire pour avoir le seuil :

t : Durée de passage du courant ;

a et b : Deux constantes variant avec les conditions expérimentales.

tales ; mais L. et M. Lapicque ont montré que le rapport $\frac{a}{b}$ reste constant.

Dans la relation précédente : $Q = a + bt$, a est une quantité ; b est le quotient d'une quantité par un temps, donc une intensité.

D'ailleurs nous pouvons écrire :

$$\frac{Q}{t} = I = \frac{a}{t} + b \text{ (formule hyperbolique).}$$

Mettons b en facteur :

$$I = b \left(\frac{a}{b} t + 1 \right)$$

Le rapport $\frac{a}{b}$ ou τ , quotient d'une quantité par une intensité est un temps, c'est la *chronaxie*, c'est l'inverse de la vitesse d'excitabilité ; nous pouvons écrire :

$$I = b \left(\frac{\tau}{t} + 1 \right)$$

formule que nous voulions établir.

Faisons $t = \infty$, $\frac{\tau}{t} = 0$, $I = b$, nous retombons sur la *Rhéobase* (b).

Faisons $t = \tau$, $I = 2b$; donc pour chaque nerf ou muscle, nous pouvons trouver une *durée d'excitation* pour laquelle l'intensité liminaire (I) est égale à deux fois la *Rhéobase* (b), cette durée est la *Chronaxie* ; en un mot, c'est le temps pendant lequel il faut faire passer le courant pour que l'intensité liminaire soit égale à deux fois la *Rhéobase*.

Cette *chronaxie* (contrairement à la *Rhéobase*) est indépendante des contingences expérimentales (par exemple, la densité du courant) et permet de mesurer exactement les excitabilités nerveuse et musculaire.

Mesure de la Chronaxie

Cette mesure nécessitait la détermination de la loi $Q = a + bt$, mais elle a été rendue facile par L. et M. Lapicque (1910) qui ont remarqué que la *décharge d'un condensateur qui atteint le seuil sous un voltage double de la Rhéobase donne la Chronaxie en valeur absolue si on multiplie sa constante de temps par un facteur constant 0,37*,

Soient R la résistance du circuit comptant pour le temps, C_w la capacité pour laquelle on a un seuil de l'excitation avec un voltage double du *voltage rhéobasique*, nous aurons :

$$\tau = RC_w \times 0,37 \text{ (C. R. Soc. Biologie, 7 mai 1910).}$$

Exemple :

Résistance du courant : 10.000^ω (10^4).

$C_w = 0^{\text{mf}}08 = 8 \times 10^{-8}$ (car 1 mf = 10^{-6} Farad).

$$\tau = 10^4 \times 8 \times 10^{-8} \times 0,37 = 8 \times 10^{-4} \times 0,37 = 2,96 \times 10^{-4} = \underline{0^{\text{''}}0003}$$

$$\tau = \frac{3^{\text{''}}}{10.000} \text{ (normal pour le sciatique de la grenouille).}$$

Mais souvent, on n'a pas besoin de la τ en valeur absolue, on ne veut suivre que ses variations au cours d'une expérience ; comme la résistance du circuit est constante, on n'a qu'à mesurer C_w , c'est pour cela que pratiquement, la *Chronaxie* (qui est un temps) sera exprimée non en secondes, mais en *microfarads* et la *Rhéobase* (qui est une intensité) en *volts* (voltage rhéobasique). Dans l'exemple précédent, voltage rhéobasique : $0^{\text{v}}09$, chronaxie : $0^{\text{mf}}08$.

Mais ce procédé implique une *constance de la résistance* du circuit ; celle-ci est réalisée par le procédé suivant :

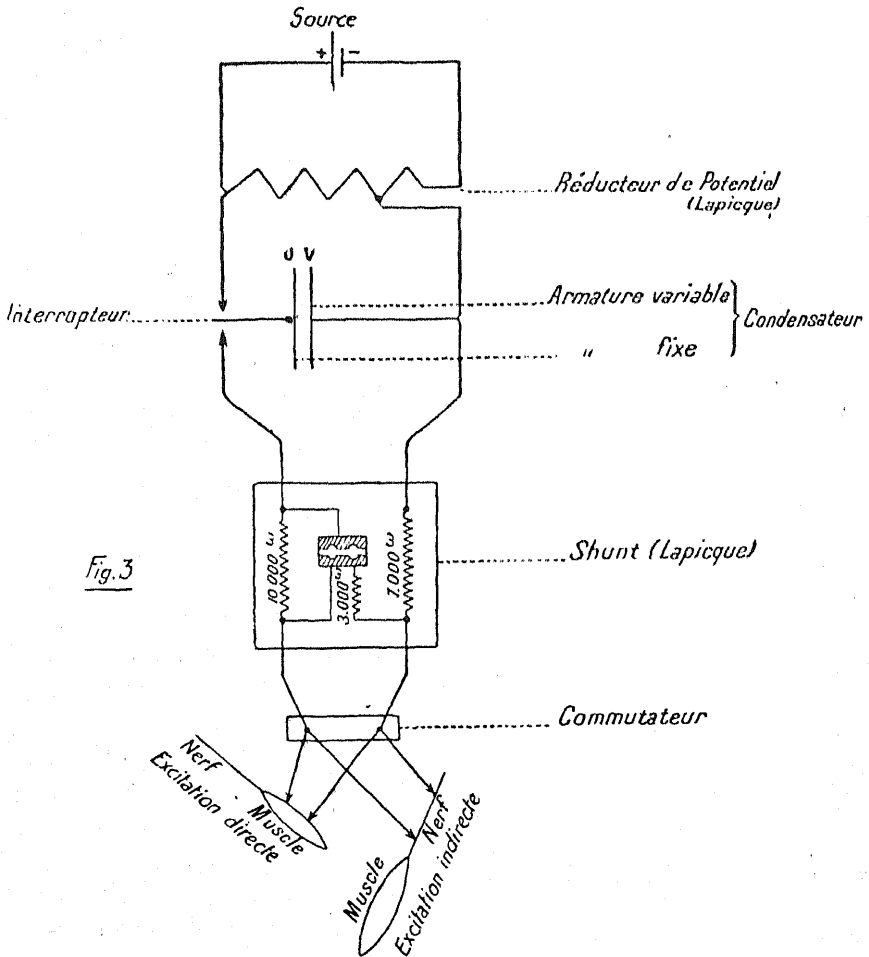
Lapicque (1911) a imaginé un *Shunt* alternativement utilisable pour le nerf et pour le muscle (*Journal de Physiologie et de Pathologie*, Janvier 1911 [fig. 3].) Pratiquement, on se sert de capacités graduées du microfarad au $\frac{1}{100}$ de microfarad ; $\frac{1}{100}$ de mf, en unité pratique d'électricité $\frac{1}{100.000.000}$; pour obtenir une constante de temps de l'ordre du $\frac{1}{10.000}$, comme on en a souvent besoin pour les tissus rapides, il faut avec cette capacité prendre une résistance de l'ordre de 10.000 ohms.

1° *Cas du muscle* (Excitation directe) :

La résistance du muscle et des électrodes impolarisables en fil d'argent chloruré est généralement voisine de 3.000 ohms ; en plus il y a environ 7 000 ohms comme résistance expérimentale, donc total de 10.000 ohms.

Si la résistance du muscle varie de 1.000 ohms, l'erreur sera de

10 % sur la constante de décharge, ce qui est négligeable quand on veut mesurer la chronaxie d'un muscle comme caractère de ce muscle.



2° Cas du nerf (Excitation indirecte).

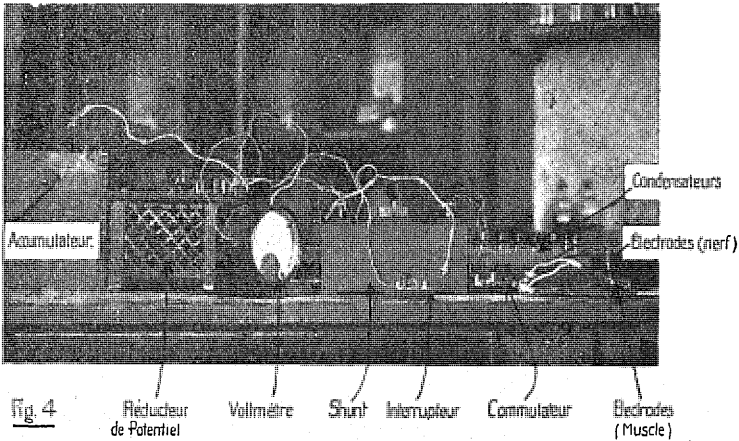
La résistance, dans ce cas, est beaucoup plus grande : 50.000 ohms environ (nerf et électrodes) ; de plus, le voltage nécessaire est plus petit que pour le muscle. On ajoute en dérivation sur le nerf une résistance de 3.000 ohms. La résistance totale du circuit est alors égale

(en ajoutant les conductivités $\frac{1}{3.000} + \frac{1}{50.000}$), à 2.800 + 7.000 ohms, on arrive à 10.000 ohms environ quelle que soit la résistance du nerf. De plus, les voltages nécessaires sont de même ordre que ceux à utiliser pour le muscle, ce qui est pratiquement commode. Enfin, la résistance du nerf variant de 10.000 ou même de 20.000 ohms, la résistance totale du circuit varie à peine entre 9.700 et 9.900.

Les résistances sont placées dans une boîte isolante dont le couvercle possède un commutateur à fiches, c'est le *Shunt*.

Il y a une résistance de 10.000 ohms dans le shunt, elles sert à mesurer la résistance du muscle.

Mesure pratique de la chronaxie (fig. 3 et 4).



On emploie le dispositif suivant :

1° Source d'électricité : accumulateur (2 volts).

2° Réducteur de potentiel $\left(\frac{1v}{10} \text{ et } \frac{1v}{100}\right)$.

3° Condensateurs ($0^{mf}01$ à 2 mf.).

4° Shunt.

5° Commutateur pour exciter alternativement le nerf et le muscle.

6° Électrodes impolarisables : 1) *pour le nerf* : excitateur en ébonite avec fils d'argent chloruré placés dans deux gouttières remplies de kaolin imprégné d'eau physiologique ;

2) *pour le muscle* : fils d'argent chloruré, effilés, piqués dans le muscle à 5-6 millimètres l'un de l'autre.

Marche de la mesure :

1° Chercher le voltage rhéobasique : noter pour cela le voltage correspondant à la secousse minimum obtenue (0^v06).

2° Doubler ce voltage (0^v12) et chercher la capacité (en microfarads) pour que le muscle se contracte, c'est la *chronaxie* (0^{mf}05).

Loi d'Ischronisme (Lapicque).

Par cette méthode, on est arrivé à la *loi d'Ischronisme*. « L'excitabilité du muscle est isochrone à celle de son nerf moteur ; ces deux tissus ont la même *chronaxie* ».

Détermination de la Concentration en ions H

dans les liquides organiques

Par ALBERT OBRÉ

I. — Chaque liquide de l'organisme (suc digestif, urine, etc.) a une *réaction caractéristique* normale liée à un état d'équilibre entre les acides, les bases et leurs sels, par exemple : l'acidité du suc gastrique, l'alcalinité du suc pancréatique. Mais dès que cet équilibre est rompu, la réaction est modifiée, c'est ce qui se passe dans les cas pathologiques : nous voyons donc l'importance de cette réaction dans les problèmes de physiologie (propriété des sucs digestifs, de l'urine, métabolisme des substances acides et alcalines, etc.).

II. — Comment déterminer cette réaction des liquides organiques ?

1° MÉTHODE TITRIMÉTRIQUE (solutions titrées acides ou alcalines). Elle ne convient pas, car, les albuminoïdes fixant des quantités différentes d'acides et de bases, on obtient, non la teneur en éléments acides ou basiques *libres* (c'est-à-dire utiles, actifs), mais en *bloc* les éléments libres et fixés ; et, d'ailleurs, pour une même teneur, suivant la composition du milieu, les résultats obtenus ne sont pas comparables. Ce qu'il faut déterminer c'est la *concentration en ions H et en ions OH*, terme que nous allons définir.

D'après la théorie de dissociation (Arrhénius, 1887), nous savons que les acides et les bases agissent par leurs *ions libres H et OH*.



Cl et Na n'interviennent pas dans le caractère acide ou alcalin, mais par contre, ce qui intervient c'est la quantité plus ou moins grande d'*ions H et OH libres*, c'est-à-dire leur *concentration*.

a) L'état *neutre* est défini par l'eau pure, elle contient autant d'ions OH que d'ions $\text{H}^2\text{O} = \text{H} + \text{OH}$.

b) Une solution *acide* contient plus d'ions H que d'ions OH.

c) Une solutions *basique* contient plus d'ions OH que d'ions H.

L'eau et les solution aqueuses, contiennent toujours des ions H,

on peut évidemment faire varier la quantité de ces ions par l'addition d'acides et de bases, mais on ne peut les faire disparaître, ceci résulte de ce que l'eau est toujours faiblement dissociée en ions H (+) et OH (—) et de ce que le produit des concentrations des deux sortes d'ions, à la même température, possède toujours la valeur, quelles que soient les autres substances dissoutes dans l'eau; la réaction de l'équilibre est :

Concentration H \times Concentration OH = K (constante de dissociation). A 18° C, ce produit est égal à $10^{-14,14}$ (Sørensen, 1909) (1); l'eau pure (dans laquelle il y a un nombre égal d'ions H et OH) renferme $10^{-7,07}$ atomes grammes d'H (+) et $10^{-7,07}$ molécules grammes de OH (—) par litre.

Si on ajoute un acide à l'eau, il est dissocié en ions H et OH, il y a augmentation des ions H, mais, pour que l'équilibre existe encore, il faut qu'il y ait diminution des ions OH; au contraire, si on ajoute une base, la quantité des ions OH augmente tandis que celle des ions H diminue.

Il suffira donc de déterminer dans une solution quelconque la *concentration des ions H* (détermination pratiquement la plus facile et la plus exacte) et en la divisant par la constante de dissociation, on aura celle des ions OH, c'est pourquoi nous définirons toujours la réaction d'un liquide acide ou alcalin par sa *concentration en ions H*. L'*unité de concentration en H* est la solution normale en ion H contenant un gramme d'hydrogène par litre (solution aqueuse). L'expérience a montré que la concentration H de l'eau pure est de 0,000.0001 par litre, donc 10.000.000 fois moins que la solution normale, c'est-à-dire $\frac{N}{10^7}$, mais N = 1 gr. par litre, d'où $\frac{1}{10^7}$; or la constante

de dissociation est $K = 10^{-14} = \frac{1}{10^{14}}$, d'où la concentration en

$\text{OH} = \frac{K}{\text{H}} = \frac{1}{10^7}$, c'est le *point de neutralité* (quantités égales d'ions H et OH).

Pour une solution décimale HCl, $\text{H} = \frac{1}{10}$

— normale NaOH, $\text{H} = \frac{1}{10^{14}}$

— décimale NaOH, $\text{H} = \frac{1}{10^{13}}$

Mais les nombres exprimant la concentration variant dans des limites considérables, sur la proposition de Sørensen (1), on l'exprime à l'aide d'un Symbole appelé P_H et qui est le *logarithme de la valeur inverse de la concentration* (ce qui revient à prendre le log. de la dilution moléculaire).

Si la concentration est égale à 10^{-n} , P_H sera n ; pour HCl en millinormal (entièrement dissocié), $P_H = 3 \left(\frac{1}{1000} = 10^{-3} \right)$, or nous savons que $H \times OH = K = 10^{-14}$, alors P_H égalera 7 dans les solutions neutres, il sera inférieur à 7 dans les solutions acides et supérieur à 7 dans les solutions alcalines.

Comment est-on arrivé à ce symbole P_H ? (2)

Soient deux groupes de deux solutions présentant la même différence $\left(\frac{1}{10} \right)$ au point de vue de la concentration H .

$$\left\{ \begin{array}{l} 1) \frac{1}{10^7} \text{ et } \frac{1}{10^8} \text{ (} 10^{-7} \text{ et } 10^{-8} \text{) — (0.000.000.1 et 0.000.000.01)} \\ 2) \frac{1}{10^4} \text{ et } \frac{1}{10^5} \text{ (} 10^{-4} \text{ et } 10^{-5} \text{) — 0.000.1 et 0.000.01} \end{array} \right.$$

Sur un graphique, ces deux groupes ne sont pas facilement représentables, car les deux concentrations du groupe (1) étant 1000 fois plus petites que celles du groupe (2), n'occuperont que des espaces trop petits et il ne sera pas aisé de voir que les différences prises deux à deux sont les mêmes. Par contre, cela sera facile, si nous remplaçons les concentrations par leurs exposants 7 et 8, 4 et 5; ces exposants varient en raison inverse de la concentration, ou bien « l'inverse de la concentration est proportionnel à l'exposant » nous aurons

$$\left\{ \begin{array}{l} 10^4 \quad 10^5 \quad 10^6 \quad 10^7 \quad 10^8 \quad \text{Progression géométrique (10)} \\ 4 \quad 5 \quad 6 \quad 7 \quad 8 \quad \text{— arithmétique (1)} \end{array} \right.$$

donc l'exposant est le logarithme de l'inverse de la concentration H ,

$$C' \text{ est } P_H = \log. \frac{1}{H}$$

$$a) \text{ Si } H = 10^{-n} = \frac{1}{10^n}, P_H = n$$

$$b) \text{ Si } H = p \times 10^{-n}, \text{ on additionne le log. de } p \text{ à } -n$$

$$\text{Ex. : } H = 2 \times 10^{-7}$$

$$\text{Log. } 2 = 0,3, \text{ on a } (-7) + 0,3 = -6,7 = P_H \text{ } 6,7.$$

c) Règle pratique pour avoir PH à partir de H : « Les parties entières sont égales à la valeur de l'exposant de 10 diminué de 1 et la partie décimale s'obtient par la différence entre la partie entière de H et le nombre 8 ».

Ex. : $H = 5 \times 10^{-9}$, PH = 8,3 (approximativement).

d) Le calcul montre que si la concentration H est doublée ou diminuée de moitié, l'exposant négatif des ions H sera diminué ou augmenté de 0,3. Une solution PH = 7,3 a une concentration H double de celle d'une solution PH = 7,8. (De même, PH = 3 représente une concentration H, dix fois plus forte que PH = 4) (3).

III. — Détermination de PH.

Il y a deux méthodes : la *méthode électrométrique* et la *méthode colorimétrique*.

1° MÉTHODE ÉLECTROMÉTRIQUE.

Elle est précise, mais malheureusement peu pratique, longue et complexe; elle repose sur la mesure de la différence de potentiel entre une électrode d'hydrogène (Sørensen; Hildebrandt) et la solution C_x contenant les ions. L'électrode d'hydrogène est une lame de platine recouverte de noir de platine et saturée d'hydrogène à la pression atmosphérique; le platine sert d'intermédiaire pour prendre l'état électrique de la lame fictive d'hydrogène, il est d'autant plus négatif par rapport à la solution que la concentration en ions H (+) est plus faible.

Nous savons, en effet, que si on met en relation deux électrodes hydrogène plongeant dans des électrolytes de concentrations différentes : C et C_x , on a une véritable pile de concentration et on constate une f.é.m. qui ne dépend que du quotient des concentrations C et C_x des ions H, et on vérifie la relation ordinaire :

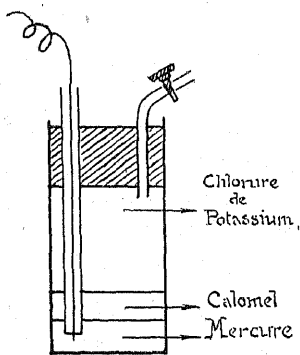


Fig-1

$E = 1985 \cdot 10^{-4} T \log. \frac{C}{C_x}$ (T, étant la température absolue); et si la solution C est normale :

$E = 1985 \cdot 10^{-4} T \log. \frac{1}{C_x}$, et si, *par définition*, nous admettons que la différence de potentiel entre une électrode à hydrogène à la pression atmosphérique et une solution normale par rapport à l'ion H est nulle, c'est la valeur de la différence de potentiel de l'électrode à hydrogène dans la solution C_x .

Dans la pratique, on utilise une *électrode auxiliaire* au mercure calomel (fig. 1), baignée par une solution KCl, d'où les différences de potentiel suivantes :

E' } entre l'électrode au calomel (+) et l'électrode normale à H.
 E'' } entre l'électrode normale à H et l'électrode à H de C_x , et on mesure expérimentalement la somme :

$$E = E' + E''$$

$$\text{d'où } E'' = E - E'$$

E' est connu et se trouve dans une table, d'où :

$$E'' = 1985 \cdot 10^{-4} T \log. \frac{1}{C_x} = E - E'$$

$$\log. \frac{1}{C_x} = \frac{E - E'}{1985 \cdot 10^{-4} T} = \frac{E - E'}{0,1985 T}$$

Or, nous savons, *par définition*, que $\log. \frac{1}{C_x}$ n'est autre que PH (log. de l'inverse de la concentration H) d'où :

$$P_H = \frac{E - E'}{0,1985 T}, \quad E \text{ et } E' \text{ exprimés en millivolts (à } 18^\circ \text{ C. } E' = 250,3 ; 0,1985 T = 57,7).$$

2) MÉTHODE COLORIMÉTRIQUE.

Cette méthode facile, pratique et utilisée pour les recherches de physiologie, a été découverte par *Sørensen* (1909) (1), puis développée et adoptée aux recherches hydrographiques par *Sørensen et Palitzsch* (1910) (4).

Elle est basée sur la propriété qu'ont des liquides spéciaux appelés *Indicateurs*, de virer quand on change la concentration des ions H.

« Un indicateur est une substance qui subit un changement profond de constitution, accompagné d'un changement de coloration, par la variation de concentration des ions H dans le milieu où elle est dissoute » (3).

Principe de la méthode.

- 1) Colorer le liquide à concentration H inconnue (C_x) avec des indicateurs.
- 2) Colorer de même des liqueurs-types (étalons) dont le PH est connu (par la méthode électrométrique) et voisin du PH supposé du liquide à titrer.
- 3) Comparer les teintes et chercher la liqueur étalon ayant la même couleur, c'est-à-dire le même PH que le liquide à examiner.

A) Liqueurs-Types (Étalons).

Ce sont des solutions de corps simples que l'on trouve facilement dans le commerce à l'état chimiquement pur ; on a déterminé la concentration de ces solutions en ions H par la méthode électrométrique.

Ces solutions doivent avoir un PH constant malgré le gaz carbonique de l'air et l'alcali du verre employé d'où la notion de *substances tampons* : soit un mélange d'acide acétique avec un peu de soude, ajoutons soit de la soudé, soit de l'acide chlorhydrique, on constate que le PH varie beaucoup moins que si on ajoutait la base et l'acide à de l'eau pure, on dit que « l'acide acétique agit comme une sorte de tampon » car il s'oppose aux variations de PH (mais il ne les empêche pas complètement).

La puissance de l'action du tampon (pour chaque acide et pour chaque base) présente un maximum coïncidant avec un PH correspondant au log. de la valeur inverse de la constante de dissociation $\left(\frac{1}{K}\right)$.

Les carbonates, bicarbonates, phosphates, les protéines mélangées avec leurs produits de décomposition, jouent le rôle de tampon, ils s'opposent aux variations de PH.

Les liquides étalons ont été décrits par *Sørensen* (1909), *Sørensen* et *Palitzsch* (1910, mélanges dissous de phosphate primaire et secondaire ; mélanges de borate et d'acide chlorhydrique) ; par *Palitzsch* (1916, mélanges de borate et acide borique pour l'eau de mer dont les PH varient entre 9,24 et 6,77) ; par *Clark et Lubs* (1917) (5).

Les solutions sont toujours faites dans de l'eau distillée débarrassée d'air par ébullition.

1) PH compris entre 4 et 10 (Clark et Lubs) (de 0,2 en 0,2).

- a) de 4 à 2,2 : mélanges de $\text{KCl } \frac{\text{N}}{5}$ et $\text{HCl } \frac{\text{N}}{5}$,
- b) de 2,2 à 3,8 mélanges de phtalate acide de $\text{K } \frac{\text{N}}{5}$ et $\text{HCl } \frac{\text{N}}{5}$,
- c) de 4 à 6,2 : mélanges de phtalate acide de $\text{K } \frac{\text{N}}{5}$ et $\text{Na OH } \frac{\text{N}}{5}$,
- d) de 5,8 à 8 : mélanges de phosphate acide de $\text{K } \frac{\text{N}}{5}$ et $\text{Na OH } \frac{\text{N}}{5}$,
- e) de 7,8 à 10 : mélanges d'acide borique $\frac{\text{N}}{5}$ $\text{KCl } \frac{\text{N}}{5}$ et $\text{Na OH } \frac{\text{N}}{5}$.

Tous les mélanges précédents sont évidemment en proportions variables suivant les PH; puis ensuite complétés à 200 cm³ avec de l'eau.

2) PH compris entre 6,6 et 8 (Sørensen).

C'est le cas des liquides organiques et des milieux de culture « ajustés » à un PH déterminé. Il y a deux formules :

a) Mélanges de phosphates $\left(\text{PO}^4 \text{H Na}^2, \text{PO}^4 \text{H K}^2 \text{ à } \frac{\text{N}}{15}\right)$, pour des intervalles de 0,1 en 0,1.

b) Mélanges de phosphate $\left(\text{PO}^4 \text{H}^2 \text{K à } \frac{\text{N}}{5}\right)$ et de soude $\left(\text{Na OH à } \frac{\text{N}}{10}\right)$ pour des intervalles de 0,2 en 0,2.

Ces mélanges, en proportions variables, sont ensuite amenés à 100 cm³ avec de l'eau.

B) Indicateurs.

Nous savons qu'ils présentent des colorations différentes suivant la concentration en ions H des liquides auxquels il sont ajoutés.

Ex. : une solution de rouge de phénol (phénolsulfonephtaléine) est jaune pour les PH < 6,8, rouge pour les PH > 8,4 ; entre 6,8 et 8,4 elle présente des colorations intermédiaires entre le jaune et le rouge, colorations qui permettent de déterminer la concentration H d'un liquide dont le PH est compris entre 6,8 et 8,4 ; cette gamme de couleurs intermédiaires forme la *zone utilisable* de l'indicateur.

Sørensen (1908-1909), Clark et Lubs (1917) ont trouvé des indicateurs pour les PH compris entre 1 et 10, seules valeurs pratiquement utilisables.

Indicateurs de Clark et Lubs.

Bleu de Thymol	PH = 1,2 rouge	PH = 2,8 jaune
Bleu de bromophénol	2,8 jaune	4,6 bleu
Rouge de méthyle	4,4 rouge	6,0 jaune
Rouge de propyle	4,8 rouge	6,4 jaune
Pourpre de bromocrésol	5,2 jaune	6,8 pourpre
Bromothymol bleu	6,0 jaune	7,6 bleu
Rouge de phénol	6,8 jaune	8,4 rouge
Rouge de crésol	7,2 jaune	8,8 rouge
Bleu de Thymol	8,0 jaune	9,6 bleu
Crésolphtaléine	8,2 incolore	9,8 rouge

Nous constatons que les zones utilisables pour les différents indicateurs chevauchent les unes sur les autres, ce qui permet de ne laisser aucun point douteux sans contrôle.

La plupart des corps précédents sont des sulfonephthaléines, le rouge de méthyle et le rouge de propyle sont des colorants azoïques et la crésolphthaléine (ortho) est la phtaléine de l'anhydride phtalique.

Préparation des solutions mères d'indicateurs

On en fait des solutions à 0,02 % dans l'eau distillée stérilisée sauf pour la crésolphthaléine (2 % dans l'alcool).

D'autre part, on se sert toujours de verre neutre, ne cédant pas d'alcali à l'eau.

Mesure pratique de PH.

- 1) Faire un petit essai préalable pour voir grossièrement l'ordre de grandeur du PH de la solution à examiner ;
- 2) Prendre les tubes étalons dont les PH se trouvent de part et d'autre du PH supposé ;
- 3) Ajouter à tous les tubes (solution inconnue et liquide étalon) 5 à 10 gouttes de l'indicateur convenable ;
- 4) Comparer les teintes ; et la concentration du tube étalon dont la coloration est la même que celle du liquide examiné, donnera le PH cherché.

Les expériences doivent être faites à température constante.

1) *Cas d'un liquide légèrement coloré.*

On place devant le liquide étalon un tube avec du liquide à examiner sans indicateur, et derrière le liquide à examiner avec l'indicateur, on met un tube plein d'eau, de cette façon la lumière suit le même chemin dans les deux cas.

2) *Cas d'un liquide très coloré.*

Cela ne présente pas d'inconvénient, car on peut diluer ce liquide dans cinq fois son volume d'eau sans changer la valeur de PH. (Présence de substances tampons dans les liquides organiques).

IV. — **Modifications à la méthode colorimétrique.**

A) On peut se former une échelle approximative des teintes de comparaison, même si on n'a pas de liquides étalons, on se base sur ce fait que pour un indicateur, l'intervalle entre les points de virage est égal à 1,6.

(Ex. : 6,8 et 8,4 pour le rouge de phénol), et en divisant par 8 on obtient 8 valeurs de PH différentes entre elles de 0,2. (Médalia, 1920).

B) L'emploi des liqueurs types n'est pas indispensable pour *Kurt Buch* qui utilise une méthode spectrographique spéciale (spectro-photomètre de König-Martens).

C) *Gillepsie* (1920) (6) a imaginé une méthode très simple sans utiliser les liqueurs étalons, et en ne se servant que des indicateurs.

Prenons un exemple :

Le rouge de méthyle a comme points de virage PH = 4,4 (rouge) et PH = 6,0 (jaune) et entre ces deux PH nous avons une gamme de couleurs intermédiaires (orangé).

1) Préparons une solution étendue de l'indicateur acide suffisante pour avoir la teinte rouge très nette, et de même pour une solution alcaline.

2) Disposons deux rangées de dix tubes à essai (même verre, même diamètre, même teinte) dans lesquels nous versons 5 cm³ d'eau.

3) Dans la première rangée, mettons une goutte d'indicateur convenable (après essai préalable), dans le premier tube, puis deux gouttes dans le deuxième, etc., jusqu'à neuf gouttes.

Dans la deuxième rangée, faisons l'inverse, commençons par neuf gouttes, puis huit, jusqu'à une goutte.

4) Dans la première rangée, mettons une goutte d'acide et dans la deuxième une goutte d'alcali, nous aurons la disposition suivante :

Nombre de gouttes d'indicateur $\left\{ \begin{array}{l} 1^{\text{re}} \text{ rangée. } 1 \ 2 \ 3 \ 4 \ 5 \ 6 \ 7 \ 8 \ 9 \ + \ 1 \text{ goutte d'acide.} \\ 2^{\text{e}} \text{ rangée. } 9 \ 8 \ 7 \ 6 \ 5 \ 4 \ 3 \ 2 \ 1 \ + \ 1 \text{ goutte d'alcali.} \end{array} \right.$

5) Regardons les tubes vis-à-vis, traversés par la lumière, nous observons une gamme de teintes allant du rouge au jaune et correspondant à dix gouttes de réactif.

6) Dans un tube, mettons 5 cm³ de liqueur à concentration H inconnue, puis dix gouttes d'indicateurs; comparons avec les tubes précédents (eu ayant soin de placer derrière un tube plein d'eau pour que la lumière traverse les mêmes quantités de liquide) et nous aurons le PH cherché en consultant le tableau suivant : (7):

NOMBRE de GOUTTES ALCALINES ACTIVES		1/9	2/8	3/7	4/6	5/5	6/4	7/3	8/2	9/1
PHI. Bleu de Bromophénol.		3,1	3,5	3,7	3,9	4,1	4,1	4,3	4,5	5,0
Rouge de Méthyle.		4,05	4,4	4,6	4,8	5,0	5,2	5,4	5,6	5,95
Pourpre de Bromocrésol.		3,3	3,7	3,9	4,1	4,3	4,5	4,7	4,9	5,2
Bleu de Bromothymol.		6,15	6,5	6,7	6,9	7,1	7,3	7,5	7,7	8,05
Rouge de Phénol.		6,75	7,1	7,3	7,5	7,7	7,9	8,1	8,3	8,65
Rouge de Crésol.		7,15	7,5	7,7	7,9	8,1	8,3	8,5	8,7	9,05
Bleu de Thymol.		7,85	8,2	8,4	8,6	8,8	9	9,2	9,4	9,75

REMARQUES.

1) Pour mieux comparer les tubes, on se sert d'un « comparateur » (Walpole), boîte en bois noircie intérieurement, percée de deux rangées de trous et d'une rangée perpendiculaire à ces deux dernières, ce qui permet de voir les tubes de côté, au-dessus d'une surface blanche réfléchissant la lumière (papier blanc).

2) La méthode précédente est précise, à condition que les gouttes de réactifs soient égales, d'où la nécessité de tenir le compte-gouttes vertical.

D) *Michaëlis* (1920) (8,9).

Il utilise un procédé dont le principe est voisin de celui de Gillespie. On colore légèrement la solution à examiner : (Ex. de l'eau de mer) avec une quantité déterminée d'indicateurs, puis on colore un volume déterminé de solution d'alcali caustique avec une quantité d'indicateurs, telle qu'on ait la même teinte; on divise cette quantité par la première, on a F (degré de coloration)

qui sert à obtenir \bar{S} ; de plus, des tables donnent PK (variable avec la température et les différents indicateurs) et on a la relation : $PH = PK + S$.

E) *Gaarder* (1916-17) (10).

Il propose de se servir de la concentration OH (chiffre hydroxyle).

V. — Applications et résultats de la Méthode Colorimétrique.

1) *Concentration en ions H de l'eau des différentes mers.* (Palitzsch, 190-12, Buch, 1917, Gaarder, 1917, etc.).

La valeur la plus basse observée pour PH est 7,93 (sauf pour la Mer Noire $PH = 7,26$, richesse en H^2S) et la plus élevée est de 8,33, donc nous constatons une variation pas très grande, mais faible à observer. D'autre part, PH diminue avec la profondeur : Ex. : Mer du Nord (à l'Est de l'archipel des Färöer) à la surface $PH = 8,13$ et à 700 mètres, $PH = 7,98$.

Des auteurs ont également étudié la relation, entre l'alcalinité PH et le gaz carbonique de l'eau de mer.

2) *Influence de la réaction du milieu sur les diastases et le développement des bactéries et levures.*

Le bromocrésol pourpre remplace le tournesol dans les cultures sur lait (Clark et Lubs).

3) *PH des liquides organiques.*

Urine : PH varie entre 4,8 et 7,4.

On peut étudier la fonction rénale en injectant une solution isotonique additionnée de 0,6 % de rouge de phénol, neutralisée vers l'alcalinité et ensuite on mesure l'élimination par la méthode colorimétrique (Widal).

Sang : $PH = 7,4$ en moyenne (voisin de la neutralité).

Suc gastrique : S'il est mélangé de salive, on a $1,5 \leq PH \leq 1,7$ et dans le cas contraire : $1,03 \leq PH \leq 1,2$. La pepsine a son maximum d'action pour $1,5 \leq PH \leq 1,8$.

4) *Application à la titrimétrie.*

a) Dosage d'un acide fort par une base forte ; d'une base forte par un acide fort (prendre un indicateur dont le point de virage est voisin de la neutralité, $PH = 7$; Ex. : bromothymol bleu, rouge de phénol).

b) Dosage d'un acide faible par une base forte (virage vers PH 9, Thymol bleu).

c) Dosage d'une base faible par un acide fort (virage vers PH 4, PH 5. Rouge de méthyle).

5) *Application de la chimie des Colloïdes* (Loeb (11), Kopaczewski (12), Duclaux (13). « Les propriétés physiques des colloïdes telles que la pression osmotique, la viscosité, le gonflement, la charge électrique, le pouvoir de fixation de substances différentes ainsi que leur stabilité dépendent de concentrations déterminées en ions H ». D'après Loeb, quand on a $\text{PH} > 4,7$, la gélatine ne peut se combiner qu'aux cations, pour $\text{PH} < 4,7$, elle ne se combine qu'avec les anions ; si $\text{PH} = 4,7$, elle ne se combine ni aux uns ni aux autres, c'est le *point isoélectrique*, point par lequel les propriétés des colloïdes passent par un minimum.

6) Enfin il est probable que les PH interviennent dans d'autres problèmes de physiologie générale (14) dans le rôle des ions dans l'excitation électrique, en plus de l'influence des sels minéraux, il y aurait à distinguer l'action des ions H et OH.

BIBLIOGRAPHIE

1. SÖRENSEN. *Bioch. Zeitsch.*, 1909.— 1910, SÖRENSEN et PALITZSCH, *C. R. Labo. Carlsberg et Bioch. Zeitsch.*, 24, p. 387.
2. BLANC et POZERSKY. *Annales de Médecine*, 1920.
3. AUGER. *Bull. Soc. Chim.*, 1921.
4. PALITZSCH. *Bull. Inst. Océanographique*, Avril 1922.
5. CLARK. *The Détermination of Hydrogen ions*, 1920, Baltimore.
6. GILLESPIE, 1920. *Journ. Amér. Chem. Soc.*, 42, p. 742. *And Soil Science*, 9, p. 113
7. *Manipulations*. Institut. Chimique, Nancy.
8. MICHAELIS, 1920. *Deutsch. Méd. Wochenschr.*, 46, p. 1238.
9. MICHAELIS et GÜYEMANT, 1920, *Biochem. Zeitsch.*, 109, p. 163.
10. GAARDER, 1917. *Bergens Museums Aarbog.*— 1916-17, *Naturv. Rakke Nr.* 3.
11. LOEB. *Rev. Gén. Sciences*, 23 avril 1921.
12. KOPACZEWSKI. *Rev. Gén. Sciences*, 15 novembre 1922.
13. DUCLAUX. *Les Colloïdes*, 1922.
14. LAPICQUE et KERGMARD. *C. R. Soc. Biologie*, 28 avril 1923.

Note sur *Pleuroschisma trilobatum*, Dum.

par G. GARDET

Pleuroschisma trilobatum Dum. (*Mastigobryum trilobatum* Nees), hépatique essentiellement silicicole, existe plus ou moins disséminée, sur la terre et dans les anfractuosités des rochers, dans les lieux frais des forêts de tous les terrains siliceux de nos montagnes; elle est même commune dans les zones silvatiques moyenne et supérieure des Vosges. (Boulay). Néanmoins, malgré sa fréquence, elle n'a jamais été rencontrée munie de capsules en France et en Angleterre.

MM. Henry, d'Épinal, Louis Hillier, de Besançon, G. Charrier, de la Vendée, Madiot, de Jussey et l'infatigable explorateur qu'est M. Dismier ne l'ont jamais recueillie fructifiée; tous les échantillons qu'ils possèdent sont stériles, comme le sont également ceux que possède le Muséum d'Histoire naturelle (1).

La collection Coppey, conservée à la Faculté des Sciences de Nancy, contient quatre échantillons de *P. trilobatum*, dont trois recueillis par le regretté botaniste à Melisey (n° 201), à Gérardmer (n° 203) et à Val-et-Châtillon (n° 332); quant au quatrième (n° 422), stérile également, il provient de l'herbier Martin.

L'abbé Boulay (*Muscinées de la France*, 2^e partie : *Hépatiques*, Paris 1904, p. 49), signale que « cette espèce n'a pas encore été trouvée munie de capsules en France, mais seulement avec des fleurs mâles et femelles. Elle semble, ajoute-t-il, assez fréquemment fertile sur différents points des Alpes autrichiennes, de la Bohême, etc.. (V. Heeg, Schiffner) ».

Husnot (*Hepaticologia gallica*, 2^e édition, Cahen, 1922, p. 54), fait simplement remarquer que *P. trilobatum* fructifie très rarement, mais sans indiquer de localités.

Macvicar (Semers M.) (*The Student's Handbook of British Hepatics*. Eastborne, 1912, p. 317), signale « que la plante ♂ est commune en Grande-Bretagne, que la fleur ♂ est beaucoup moins, mais que le fruit n'a pas été trouvé dans cette contrée » (2).

(1) Renseignement dû à l'obligeance de M. Dismier (*in lit.*, 1^{er} Février).

(2) Dismier, *in lit.*, 1^{er} Février

K. Müller (*Die Lebermoose*, 2^e volume, 1912-1916, p. 267, ou 18^e livraison) : écrit ce qui suit, « In Deutschland kenne ich. Z. B. Sporogone tragende Pflanzen aus dem Schwarzwald, aus dem Gebirgen Oberbayerns, Voralbergs und der Oberpfalz, aus dem Fichtelgebirge und Böhmerwald ».

Or, le dimanche 15 octobre 1922, explorant les flancs N. et E. de la cote 619, au S.-O. de Raon-l'Étape (Vosges) (1), frappé de l'extraordinaire abondance de cette belle hépatique (2) qui, en cette station exceptionnelle, devient muscinée dominante, au même titre que les vulgaires *Hylocomium loreum*, *H. splendens*, *Polytrichum formosum*, *Dicranella heteromalla*, *Sphagnum acutifolium*, j'examinai un peu plus attentivement les gazons lâches, vert sombre, dressés couvrant le sol de la forêt sous les grands pins *clairsemés*, et, sans trop m'étonner sur le moment, je pus observer et recueillir en plusieurs stations fort éloignées les unes des autres, mais toutes situées à mi-pente du versant Est et Est-Sud-Est, aux abords immédiats de sentier conduisant à la roche Appel, **quelques tiges isolées bien fructifiées**.

Malheureusement, le soir du même jour, furetant sur la rive droite de la Meurthe, le bryologue récent céda le pas au passionné géologue et les échantillons minéralogiques recueillis dans la carrière de Trapp de la Compagnie Belge (Exploitation Ramus) malencontreusement mis en contact du lot d'hépatiques, meurtrirent une partie de la récolte dont je ne pus sauver, quelques jours plus tard et seulement après avoir parcouru Boulay, que quatre rameaux parfaitement fructifiés (*Mon exsiccata*, n° 187 H.).

La trouvaille mérite cependant d'être signalée puisque nouveauté française.

A vrai dire, *P. trilobatum* doit pouvoir se recontrer muni de capsules, plus fréquemment qu'on ne le suppose, *là où il existe abondamment*, — Raon-l'Étape est une station merveilleuse comme je n'en ai vu nulle part, jusqu'alors, dans les Vosges septentrionales, — et pour peu que les conditions atmosphériques lui soient favorables :

(1) Excursion que m'avait conseillée M. Moreau, maître de Conférences à la Faculté et d'où M. Liou Tchen Ngo, étudiant étranger, m'avait rapporté, en été, quelques muscinées intéressantes.

(2) Il s'agit ici de la VAR. GRANDE NEES.

automne doux et humide. Mais la *fréquence* de cette *robuste*, hépatique — (que n'a-t-elle les proportions minuscules d'un *Cephaloziella* !) — dans les terrains siliceux de nos montagnes, fait que le botaniste n'y prête qu'un médiocre intérêt ! Pour la retrouver en cet état, j'attire l'attention des bryologues sur ce fait qu'il est nécessaire d'examiner attentivement de grandes surfaces : c'est en écartant doucement les tiges et en scrutant méticuleusement les gazons qu'il sera possible, en automne ce me semble, de distinguer parfois de minuscules capsules fugaces, supportées par un maigre pédicelle blanchâtre, peu visible, très fragile, qu'un examen superficiel n'aurait pas permis d'entrevoir.

.....
Description de la fructification de P. trilobatum, Texte de Boulay : mes observations sont mentionnées en italique.

Rameau fertile radicaux, *de longueur normale* ;

Archégonies terminant un rameau *très court*, né du côté ventral de la tige, *vers son milieu* ; 6-8 folioles médiocres laciniées-frangées sur le contour, à *grandes cellules hexagones-rectangulaires* (long. 50-70 μ , larg. 20-30 μ), *incolores*.

Périanthe oblong, allongé (long. 6-7 m/m , épais. 1 m/m 1/2), trigone dès le milieu, atténué, trilobé à l'orifice, lobules entiers.

Pédicelle très long, 6-8 cm (2-4 cm dans ma collection), très grêle, (1/2 m/m d'épaisseur), *hyalin, fragile, formé de grandes cellules rectangulaires* (long. de 100-200 μ , larg. de 50-70 μ).

Capsule oblongue (long. 1 m/m 1/4, larg. 0 m/m 6), *émergeant à peine des gazons*, à parois épaisses ; 4 valves ; *élatères caducs* (diamètre 10 μ , 14-15 fois plus longs que larges) bruns à 2 spires.

Spores brunes, de 20 μ . de diamètre en moyenne (10-14 μ . d'après K. Muller) *finement ponctuées*.

Nancy, le 10 Février 1923.



Recherches histologiques et cytologiques sur la Panachure dans le genre **Abutilon**

Par M. SOU JOU TSIUEN

On sait qu'il y a deux sortes principales de panachure; l'une forme sur les feuilles des taches irrégulières ou des lignes de couleur jaune, c'est la panachure jaune; l'autre y dessine des plages ou des stries incolores, c'est la panachure blanche. La panachure jaune est transmissible par la greffe, la panachure blanche au contraire ne se montre pas contagieuse. Aussi, il est vraisemblable que ces deux sortes de panachure sont essentiellement différentes l'une de l'autre. C'est à cette conclusion que nous conduit l'étude histo-cytologique de la panachure, que nous avons faite dans deux formes du genre *Abutilon*.

L'*Abutilon Thompsoni* nous offre un exemple de panachure jaune. Une coupe longitudinale dans un bourgeon traité selon la méthode IV de Regaud permet d'étudier l'histoire d'une jeune feuille. Elle renferme dans ses diverses cellules des éléments granuleux et des filaments onduleux que nous rapportons aux formes décrites respectivement sous les noms de mitochondries et de chondriocontes. Les importantes recherches de Schimper, puis de Guilliermond et de ses élèves ont montré que de tels éléments se trouvent à l'origine des plastes. C'est effectivement le cas ici. Tandis que les mitochondries granuleuses grandissent un peu, les chondriocontes grandissent aussi et se fragmentent, puis se transforment en plastes. Cette modification atteint les chondriocontes de toutes les parties de la feuille, aussi bien des parties centrales qui deviendront le tissu palissadique et le tissu lacuneux que des couches superficielles qui formeront l'épiderme.

La même évolution histologique et cytologique atteint les diverses parties de la même feuille, celles qui formeront plus tard les plages jaunes aussi bien que celles qui constitueront les parties vertes; la même structure histologique et cytologique se retrouve dans toute l'étendue de la feuille adulte; en particulier, les parties jaunes, comme

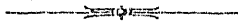
les parties vertes, renferment des plastes ; elles ne diffèrent les unes des autres que par la couleur qu'offrent, sur le vivant, leurs plastes, jaunes dans le premier cas, verts dans le second.

Tout au contraire, dans le cas de la panachure blanche que nous avons étudiée chez l'*Abutilon Sawitzii*, les régions vertes et les régions incolores des feuilles diffèrent profondément par leurs caractères histologiques et leurs caractères cytologiques.

L'évolution des régions des jeunes feuilles qui formeront les parties vertes se fait exactement comme dans le cas précédent ; les épidermes acquièrent des plastes, les assises sous-jacentes fournissent une couche hypodermique, un tissu palissadique et un tissu lacuneux bien développés et pourvus des plastes. Tous ces plastes, issus des chondriocotes, évoluent en chloroplastes.

Au contraire, dans les régions que formeront les plages incolores, il ne se fait ni tissu en palissade, ni tissu lacuneux ; la feuille demeure mince, et ses cellules restent semblables les unes aux autres. Les chondriocotes restent pour la plupart à l'état de chondriocotes, auprès des mitochondries granuleuses elles-mêmes non modifiées. Seuls quelques chondriocotes, surtout dans les épidermes, se transforment en plastes qui verdissent légèrement.

Ainsi, tandis que la panachure jaune respecte la structure anatomique générale de la feuille de l'*Abutilon Thompsoni*, tandis qu'elle permet la formation des plastes et qu'elle n'exerce son influence que sur la nature des pigments fabriqués par eux, la panachure blanche entraîne, chez l'*Abutilon Sawitzii*, des modifications plus importantes ; la structure histologique est changée, les tissus restent indifférenciés et leur faible développement se traduit par la minceur de la feuille ; l'évolution des éléments est profondément altérée ; les chondriocotes ne se transforment pas en général en plastes. Cette forme de panachure qui arrête le développement des tissus à un stade précoce de leur évolution, qui maintient les plastes à l'état de primordia, constitue pour les *Abutilon* une affection bien plus profonde que la panachure jaune qui, sans s'opposer à la différenciation histologique, sans empêcher la formation des plastes, exerce seulement sur eux une influence tardive, agissant seulement sur la nature des pigments qu'ils élaborent.



NOTE

sur l'Interprétation Graphique des Bilans Thermiques

Par J. PELTIER, Ingénieur I. E. N.

§ I

Chaudières Industrielles

1. Notations.

Nous désignerons par :

- π_s , le *pouvoir calorifique supérieur* et
 - π_i , le *pouvoir calorifique inférieur* sous pression constante du *combustible sec* ;
 - π_p , l'une ou l'autre des deux quantités précédentes, sans préciser ;
 - Q_e , le nombre de calories cédées à l'eau de la chaudière ;
 - Q_c , l'ensemble des pertes déterminées de la chauffe ;
 - Q_t , l'ensemble des pertes déterminées de la transmission ;
 - Q_i , le terme indéterminé du bilan thermique ;
- Ces quantités étant *rapportées à la dépense de 1 kilogramme de combustible sec*.

D'autres notations pourront être introduites ultérieurement, au fur et à mesure des besoins.

2. Considérations brèves sur les chaudières industrielles.

Une chaudière industrielle peut, en principe, être comparée à un calorimètre très imparfait à circulation d'eau. Deux parties essentielles et bien distinctes peuvent être considérées :

- a) *Le système producteur de calories.*
- b) *Le système récepteur de calories et producteur de vapeur.*

3. Les pertes dans une chaudière réelle peuvent, avantagement, être groupées comme suit :

A) PERTES DE LA CHAUFFE (mauvaise utilisation du combustible), se subdivisant en :

- a) *Pertes par combustion incomplète* (relativement aux résidus gazeux).

b) *Pertes par imbrûlés* (relativement aux résidus solides).

B) PERTES DE LA TRANSMISSION (mauvaise utilisation des calories produites), se subdivisant en :

a) *Pertes par chaleur sensible des résidus de la combustion.*

b) *Pertes par rayonnement, convection, conductibilité, etc...*

Pratiquement, dans l'établissement d'un bilan thermique de chaudière, on ne peut pas déterminer exactement toutes les pertes; d'où la nécessité de « boucler le bilan » au moyen d'un terme complémentaire Q_i inscrit au passif et tel que :

$$\begin{aligned} Q_i &= \pi_p - Q_e - \text{somme de pertes déterminées;} \\ &= \pi_p - (Q_e + Q_c + Q_t); \end{aligned}$$

Il va sans dire que plus un bilan est complet et précis, plus le terme Q_i décroît et se rapproche de zéro.

4. *La qualité de la chaudière, au point de vue économique, peut être caractérisée de la façon suivante par son rendement :*

$$\eta = \frac{Q_e}{\pi_p};$$

c'est-à-dire que l'on pourra distinguer :

a) *Le rendement réel* $\eta_r = \frac{Q_e}{\pi_s};$

b) *Le rendement industriel*. $\eta_i = \frac{Q_e}{\pi_i};$

c'est ce dernier nombre qui est généralement déclaré par le constructeur. Il est plus élevé que le premier et l'on a :

$$\frac{\eta_i}{\eta_r} = \frac{\pi_s}{\pi_i};$$

rapport d'autant plus différent de l'unité que le combustible est plus riche en hydrogène.

5. On peut encore considérer les rendements partiels suivants :

a) *Rendement de la chauffe* $\eta_c \cong \frac{\pi_p - Q_c}{\pi_p};$

b) *Rendement de la transmission*. $\eta_t \cong \frac{\pi_p - Q_e - Q_t}{\pi_p - Q_c};$

Si le terme indéterminé Q_i était nul, on aurait des égalités rigoureuses et le produit $\eta_c \eta_t$ ainsi calculé serait identique à η .

$$c) \text{ Rendement de la grille } \dots \dots \eta_g \approx \frac{\pi_p - Q_g}{\pi_p};$$

assez bien défini au moyen de π_p et de Q_g (perte par imbrûlés des cendres et crasses).

Le rapport de η_c à η_g caractérisera assez bien *la façon dont est conduite la chauffe*.

6. *Interprétation graphique au moyen du diagramme de Sankey.*

L'interprétation graphique habituelle est celle de Sankey (fig. 1). Les largeurs des différentes bandes sont proportionnelles aux quantités de chaleur correspondantes.

L'avantage de cette interprétation est de permettre un *tracé rapide et facile à lire* ; les inconvénients sont les suivants :

a) Un diagramme de Sankey ne peut, en principe, grouper *que les renseignements relatifs à un seul essai*.

b) Il est difficile d'y faire figurer *les très petites quantités de chaleur*, à moins de dessiner à *très grande échelle*.

§ II

7. Les conditions précédentes nous amènent à envisager *une autre interprétation graphique*, dans laquelle les différentes quantités de chaleur, seront représentées par des aires :

Nous conviendrons du nombre de calories que nous désirerons représenter au moyen de 1 centimètre carré sur le dessin. Pour éviter toute complication dans l'établissement de nos graphiques, *nous considérerons exclusivement des surfaces carrées*. Dans ces conditions, nous pourrons tracer une courbe parabolique convenable ou une échelle graduée en calories (fig. 2) qui nous donnera *directement* le nombre de calories correspondant à un carré dont on connaîtrait le côté et réciproquement.

8. *Triangle fondamental des quantités de chaleur.*

Nous conviendrons d'appeler ainsi, *ou par abréviation triangle fondamental*, le triangle rectangle ABC (fig. 3), d'hypoténuse AB, tel que le carré bâti sur AB comme côté représente π_p et celui sur AC représente Q_c calories à l'échelle adoptée.

PROPRIÉTÉS :

a) Le rendement η de la chaudière est donné par :

$$\eta = \cos^2 \alpha ;$$

α , désignant l'angle en A du triangle précédent.

b) Le carré bâti sur BC représente la somme des pertes, relativement à la dépense de 1 kilogramme de combustible sec.

9. Triangle principal des quantités de chaleur.

Nous conviendrons d'appeler ainsi, ou par abréviation *triangle principal*, un triangle AB'C' (fig. 4) semblable au précédent, de même sommet A, tel que AB' soit porté par le même support que AB et l'on ait :

$$\frac{\text{Surface AB'C'}}{\text{Surface ABC}} = K ;$$

c'est-à-dire :

$$\sqrt{K} = \text{rapport de similitude} ;$$

avec $K =$ nombre de kilogrammes de combustible sec dépensé par mètre de grille en une minute, pendant l'essai ayant permis de déterminer le rendement η .

K représente donc, en quelque sorte, l'activité de la combustion : avec le choix de une minute comme « temps-référence » K sera de l'ordre de grandeur de l'unité pour les chaudières industrielles courantes.

10. Caractéristique principale d'une chaudière.

L'expérience montre que le rendement d'une chaudière varie, à toutes autres choses égales, avec l'activité de la combustion.

Il est, dès lors, intéressant de grouper les résultats de toute une série d'essais : Pour cela, nous choisissons tout d'abord un axe X'X (fig. 5) et un point arbitraire A sur cet axe, puis fixons un point B tel que la surface du carré de côté AB représente π_p calories à l'échelle adoptée. Nous traçons alors les triangles principaux relatifs aux différents essais, ainsi que la ligne L' passant le plus près possible (*) de tous leurs sommets C'.

(*) Comme dans le tracé de toutes les courbes résultant de mesures expérimentales, on cherchera à passer aussi près que possible de tous les points obtenus.

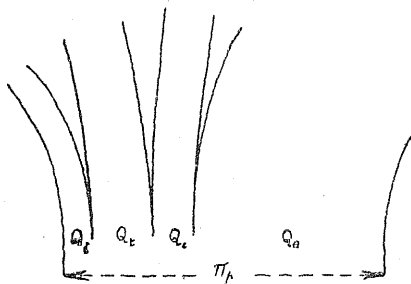


Fig. 1

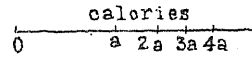


Fig. 2

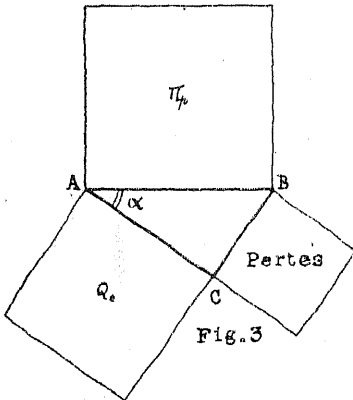


Fig. 3

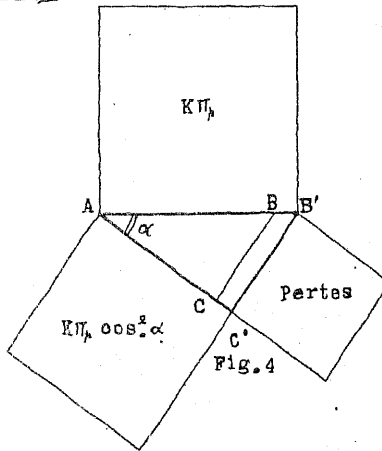


Fig. 4



Fig. 5

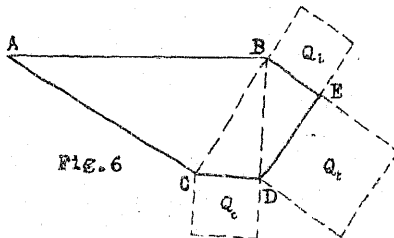


Fig. 6

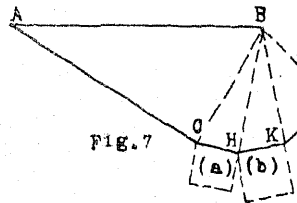


Fig. 7

PROPRIÉTÉS :

L'axe X'X et les points A et B étant donnés, la ligne L' permet, notamment, de mettre en évidence pour une activité de combustion ou de vaporisation donnée :

- a) Le rendement de la chaudière ;
- b) La quantité de chaleur cédée à l'eau par kilogramme de combustible sec dépensé ;
- c) La chaleur perdue correspondante.

C'est cette ligne L' que nous conviendrons d'appeler caractéristique principale de la chaudière considérée : elle montre la liaison qui existe entre le rendement, la combustion et la vaporisation.

11. Caractéristique principale d'une chaudière semi-multitubulaire.

Les résultats suivants proviennent d'essais effectués cette année au Laboratoire de Mécanique, avec des étudiants d'Instituts Techniques de la Faculté des Sciences.

TYPE DE LA CHAUDIÈRE ÉTUDIÉE :

Semi-multitubulaire à 1 bouilleur. Timbre $\equiv 8^{kg/cm^2}$. Alimentation par pompe indépendante.

Surface de grille $\equiv 1^{m^2}$

Surface de chauffe $\equiv 30^{m^2}$

La pression de la vapeur dans les différents essais a toujours été $7.8^{kg/cm^2}$, au manomètre étalon, et la température de l'eau d'alimentation voisine de 8 degrés centigrade.

Données relatives au combustible sec :

$$\pi_s \equiv 7.750^c$$

$$\pi_i \equiv 7.450^c$$

la teneur en carbone était de 81 %.

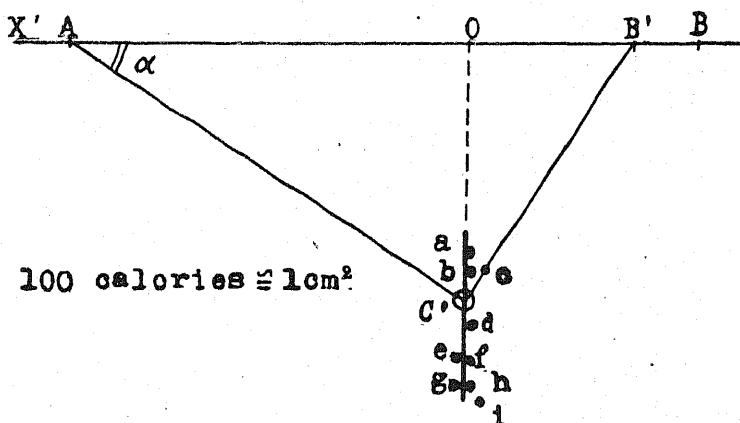
TABLEAU DES RÉSULTATS

Les différentes quantités ont été rapportées à 1m^2 de grille. Les poids sont en kilos et les quantités de chaleur en grandes calories.

Référence	Poids dépensés en 1 heure		K	Chaleur au Foyer par minute		Chaleur cédée à l'eau correspondante	RENDEMENTS (%)	
	Combustible sec	Eau vaporisée		avec $\pi_p = \pi_s$	avec $\pi_p = \pi_i$		η_r	η_i
a	39	342	0,650	5050	4850	3700	0,733	0,765
b	41	360	0,683	5300	5100	3900	0,736	0,764
c	43,8	390	0,730	5670	5450	4230	0,747	0,775
d	52,7	410	0,880	6810	6530	4440	0,652	0,678
e	60	427	1.	7750	7450	4620	0,596	0,619
f	60,5	435	1,01	7820	7520	4710	0,601	0,625
g	68,2	465	1,14	8880	8510	5020	0,567	0,590
h	69	464	1,15	8920	8590	5010	0,562	0,585
i	74,3	510	1,24	9610	9250	5310	0,570	0,595

(*) La troisième décimale est seulement donnée à titre d'indication...

12. On pourrait alors tracer deux graphiques, l'un relatif à π_s et l'autre à π_i ; pratiquement de même allure. C'est le deuxième que nous reproduisons ci-dessous :



On est alors conduit à une relation empirique de la forme :

$$(1) \quad \eta \sqrt{K} = \text{constante} ;$$

valable dans les limites de l'expérience et pour la chaudière considérée.

En effet, en assimilant la caractéristique à un segment de droite perpendiculaire à $X'X$, on a pour tout point C' situé sur ce segment :

$$AO = AC' \cos \alpha = AB' \cos^2 \alpha ;$$

d'où

$$\eta = \frac{AO}{AB'} ;$$

et en désignant par P le nombre de calories que représenterait le carré bâti sur AO comme côté,

$$(2) \quad \eta = \sqrt{\frac{P}{\pi \rho}} \sqrt{\frac{1}{K}} ;$$

ce qui est une variante de la relation (1).

Le radical correspond à la valeur exacte (*) du rendement, lorsque $K=1$; soit pratiquement 0,625 en opérant avec le pouvoir calorifique inférieur et la relation (2) devient :

$$(3) \quad \eta \cong \sqrt{\frac{0,625}{K}} .$$

13. Graphique polygonal relatif à un bilan thermique.

Partons d'un triangle fondamental ABC , construisons sur BC comme hypoténuse un triangle rectangle BCD tel que le carré de côté CD représente, à l'échelle adoptée, les pertes déterminées de la chauffe Q_c et sur BD comme hypoténuse un nouveau triangle rectangle BDE tel que le carré de côté DE représente les pertes déterminées de la transmission Q_t . Dans ces conditions, le terme indéterminé Q_i du bilan sera représenté par le carré bâti sur BE (fig. 6).

La synthèse d'un contour polygonal $ACHK$... plus détaillé que le précédent est également réalisable en faisant apparaître de proche en proche (fig. 7) : la perte (a) par combustion incomplète, celle (b) par imbrûlés..., etc...

(*) Valeur rectifiée au moyen de la caractéristique.

D'autre part, un contour tel que ACDEB est lui-même susceptible de décomposition, en vue de la figuration des pertes par combustion incomplète, imbrûlés..., etc...

14. Il va sans dire que le raisonnement appliqué aux n^{os} 9 et 10 pourrait se généraliser au cas des figures polygonales.

Les lieux des différents sommets des nouveaux contours constitueraient alors *des caractéristiques secondaires*.

Toute autre variable que K du n^o 9 pourrait également être considérée.

§ III

Machines Thermiques

15. La méthode graphique qui vient d'être exposée est applicable non seulement aux chaudières industrielles, *mais encore aux machines ou installations thermiques en général*.

Par exemple, pour un moteur à combustion interne, on pourra considérer la « chaleur introduite » et celle correspondant au « travail indiqué » ; d'où un certain triangle ABC et un angle α tel que :

$$\cos^2 \alpha = \text{rendement thermique indiqué.}$$

Des courbes caractéristiques pourront encore être envisagées.

(Société des Sciences de Nancy)

7 Mai 1923.

Sur la conductibilité des solutions très diluées et la préparation d'eau de conductibilité très pure

Par F. GIRARDET, Professeur agrégé des Facultés de Pharmacie

A la fin de 1913 et dans les premiers mois de 1914, j'ai commencé l'étude de la conductibilité des solutions salines très diluées. Ce travail a été interrompu par la guerre, qui a détruit ou dispersé mes appareils et une partie de mes documents. Je suis donc dans l'impossibilité matérielle de le continuer, et il est forcément incomplet.

L'étude des solutions diluées au-delà d'une certaine limite, N/100.000^e par exemple, offre des difficultés multiples qui n'ont été surmontées, dans quelques cas particuliers, que par un petit nombre d'expérimentateurs.

Examinons d'abord, au moyen des données expérimentales que nous possédons, l'ordre de grandeur des quantités à mesurer, en nous plaçant dans le cas le plus intéressant, celui des solutions aqueuses.

Kohlrausch et Heydeweyler (*Zeit. Ph. Chem.* 14, p. 317 (1894)), ont déterminé avec le plus grand soin, dans des conditions expérimentales acceptables, la conductibilité de l'eau la plus pure qu'il leur ait été possible d'obtenir, et de maintenir telle pendant quelques instants. Ils ont trouvé que, à + 18°, la conductibilité d'une telle eau est de :

$$3,8 \cdot 10^{-8} \text{ Mho}$$

le Mho, ou inverse d'Ohm, étant l'unité de conductibilité.

La conductibilité spécifique de KCl en solution N/10.000^e a été également déterminée avec soin ; elle est de :

$$1,3 \cdot 10^{-5} \text{ Mho}$$

Si nous admettons la valeur 130,1 pour la conductibilité équivalente limite, calculée par la formule :

$$\Lambda = 10 \cdot 10^{-3} \times V$$

où V désigne le nombre de litres qui renferment une molécule, nous

trouvons que les conductibilités spécifiques limites des solutions de KCl très diluées, sont approximativement :

$$\begin{array}{ll} \text{pour KCl N/100.000}^{\circ} & x = 1,3 \cdot 10^{-6} \\ \text{— KCl N/1.000.000}^{\circ} & x = 1,3 \cdot 10^{-7} \end{array}$$

Ce dernier chiffre est très intéressant, car il nous montre que la conductibilité d'une solution de KCl millionième normale, est encore égale à 13/3,8 fois celle de l'eau pure ; ou, en fraction décimale, elle est 3,6 fois plus grande que celle de l'eau de Kohlrausch.

Or, la solution millionième normale de KCl contient 74 g. 5 de sel dans 1.000.000.000^e de grammes d'eau, ou 1 gramme dans 13.422.818 grammes d'eau, et cette faible proportion suffit à presque quadrupler sa conductibilité. On voit ainsi l'importance énorme des faibles quantités de matière que les vases, les gaz de l'atmosphère, etc. pourront céder à la solution saline en expérience, et combien seront aléatoires les résultats.

A la suite, de ces considérations, j'ai donc été amené tout d'abord à préparer de l'eau de conductibilité très pure ; puis à chercher le moyen de conserver quelque temps cette eau.

C'est ce qui fera l'objet de la présente communication.

J'ai ensuite établi une méthode de mesure et des appareils convenables pour ce genre de recherches, les méthodes et appareils usuels, notamment la méthode de Kohlrausch, étant inapplicables, ainsi que nous le verrons ultérieurement.

Nous venons de voir que la conductibilité de l'eau pure augmente très rapidement au début, lorsqu'elle dissout de minimes quantités d'électrolytes ; dans le cas examiné, il suffisait de 0 gr. 000.745 de KCl par litre, soit 75 milliardièmes d'impureté dans l'eau, pour que la conductibilité soit presque quadruplée. La première condition à remplir, dans la préparation de l'eau de conductibilité, est donc de ne la mettre à aucun moment, en contact avec des vases ou organes pouvant lui céder des traces d'électrolytes. L'expérience a montré que le verre continue indéfiniment, bien qu'avec une vitesse ralentie, à céder des électrolytes à l'eau. Le verre est donc à prohiber complètement, tant pour la préparation que pour la conservation de l'eau.

Mais quelles substances employer ?

J'ai pensé qu'à défaut de substances insolubles, puisque, lors-

qu'il s'agit de milliardièmes, il est bien difficile d'affirmer l'insolubilité totale, il fallait recourir à celles qui ne donnent pas d'ions au contact de l'eau, mais bien des oxydes colloïdaux.

Parmi les matières usuelles jouissant de cette propriété, nous avons :

1° Le quartz fondu, qui remplacera le verre dans tous les appareils où la transparence est nécessaire, et où l'inaltérabilité de forme et de surface doit être complète.

2° L'étain, qui se prêtera tout particulièrement à la construction des appareils de condensation.

3° L'aluminium, qui nous fournira à bas prix des vases de grande capacité pour conserver l'eau de conductibilité.

Préparation de l'eau de conductibilité

J'ai été amené aux considérations qui précèdent, par une série de tentatives, toutes infructueuses, pour préparer de l'eau de conductibilité au moyen des appareils dont je disposais à l'École de Pharmacie. Aucun alambic, malgré des nettoyages prolongés plusieurs jours, ne me donna d'eau utilisable. La distillation dans la platine ne donna pas de meilleurs résultats. Seul, l'alambic de l'Institut chimique, consacré uniquement à la distillation de l'eau depuis des années, donnait de l'eau acceptable pour les recherches usuelles. Mais il fallait la conserver dans le verre, et elle ne pouvait me convenir.

Dans le volume 103 de *Chemical Society*, p. 791 (1913), Rob. Bourdillon donne la description d'un appareil qu'il a imaginé, et qui lui a donné, après distillation directe de l'eau du robinet, une eau de conductibilité $2 \cdot 10^{-7}$.

Ce résultat est remarquable, l'eau la meilleure qu'ont obtenue habituellement, atteint difficilement $1 \cdot 10^{-6}$.

L'appareil de Bourdillon consiste en une chaudière de cuivre produisant la vapeur; celle-ci s'élève dans un serpentín également en cuivre rouge, de 8^m,50 de long, calorifugé au coton. Le mélange de vapeur et d'eau condensée arrive dans une boîte ou séparateur en cuivre, d'où l'eau s'échappe par un joint hydraulique, tandis que la vapeur purifiée se rend dans le condenseur.

Ce condenseur est la partie la plus caractéristique de l'appareil

de Bourdillon, et je l'ai conservé sans modification sérieuse, dans mon appareil.

Il consiste en un tube vertical en étain, de 1^m,50 de haut et de 2,5 centimètres de diamètre intérieur. Sa partie supérieure est entourée, sur 0^m,15 centimètres, environ, d'un manchon dans lequel circule de l'eau ; il en est de même de la partie inférieure. Un bouchon, communiquant avec un tube à chaux sodée, empêche le contact de l'air.

La partie inférieure est terminée par une cloche de verre dont la tubulure latérale permet de diriger dans l'appareil un lent courant d'air pur, qui s'échappe à travers le tube à chaux sodée.

La vapeur purifiée, venant de la boîte de décantation, pénètre dans le condenseur par un tube d'étain, au tiers inférieur de sa hauteur. Ce tube est incliné vers le séparateur, et est dirigé vers le haut du condenseur. La vapeur est ainsi projetée vers le haut, et rencontre l'eau ruisselant sur les parois, par suite de la condensation. Cette eau est chaude, et ne retient pas les impuretés volatiles, qui sont entraînées au dehors par le courant d'air pur.

Bourdillon met quelques grammes de sulfate acide de potassium dans la chaudière génératrice, pour retenir l'ammoniaque.

Si on analyse le fonctionnement de cet appareil, on constate qu'il réalise les conditions suivantes :

1° Il fait parcourir à la vapeur un long trajet sinueux, où elle se condense en partie, en abandonnant les particules entraînées et les impuretés les moins volatiles ;

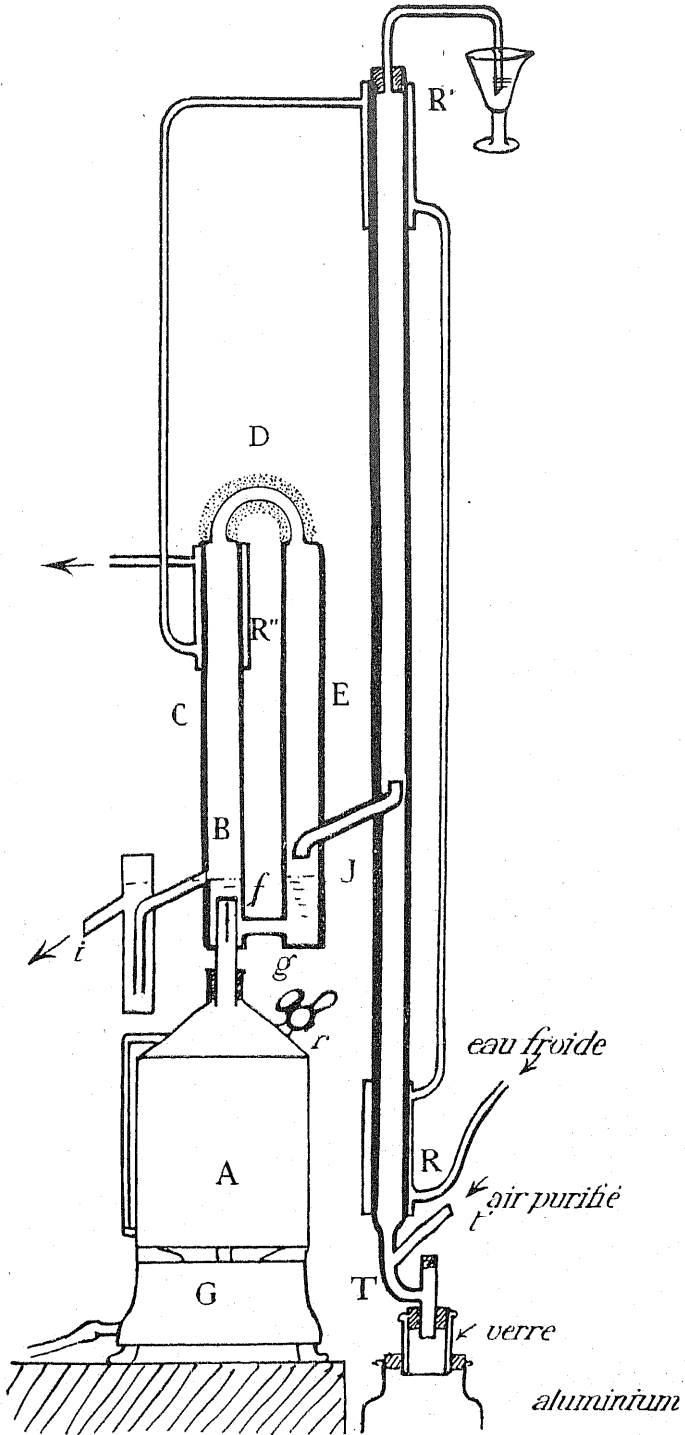
2° Il condense la vapeur ainsi purifiée, dans une atmosphère d'air pur et à chaud. De sorte que les impuretés volatiles ne se redissolvent pas et sont entraînées au dehors par le courant d'air pur ;

3° La condensation de la vapeur se fait au contact d'une paroi qui ne peut dégager des ions.

D'après ces considérations, j'ai construit un appareil amélioré qui m'a donné toute satisfaction, et dont voici la description.

Un bidon en tôle galvanisée, A, de 10 à 12 litres, sert de chaudière à vapeur. Il est muni d'un tube de niveau et d'un robinet d'alimentation, par lequel on y introduit directement de l'eau de la canalisation.

La vapeur s'échappe par un tube de laiton, B, de 15 ^m/_m de dia-



mètre, qui pénètre de 30 $\frac{m}{m}$ environ dans un autre tube de laiton, C, de 25 $\frac{m}{m}$ de diamètre intérieur et de 50 centimètres de haut.

Le tube B est fermé à sa partie supérieure, et la vapeur est obligée de s'échapper par deux fentes verticales, *f*.

Le tube C communique, par sa partie supérieure, avec un autre tube E, également vertical et de 50 centimètres de long. La vapeur, qui s'est élevée dans le tube C, passe donc dans D, pour descendre dans le tube E. Elle rencontre, vers le tiers inférieur de ce tube, le tuyau incliné dont l'orifice, dirigé vers le bas, la capte pour la diriger dans le condenseur, du modèle Bourdillon.

La partie supérieure du tube C est entourée d'un manchon réfrigérant R, de 10 centimètres de long. L'eau condensée s'accumule au fond, et recouvre les fentes par lesquelles arrive la vapeur. Elle y barbotte, avant de s'élever dans le tube et s'y purifie des parties les moins volatiles.

Un petit tube *g*, placé un peu au-dessus du fond, fait communiquer C avec la partie inférieure de E; ce dernier porte lui-même un trop plein, muni d'un joint hydraulique. De sorte que l'eau de condensation, très impure, qui a lavé la vapeur, s'échappe au dehors d'une façon continue.

On règle l'importance de cette condensation, qui ne doit pas être trop élevée, en mettant en série tous les réfrigérants, l'eau pénétrant d'abord en R, pour passer ensuite en R', puis enfin en R". On place même en cet endroit un tube en T, muni d'une pince, pour permettre de ne faire passer en R" qu'une partie de l'eau de réfrigération. Enfin les tubes C, D et E sont calorifugés au moyen de bandes de drap.

Dans le condenseur Bourdillon, j'ai supprimé toutes les parties en verre ou caoutchouc, et les ai faites en étain. L'eau s'écoule au travers d'un large tube de verre, qu'elle ne touche pas, et tombe dans un pot à lait en aluminium.

Le lent courant d'air purifié pénètre en *t*. Il est produit au moyen d'une petite trompe à goutte, chassant de l'air à travers de l'acide sulfurique, puis de la lessive de soude, et enfin sur de la soude en bâtons.

MODE D'EMPLOI

J'ai constaté qu'il est inutile d'ajouter quoi que ce soit dans l'eau soumise à la distillation. On introduit de l'eau du robinet,

telle quelle, et commence la distillation. Lorsqu'il s'est écoulé environ un quart de litre au condenseur, on fait un prélèvement, et mesure la conductibilité. Si elle est satisfaisante, ce qui est le cas habituel, on commence à recueillir. On distille ainsi jusqu'à ce qu'il ne reste plus dans la chaudière que 2 ou 3 litres de liquide.

Résultats

L'appareil donne par opération 3 à 4 litres d'eau de conductibilité 2 à 5.10⁻⁷.

De l'eau de conductibilité ordinaire, conservée quelques jours dans des flacons servant à cet usage depuis une dizaine d'années, donnait, dans un de mes vases à conductibilité, une résistance apparente de :

72.700 Ohms.

Redistillée dans le platine, cette eau donnait :

74.710 Ohms.

L'eau distillée lors de l'essai de l'appareil a donné, dans les mêmes conditions :

207.890 Ohms.

Emploi des vases d'aluminium

Pour employer les vases d'aluminium, il faut préalablement les soumettre à un dégraissage léger par lavage à l'éther. Puis y maintenir de l'eau de conductibilité à une température voisine de l'ébullition pendant quelques heures; les égoutter et les sécher à l'abri des vapeurs ou des gaz du laboratoire.

L'IODE ET LE DÉVELOPPEMENT DES INSECTES

PAR

PAUL REMY

Préparateur à la Faculté des Sciences de Nancy

INTRODUCTION. — Les travaux publiés pendant ces dix dernières années à la suite des recherches de GUDERNATSCH (1912) ont montré que la glande thyroïde joue un rôle des plus importants dans le contrôle du développement et de la croissance chez les Batraciens ; il a été reconnu que le principe actif de la glande est l'iode contenu dans la substance colloïde qu'elle sécrète.

L'ingestion et l'injection d'extraits thyroïdiens ou de diverses substances organiques ou minérales contenant de l'iode (iodothyrine, diiodotyrosine, diiodotyramine, iodalbacide, iodocaséine, iodoséroglobuline, thyroxine, iodoforme, iodure de potassium, iode bisublimé même, etc.) hâtent d'une façon très sensible la métamorphose des Batraciens, Urodèles et Anoures. (1)

Un traitement iodé peut-il abréger la durée du stade larvaire chez les Invertébrés à métamorphose ? De nombreux auteurs l'ont appliqué à divers représentants de ce groupe ; les résultats auxquels ils sont arrivés sont, comme nous allons le voir, contradictoires.

TRAITEMENT IODÉ DE DIVERS INVERTÉBRÉS ; RÉSULTATS CONTRADICTOIRES OBTENUS. — Il semble bien que le traitement iodé accélère la multiplication des Protozoaires : bien avant que GUDERNATSCH ait publié les résultats de ses recherches, NOWIKOFF (1908) avait remarqué que les Paramécies se multiplient plus rapidement lorsque l'on place dans l'eau où elles vivent de la thyroïde de Mouton ; ces résultats ont été confirmés depuis par BUDINGTON et HARVEY (1915) qui expérimentaient sur *Stylonichia* et *Paramæcium* et par SHUMWAY (1914 et 1917) qui, opérant sur *Paramæcium aurelia* et *P. caudatum*,

(1) Voir la bibliographie du sujet dans mon mémoire intitulé *Les sécrétions internes et les métamorphoses*, qui doit paraître prochainement dans les *Annales des Sciences naturelles, Zoologie*.

a remarqué que la thyroïde crue, la poudre de thyroïde du commerce, l'iodothyryne et l'iode ont un effet accélérateur des divisions. Des expériences analogues, entreprises sur les Arthropodes, ont été moins concluantes : NORTHROP (1917) trouve que la larve de *Drosophila* ne se développe pas normalement sur une pâte stérile faite en broyant de la thyroïde ou du thymus frais, mais se développe tout à fait normalement s'il y a des Bactéries dans la culture ; KUNKEL (1918) observe que l'ingestion de thyroïde de Mammifère par les larves de *Lucilia* tend à retarder légèrement la croissance, et par conséquent à réduire la taille de la puppe, mais hâte le commencement du stade nymphal et réduit la durée de la nymphose. M^{me} VECCHI (1919) arrive à des résultats analogues chez des Crustacés Copépodes : la métamorphose de *Cyclops viridis* et *C. serrulatus* serait hâtée en traitant les larves par des extraits de thyroïde de Mammifère. Cependant ces résultats ne sont pas confirmés par les recherches de COTRONEI (1918) : les larves d'Insectes qu'a traitées cet auteur par la thyroïde ne se sont pas métamorphosées plus tôt que les larves témoins ; de même, ABDERHALDEN (1919), administrant à des chenilles de Sphinx différents extraits d'organes (thyroïde, hypophyse, surrénale, thymus, ovaire, testicule) remarque que les animaux sont en général plus petits que les témoins, mais ne signale pas d'influence notable sur le développement. Les larves de *Calliphora vomitoria* nourries par ROMEIS et DOBKIEWICZ, (1920) à partir de l'éclosion, avec de la thyroïde de Veau ne se comportent pas non plus d'une façon sensiblement différente de celle des témoins nourries avec de la viande. KAHN (1921) enfin n'observe aucune modification de la durée de la vie larvaire chez des larves de divers Insectes (*Corethra plumicornis*, *Ecdyurus forcipula*, *Tenebrio molitor*) nourries avec du corps thyroïde humain ou de l'iodalbacide.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES. — Les résultats de ces expériences sur les Arthropodes sont donc loin d'être concordants ; j'ai essayé d'élucider la question en soumettant à un régime thyroïdien des larves d'Insectes, larves de Coléoptères et de Lépidoptères.

1° **Larves Coléoptères.** — J'ai opéré sur des larves d'un petit Chrysomélien commun en Lorraine sur les feuilles de Saule, *Plagiodera armoraciæ* F. (1) ; une vingtaine de ces larves, recueillies

(1) Ces exemplaires ont été déterminés par M. R. LIENHART, que je suis heureux de remercier ici.

le 11 Juin aux environs de Nancy à un stade très avancé, ont été nourries au laboratoire, les unes (lot témoin) avec des feuilles de Saule, les autres sur des feuilles identiques, mais enduites sur les deux faces d'une pâte faite en délayant dans l'eau de l'iodothyryne de la maison Hoffmann-Laroche et C^{ie}, de Paris. Les larves des deux lots se tiennent de préférence sur la face supérieure des feuilles; elles n'obéissent pas, comme on pourrait le croire, à une nécessité spéciale, à un géotropisme négatif, par exemple : les larves continuent à rester sur la face supérieure des feuilles lorsque, par une torsion de 180°, l'on tourne cette face du côté de la terre; cette position particulière de l'animal est due à ce que, sur le côté supérieur de la feuille, le parenchyme étant plus abondant, les nervures plus fines et moins nombreuses que sur la face inférieure, la larve y peut ronger avec plus de facilité et plus de profit; les quelques larves qui peuvent se tenir sur la face inférieure du limbe sont localisées dans la région périphérique, où les nervures sont petites et peu saillantes; ce comportement est analogue à celui que RABAUD (1921) vient d'étudier chez les Cassides. Les larves du second lot ne semblent pas incommodées par l'iodothyryne : elles mangent avec autant d'appétit que les témoins, et dans les deux élevages la mortalité est nulle.

Les animaux des deux lots se sont empupés dans la journée du 14 Juin; les adultes des deux lots ont éclos les 20 et 21 Juin, et tous paraissaient normaux et bien vigoureux.

L'ingestion de l'iodothyryne par les larves de Chrysoméliens peu de temps avant l'empupement n'a donc eu aucune influence sur le développement.

2° Larves de Lépidoptères (Chenilles du Bombyx du Mûrier).

a) *Ingestion d'iodothyryne.* — Un lot de 100 Vers à soie (lot I), dont la date d'éclosion n'est pas connue avec certitude, et mesurant de 4 à 4,5 ^m/_m de longueur totale au début de l'expérience (23 mai), est placé dans un cristalliseur et nourri avec des feuilles de Mûrier recouvertes d'iodothyryne Hoffmann-Laroche (1). Les Vers proviennent d'œufs pondus l'été précédent par des Papillons d'un même élevage. Un lot témoin (lot II), composé de 100 Chenilles ayant la

(1) Les feuilles sont trempées dans une solution à 4 0/00 d'iodothyryne dans l'eau; retirées du liquide, elles sont données aux Chenilles quand l'eau est complètement évaporée.

même origine que les précédentes, est placé autant que possible dans les mêmes conditions ; chaque lot reçoit autant que faire se peut la même quantité de feuilles de Mûrier (même nombre de feuilles ayant sensiblement les mêmes dimensions).

Le 26 Mai, de nombreuses mues sont observées dans les deux cristallisoirs ; le lot à iodothyryne a subi pendant les trois derniers jours une mortalité considérable (il ne compte plus que 25 individus), mais qu'on ne peut attribuer à l'ingestion d'iodothyryne : le lot témoin présente une réduction analogue, et n'a plus que 27 Chenilles. A partir de ce moment, les feuilles du lot I, au lieu d'être trempées dans la solution d'iodothyryne, sont enduites d'une pâte faite en mélangeant le produit avec de l'eau.

Le 23 Juin, les 24 animaux du lot I (un est mort accidentellement le 20 Juin) sont visiblement plus grands que les témoins et pèsent $4^{\text{g}}90$, soit en moyenne 204^{mg} chacun (1) ; le lot II, toujours composé de ses 27 Chenilles, pèse $7^{\text{g}}10$, soit une moyenne de 263^{mg} pour un animal. Les individus soumis au régime thyroïdien présentent donc au bout d'un mois une diminution de poids total de 59^{mg} , soit les 22 centièmes du poids total.

Le 1^{er} Juillet les individus du lot I pèsent en moyenne chacun 650^{mg} , ceux du lot II 703^{mg} , soit pour les premiers une diminution de 53^{mg} , les 7 centièmes du poids total.

Le 8 Juillet, le poids moyen d'une Chenille est de $1^{\text{g}}472$ pour le lot I, de $1^{\text{g}}489$ pour le lot II, soit pour le premier une diminution de 17^{mg} , un peu plus du centième du poids total.

Le 13 Juillet, le poids moyen de l'individu pour le lot I est de $2^{\text{g}}432$ et pour le lot II de $2^{\text{g}}648$, soit pour le premier une diminution de 216^{mg} , les 8 centièmes du poids total.

Les Vers à soie du lot I se sont transformés en chrysalides du 10 au 22 juillet, ceux du lot II du 9 au 21 juillet. La durée de la vie larvaire a donc été, on le voit, très sensiblement la même dans les deux lots, et n'a subi aucune influence de la part de l'iodothyryne. Celle-ci n'est intervenue que pour entraver légèrement la croissance, et encore cette action, très sensible au début de la vie larvaire, va en s'atténuant à mesure que les Chenilles grandissent : la diminution

(1) Ces pesées sont faites 24 heures après la réception du dernier repas, ceci afin de réduire le plus possible les causes d'erreur dues aux différences de quantité de nourriture absorbée.

du poids moyen de l'individu causée par l'ingestion de la substance iodée, qui était voisine du quart du poids total à la fin du premier mois larvaire (23 Juin), n'est plus que le douzième du poids total trois semaines après (13 Juillet) ; cette diminution a même disparu totalement au moment de la nymphose : chaque Chenille des deux lots a été pesée au moment où elle filait son cocon ; la moyenne du poids de l'individu est très sensiblement la même dans les deux lots : 2^g748 pour le lot I, 2^g732 pour le lot II. Faut-il attribuer cet amaigrissement à une action spécifique du produit thyroïdien ingéré ? Je ne pense pas : l'iodothyryne a agi comme l'aurait fait toute autre substance étrangère, plus ou moins toxique ou même inerte qui, même si elle n'est pas absorbée par les cellules digestives, cause tout au moins une perturbation dans l'organisme en encombrant et fatiguant le tube digestif ; l'action de ces substances étrangères se fait d'autant plus sentir chez l'espèce mise en expérience dans le cas présent que celle-ci est astreinte, dans la vie normale, à se nourrir constamment du même végétal, la feuille de Mûrier, et l'on sait que dès qu'on lui fait absorber d'autres végétaux, elle dépérit. Il semble d'ailleurs que la Chenille s'accoutume au régime iodé, si l'on remarque que la diminution du poids moyen de l'animal à iodothyryne, très sensible au début de l'expérience, s'annule au moment de la nymphose. La mortalité n'a d'ailleurs pas été plus grande dans le lot à iodothyryne que chez les témoins : du 26 mai jusqu'à l'empupement, 3 morts sont constatées dans le lot I, 2 dans le lot II.

L'ingestion de substance iodée, qui n'a pas eu d'action sur la durée de la vie larvaire, modifie-t-elle la durée de la vie nymphale ? J'ai noté pour chaque individu des deux lots l'instant où il a commencé à filer son cocon et le moment de l'éclosion ; la moyenne du temps écoulé entre ces deux instants est de 31 jours, 4 pour le lot à iodothyryne, et de 29 jours pour le lot témoin. L'ingestion d'iode prolonge donc la durée de la vie nymphale ; cette perturbation dans le développement de l'Insecte peut s'expliquer en considérant que la chrysalide peut renfermer des produits toxiques anormaux accumulés dans l'organisme pendant la vie larvaire et non éliminés.

b) *Injection d'iodothyryne.* — On pourrait croire que l'on obtient des résultats négatifs en introduisant dans l'organisme de la Chenille la substance iodée par la voie digestive, parce que cette substance n'est peut-être pas assimilée. Pour répondre à cette objection, j'ai introduit directement l'iodothyryne dans le sang de l'animal : le

23 juin, 6 individus sont prélevés du lot témoin et reçoivent dans la cavité générale une solution d'iodothyridine dans de l'eau physiologique très légèrement alcalinisée.

Je n'ai pas suivi par des pesées l'influence de l'injection sur le développement larvaire, ces 6 Chenilles ayant été choisies de tailles très différentes et leur petit nombre ne permettant pas de faire une moyenne ayant quelque signification. Les animaux ont vécu en bonne santé jusqu'au moment de la nymphose, qui s'est produite sensiblement au même moment que pour les deux autres lots : le premier individu métamorphosé a commencé à filer son cocon le 11 juillet. La durée du stade nymphal a subi ici aussi une très légère augmentation (29 jours, 2 en moyenne). L'iodothyridine injectée dans la cavité générale, pas plus que l'iodothyridine introduite dans l'organisme par le tube digestif, n'a pas d'action très sensible sur le développement du Ver à soie.

Rien ne distingue extérieurement les Bombyx adultes provenant de cocons à iodothyridines de Papillons du lot témoin ; en particulier il n'a pas été observé chez les premiers de ces malformations alaires fréquentes chez les Insectes adultes dont les larves ou les pupes ont vécu dans des conditions défectueuses [DEWITZ (1917)] ; aucune modification de la pigmentation n'a été remarquée. Dans les trois lots, les imagos se sont comportés de la même façon après l'éclosion et je n'ai observé aucune différence touchant l'activité génitale ; la proportion des sexes était d'ailleurs la même chez les Chenilles à iodothyridine et chez les témoins.

LA FORME DU COCON ET LE SEXE DE L'IMAGO. -- A ce propos, j'ai essayé de vérifier si le sexe du Papillon était décelable, comme on l'a supposé, par la forme extérieure du cocon. A première vue, les cocons du Bombyx présentent en effet deux aspects différents : les uns ont une forme se rapprochant d'un ellipsoïde de révolution allongé ; la section méridienne n'est pas une ellipse, mais se rapproche plutôt de la courbe connue en géométrie sous le nom d'anse de panier ; le trou de sortie de l'imago est à l'un des pôles du cocon ; d'autres cocons dérivent des premiers par un léger étranglement circulaire situé en général dans le plan équatorial, mais pouvant être dans un plan parallèle à l'équateur, entre ce dernier et le pôle de sortie de l'imago, ou du côté du pôle opposé. GIRARD (1885) remarque que le cocon, « en général plus ou moins régulièrement

ovoïde, est souvent un peu étranglé en son milieu, surtout chez les mâles ». *Les cocons « ovoïdes » m'ont donné exclusivement des femelles, les cocons présentant un étranglement ont fourni un mélange de femelles et de mâles dans la proportion de 6 mâles pour 7 femelles.* Il faut remarquer que parmi cette seconde catégorie j'avais rangé tous les cocons qui avaient une forme intermédiaire entre les cocons régulièrement « ovoïdes » et les cocons étranglés. Certains, en effet, sont réniformes, ne présentant l'étranglement que suivant un fuseau plus ou moins ouvert ; chez d'autres, cet étranglement restreint a disparu, et le cocon prend la forme d'un grain de café. Ces irrégularités sont dues à l'écartement plus ou moins grand des brindilles auxquelles est suspendu le cocon, et très souvent, au sommet d'une bosse on relève l'empreinte de la branche ou de la paroi de la boîte contre laquelle la Chenille, gênée, avait appuyé son cocon ; l'une d'elles, trop à l'étroit, a filé dans l'encoignure d'une boîte un cocon aplati dont les contours forment un triangle rectangle aux sommets émoussés ; l'angle droit correspondait au sommet de l'encoignure et on reconnaît l'empreinte des parois de la boîte sur les côtés de l'angle droit ; une femelle est sortie par l'un des angles aigus du triangle. La déformation peut avoir une toute autre cause : un cocon pyriforme, à dimensions un peu plus grandes, à parois plus épaisses que la normale, contenait deux chrysalides, qui ont donné naissance à deux adultes sortis par le même orifice ; je n'ai pas observé au moment de la nymphose comment les deux Chenilles ont associé leurs efforts. Un grand nombre de ces cocons faisant passage entre les cocons « ovoïdes » et les cocons à étranglement ont donné des femelles ; quelques cocons étranglés typiques ont également fourni des femelles.

CONCLUSIONS. — Les accélérations de développement obtenues par NOWIKOFF, BUDINGTON et HARVEY, SHUMWAY chez les Infusoires, KUNKEL chez les Diptères, A. VECCHI chez les Crustacés ne semblent pas dues à une action spécifique de l'iode thyroïdien ; dans tous ces cas, l'action de la thyroïde ne doit pas être de nature catalytique, comme cela a lieu chez les Amphibiens, où des quantités infimes d'iode déclenchent l'accélération de la métamorphose : la nourriture thyroïdienne hâte le développement de ces formes, sans doute parce qu'elle renferme pour les espèces étudiées des principes plus substantiels que ceux que contient la nourriture des lots

témoins ; il est à noter que dans les expériences de ces derniers auteurs, les animaux ont reçu thyroïde ou extraits thyroïdiens sous forme de nourriture ; auraient-ils reçu l'iode sous forme d'injections que les résultats auraient sans doute été tout différents.

Les résultats négatifs obtenus avec les Lépidoptères, les Coléoptères, *Calliphora*, et autres Insectes ne doivent d'ailleurs pas surprendre ; on a reconnu que des traitements iodés n'avaient aucune influence sur le développement d'espèces plus voisines des Amphibiens que le sont les Arthropodes : MARINE (1913), C. O. JENSEN (1916) et REMY (1922) ont reconnu que la durée de la vie larvaire des Lamproies n'est pas modifiée par divers traitements iodés (ingestion d'iode ioduré, de thyroïde broyée, d'iodothyline, injection de divers produits renfermant de l'iode (1). Chez les Amphibiens eux-mêmes, il est des espèces qui, ne se développant pas au-delà du stade larvaire, demeurent à ce stade après avoir subi différents traitements iodés : tels sont par exemple *Necturus maculatus*, *Proteus anguinus* [JENSEN (1916)], du groupe des Pérennibranches.

L'inefficacité de l'iode sur le développement des Insectes est une raison de plus pour croire à l'absence dans l'organisme des Invertébrés de sécrétions internes analogues à celles qu'élaborent les Vertébrés.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1919. ABDERHALDEN (EMIL). — Weitere Studien über die von einzelnen Organen hervorgebrachten Substanzen mit spezifischer Wirkung. II. Mitteilung (*Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, CLXXVI, 236-262).
- 1920 a. ABELIN (J.). — Ueber die Bedeutung des Iods für die Metamorphose der Froschlarven. (*Actes Soc. helvét. Sc. nat.*, p. 228).
- 1920 b. ABELIN (J.). — Einfluss von Dijodtyramin und Tyramin auf die Entwicklung von Froschlarven. (*Biochem. Zeitschr.*, CII).

(1) De nouvelles expériences m'ont montré que l'ingestion ou l'injection de divers extraits d'organes (extraits hépatique, orchitique, hypophysaire de la maison Choay, de Paris, macération de foie, de valvule spirale d'Ammocète dans l'eau physiologique), n'accélèrent pas non plus la métamorphose de la larve Ammocète de la Lamproie *Petromyzon Planeri*.

1915. BUDINGTON (R. A.) and H. F. HARVEY.— Division rate in ciliate Protozoa as influenced by thyroid constituents. (*Biol. Bull.*, XXVIII, 304-314).
1918. COTRONEI (G.).— Osservazioni sull' influenza della tiroide sullo sviluppo degli Insetti. (*Rend. R. Accad. dei Lincei*, XXVII, 376-379).
1917. DEWITZ (J.). — Ueber die Entstehung rudimentärer Organe bei den Tieren. Zusammenfassung meiner bisherigen Mitteilungen. (*Zool. Jahrb., Physiol.*, XXXVI, 231-244).
1885. GIRARD (MAURICE).— *Traité élémentaire d'Entomologie*. III. Paris.
1912. GUDERNATSCH (J. F.).— Feeding experiments on tadpoles. I. The influence of specific organs given as food on growth. and differentiation. A contribution to the knowledge of organs with internal secretion. (*Arch. Entw. Mech.*, XXXV, 437-483).
1916. JENSEN (C. O.).— Ved Thyroidea-Præparater fremkaldt Forvandling hos Axolotl'en (avec un résumé en français). (*Oversigt ov. d. hlg. Danske Vidensk., Selskabs Forhandl.*, n° 3, p. 251).
1920. JENSEN (C. O.).— Recherches sur la provocation artificielle de la métamorphose chez les Batraciens et notamment chez l'Axolotl. Mesure biologique de l'efficacité des préparations thyroïdiennes. (*C. R. Soc. Biol.*, LXXXIII, 315-317).
1921. JENSEN (C. O.).— Métamorphose provoquée par l'injection de préparations thyroïdiennes ou de thyroxine (Kendall) à des Axolotls ayant subi la thyroïdectomie. (*C. R. Soc. Biol.* LXXXV, 391-392).
1921. KAHN (R. H.). — Ueber Schilddrüsenfütterung auf Wirbellosen. (*Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, CVIIC, 81).
1918. KUNKEL (B. W.).— The effects of the ductless glands on the development of the flesh flies. (*Journ. exp. Zool.*, XXVI, 255-264).
1913. MARINE (D.).— The metamorphosis of the endostyle (thyroid gland) of *Ammocoetes branchialis* (larval-locked *Petr. marinus* Jordan or *Petr. dorsatus* Wilder). (*Jour. of exper. Med.*, XVII, 379-395).
1917. NORTHROP (J. H.).— The role of yeast in the nutrition of an Insect (*Drosophila*). (*Jour. biol. Chem.*, XXX, 181-187).
1908. NOWIKOFF (M.).— Ueber die Wirkung des Schilddrüsenextrakts und einiger anderer Organstoffe auf Ciliaten. (*Arch. f. Protistenkunde*, XI, 309-325).
1921. RABAUD (Et.).— L'adaptation et l'instinct des Cassides. (*Bull. biol. Fr. et Belg.*, LV, 153-183).
1922. REMY (P.).— L'iode et la métamorphose de l'*Ammocoetes branchialis* en *Petromyzon Planeri* Bloch. (*C. R. Soc. Biol.*, LXXXVI, p. 129).

1920. ROMEIS (B.) und DOBKIEWICZ (L. von).— Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Wirbeltierhormonen auf Wirbellose.— I. Der Einfluss der Schilddrüsenfütterung auf Entwicklung und Wachstum der Schmeissfliege (*Calliphora vomitoria*). (*Arch. Entwickl. Mech.*, XLVII, H. 1-2).
1914. SHUMWAY (WALDO).— Effect of the thyroid on division rate of *Paramecium* (*Jour. exp. Zool.*, XVII, 297-311).
1917. SHUMWAY (WALDO).— The effects of a thyroid diet upon *Paramecium*. (*Jour. exp. Zool.*, XXII, 529-563).
1919. VECCHI (ANITA).— Influenza dell estratto di tiroide e di altri estratti organici sulla metamorfosi e riproduzione di *Cyclops viridis* e *C. serrulatus*. (*Archivio Fisiol.*, XVII, 105-136).
-

Sur la Composition Minéralogique de quelques Marnes

Par M. THIÉBAUT

On distingue ordinairement sous le nom de marnes des roches formées de carbonates (calcite ou dolomite), d'argile impure et d'éléments détritiques.

L'appellation d'argile est réservée à un nombre restreint de minéraux qui, par définition, sont uniquement composés de silice, d'alumine et d'eau. Beaucoup d'auteurs les regardent comme de véritables acides.

On distingue ainsi des argiles cristallines et des argiles colloïdales dont les principaux types sont les suivants :

	Argiles cristallines	Argiles colloïdales
$\text{Si O}^2, \text{Al}^2 \text{O}^3, 6 \text{H}^2 \text{O}$		Allophane.
$2 \text{Si O}^2, \text{Al}^2 \text{O}^3, 2 \text{H}^2 \text{O}$	Kaolinite	Halloysite.
$4 \text{Si O}^2, \text{Al}^2 \text{O}^3, \text{H}^2 \text{O}$	Pyrophyllite	Montmorillonite.

Le but de nos recherches est de déterminer la constitution de la partie argileuse d'un certain nombre de marnes appartenant à des horizons géologiques bien connus.

Pour étudier ces complexes, le premier procédé qui vient à l'esprit consiste à essayer de séparer par densité les divers éléments qui les composent. L'utilisation de liqueurs lourdes est un moyen communément employé. On peut aussi essayer de fragmenter la substance en plusieurs lots, chacun de ceux-ci comportant seulement les éléments qui tombent avec la même vitesse dans un liquide. Celui-ci peut être au besoin additionné d'un réactif facilitant le délitement de la substance primitive.

Ce dernier procédé bien connu est fort tentant, car il permet de séparer des grains se déposant en quelques minutes, les fines particules pouvant rester plusieurs jours en suspension dans le liquide. Malheureusement, l'analyse démontre qu'en fait, ces procédés sont inapplicables et permettent seulement d'isoler dans presque tous les cas, des grains de quartz assez gros, sur lesquels tous les réactifs habituellement employés sont sans effet.

Une autre façon d'opérer consiste à détruire successivement les

divers minéraux connus, et cela à l'aide de réactifs appropriés ; mais la chose est moins simple qu'elle ne le paraît, car il importe avant tout de trouver des solutions n'agissant pratiquement que sur un seul minéral.

Notre choix s'est porté en premier lieu sur l'acide chlorhydrique étendu d'eau à vingt fois son volume primitif. Ce liquide attaque lentement à froid la calcite et la dolomite sans agir d'une façon importante sur la partie argileuse des marnes. Celle-ci est séparée des sels formés par de nombreux lavages à l'eau chaude. Son examen microscopique, si incomplet soit-il, y montre la présence de certains éléments définis, à l'exclusion d'autres : A côté de la partie argileuse, le mica apparaît souvent, les feldspaths sont excessivement rares et n'existent alors qu'en très faible proportion ; par contre, le quartz détritique est un composant normal de ce mélange. Des oxydes de fer l'accompagnent accessoirement. A côté, on trouve toujours, en très petites quantités du zircon, du rutile et de la tourmaline.

A la température du bain-marie, l'acide chlorhydrique concentré agit très facilement, mais incomplètement sur cette partie argileuse. En même temps, de la silice est mise en liberté ; on l'extrait facilement du résidu en le traitant pendant quelques minutes par une solution de soude au dixième, à la température 50°.

Désireux d'utiliser ces actions chimiques pour isoler certains éléments identifiés dans les marnes, nous avons procédé à une série d'essais sur les conditions de leur attaquabilité par les deux réactifs cités.

Voici, en résumé, les résultats de ces recherches :

Action de l'acide chlorhydrique étendu de son volume d'eau à la température de 50 à 60°. — L'attaque était faite jusqu'à dessiccation complète et renouvelée trois fois.

Dans ces conditions, la muscovite n'est attaquée d'une façon importante (soit environ 30 %), que si ses particules ont une dimension inférieure à μ . Pour les éléments plus gros ayant de 1 à 50 μ , la proportion de substance dissoute n'est plus que de 10 à 11 %, et de 4 % seulement entre 50 et 150 μ .

Par contre, la phlogopite, qui ne paraît exister qu'en très faible quantité dans les marnes, est facilement attaquée.

Les argiles colloïdales sont également détruites par l'acide chlorhydrique ; mais l'opération est longue, et dans les conditions où

nous nous sommes placé, les deux tiers au moins restent inaltérés.

Les argiles cristallines le sont moins encore et la kaolinite en particulier, broyée en éléments de dimension inférieure à 50 μ , abandonne à peine 10 % de son alumine.

L'acide est sans action notable sur les feldspaths et le rutile. Il n'agit pas sur le quartz.

Action de la soude en solution. — La soude en solution n'agit que fort peu sur le mica blanc très finement broyé. En le soumettant plusieurs heures de suite à l'action de ce réactif maintenu à sa concentration première, et cela à la température du bain-marie, on dissout à peine 1 à 2 % du minéral.

Il en est de même pour l'orthose et la biotite. L'action sur le quartz en poudre très fine, est un peu plus énergique.

Par contre, toutes les argiles colloïdales sont partiellement dissoutes. Deux attaques consécutives d'une durée de deux heures chacune à la température de 60° permettent de solubiliser jusqu'à 25 % de la substance ; mais pour les argiles cristallines (kaolinite et pyrophyllite), ces proportions ne dépassent pas 10 %.

Enfin, la silice hydratée des gaizes est facilement et complètement dissoute dans la liqueur.

De ces données, on peut conclure que dans un mélange d'argile, de mica et de quartz, l'acide chlorhydrique attaquera surtout les premiers de ces minéraux. Les éléments de muscovite de dimensions facilement appréciables échappent à peu près complètement à son action, mais la biotite sera détruite. Il y a donc là une cause d'erreur possible lors de l'interprétation des résultats obtenus au cours des essais ; mais cette cause est plus apparente que réelle, car en fait, parmi les particules de mica que l'examen permet de reconnaître dans les marnes, la biotite ne se trouve jamais en forte proportion, et sa grande altérabilité peut faire admettre qu'elle n'existe pratiquement pas à l'état de fines particules dans le mélange argileux. Nous basant sur toutes ces données, nous avons attaqué un certain nombre de marnes par l'acide chlorhydrique, très dilué d'abord de façon à isoler la partie argileuse, puis par l'acide concentré suivant la méthode signalée plus haut.

Le détail des résultats obtenus sur divers échantillons de marnes apparaît dans le tableau suivant :

	Keuper supérieur Marne blanche de Laveuveville- devant-Bayon	Keuper supérieur Marne verte d'Alsace	Oligocène Marne verte de Pechelbronn	Oligocène Marne grise de Mulhouse	Oligocène Marne blanche de Romainville		Lias inférieur Marne à hyppopodium Nomeny	Bajocien Marne micacée Piennes	Albien Marne grise de Myennes
	Très micacée	Presque pure	Très micacée	Très impure Hydrocarbures libres	Assez pure		Très micacée (Oxyde de fer libre)	Très micacée (Oxyde de fer libre)	Très impure Très micacée (Oxyde de fer libre)
Si O ²	48.49	54.94	48.48	48.89	56.79		49.02	45.49	45.94
Al ² O ³	20.59	18.43	21.41	20.39	16.66		27.76	25.70	21.07
Fe O	9.95	7.16	7.52	5.55	7.76		7.60	10.61	17.61
Mn O	0.07	0.05	néant	0.21	0.08		néant	néant	dosé avec Fe O
Ca O	néant	néant	néant	(1.15)	0.29		néant	néant	néant
Mg O	7.23	6.11	5.49	4.83	6.27		2.78	3.27	3.71
K ² O	4.40	6.37	4.87	8.10	4.30		2.85	4.05	5.27
Na ² O	1.10	0.66	4.50	5.20	0.52		1.04	1.07	0.75
H ² O	8.18	6.28	7.72	5.62	7.32		8.95	9.80	5.65
Rapports moléculaires									
$\frac{\text{Si O}^2}{\text{Al}^2 \text{ O}^3}$	4.00	3.07	3.85	4.07	5.79		3.01	3.01	3.78
$\frac{\text{Bases}}{\text{Al}^2 \text{ O}^3}$	1.92	1.83	1.74	1.76	1.94		0.78	1.16	1.84
$\frac{\text{H}^2 \text{ O}}{\text{Al}^2 \text{ O}^3}$	2.25	1.94	2.04	1.56	2.49		1.82	2.16	1.52

Marnes Keupériennes. — Celles-ci sont formées de carbonates facilement reconnaissables au microscope et d'un mélange de silicates comprenant d'une part un hydro-silico-aluminate de fer, de magnésium et de métaux alcalins et d'autre part, de mica blanc et d'éléments détritiques composés à peu près uniquement de quartz.

En effet, dans la portion attaquable par l'acide chlorhydrique concentré, le rapport moléculaire de la silice à l'alumine ne permet pas, à priori, d'admettre l'existence d'argile du même type que l'halloysite. Le fait est confirmé par l'action de la solution sodique sur la partie argileuse des marnes : au début, et ce fait s'explique par la présence de silice hydratée, le rapport de la silice à l'alumine dissoutes est très élevé, puis il devient très voisin de 4. Contrairement à ce qui se passe pour les argiles colloïdales, on ne dissout ainsi que peu de substance ; mais, en même temps, de la magnésie et un peu d'oxyde de fer sont mis en liberté lors de ces essais. On les extrait facilement du résidu en lavant celui-ci à froid avec un peu d'acide chlorhydrique très dilué. On constate que dans l'ensemble de ces deux opérations, le rapport de l'alumine aux bases est le même que celui donné par l'attaque chlorhydrique, on peut donc admettre que la solution de soude n'a pas dissous d'argile.

De ces faits, nous tirerons la conclusion qu'il existe, dans la partie argileuse des marnes irisées, un hydro-silico-aluminate, riche en oxyde de fer et en magnésie. Cette substance apparaît à peu près seule quand on examine au microscope le résidu argileux des marnes les plus pures ; c'est un produit crypto-cristallin agissant sur la lumière polarisée. Il est légèrement attirable par l'électro-aimant.

Ces attaques chlorhydriques isolent un résidu partiellement détruit par l'acide sulfurique concentré ; l'analyse des liqueurs que l'on obtient alors permet de définir la composition minéralogique de cette substance, comme en fait foi le tableau suivant :

MARNE BLANCHE DE LANEUVEVILLE-DEVANT-NANCY

Analyse de la partie attaquée par l'acide sulfurique

Si O ²	45.94
Ti O ²	4.67
Fe ² O ³	1.17
Al ² O ³	34.40
Mg O	1.01
K ² O	6.51
Na ² O	0.96
H ² O	5.34

C'est un mélange de mica blanc et de quartz presque toujours d'origine détritique auquel s'adjoignent des fragments de rutile et quelques éléments de zircon et de tourmaline. On ne peut y admettre l'existence de kaolinite en proportion notable, car le rapport de l'eau à l'alumine dans la partie attaquable par l'acide sulfurique est le même que celui des micas.

Dans leur ensemble, les marnes irisées sont donc formées :

De carbonate (dolomite ou calcite).

D'un minéral voisin des chlorites.

De mica blanc.

De quartz.

Marnes oligocènes d'Alsace. — Leur étude nous a conduit à des constatations semblables. Il en est de même des échantillons que nous avons recueillis à Romainville et dans l'oligocène lagunaire des environs de Paris. L'attaque des dépôts des marais salants d'Aigues-Mortes donne aussi des résultats analogues.

Il y a donc une grande ressemblance entre ces divers dépôts de même faciès.

Par contre, les *marnes des fonds marins* donnent des résultats différents : dans la portion soluble dans l'acide chlorhydrique, la teneur en magnésie est beaucoup plus faible que précédemment et le rapport moléculaire de la silice à l'alumine est voisin de 3. La proportion de muscovite est plus élevée.

Ces complexes naturels dont nous n'avons pas terminé l'étude diffèrent donc notablement des précédents.

Mais de toutes façons, on peut conclure que les argiles ne forment pas la partie essentielle des marnes. Celle-ci comprend surtout du mica blanc, et en quantité prédominante dans les faciès lagunaires, un hydro-silicate de magnésie et de fer.



SOCIÉTÉ DES SCIENCES DE NANCY

PROCÈS-VERBAUX DES SÉANCES

Séance du 11 Juillet 1923

Présidence de M. JOLY, Président

M. le Président présente les excuses de MM. Grélot et Goury ; les remerciements de M. Hermann, membre nouveau.

Élections. — Après rapport de M. Darmois, M. Lonchambon est élu membre titulaire de la Société.

Est prise en considération la candidature de M. Fayolle, présenté par MM. Vogt et Nicolas ; rapporteur : M. Vogt.

Communication

M. le Secrétaire donne lecture d'une communication de M. Oubrè : « *La détermination de la concentration en ions hydrogène des liquides organiques* ».

Le Secrétaire annuel,
Pierre SIMONIN.

Séance du 27 Novembre 1923

Présidence de M. JOLY

Correspondance. — M. Ancel adresse à la Société sa démission de membre titulaire.

La Société Française de Physique fait part de la célébration prochaine de son cinquantenaire et invite la Société à participer aux manifestations scientifiques et à l'exposition qu'elle organise au Grand-Palais.

La demande d'échange du Bulletin faite par la Société Botanique de Pologne est acceptée.

Le Ministre de l'Agriculture signale à l'attention des Sociétés savantes l'enquête générale entreprise sous ses auspices sur les corbeaux de France.

Candidature. — MM. Grélot et Lasseur présentent la candidature de M. Vernier ; M. Lasseur est nommé rapporteur.

Communications

MM. Lasseur et Vernier. — *Contribution à l'étude du « Bacillus Le Monnieri »*, Lasseur.



MM. Hermann et Merklen. — *Effets physiologiques de la suppression fonctionnelle d'un poumon chez les Chéloniens.*

(Ces communications paraîtront au Bulletin).

Le Secrétaire annuel,

Pierre SIMONIN

Séance du 20 Décembre 1923

Présidence de M. Joly

Correspondance. — M. Joly donne lecture du programme et de l'appel adressé par le « Comité d'Études pour favoriser la traduction en français d'ouvrages étrangers ».

Est prise en considération la demande de candidature de M. Studler, présenté par MM. Grélot et Joly, rapporteurs.

Élections. — Après rapport de M. Vogt, est élu membre titulaire, à l'unanimité des membres présents, M. Fayolle, ingénieur, secrétaire de la Chambre de Commerce de Nancy.

Après rapport de M. Lasseur, est élu de même M. Vernier, docteur en médecine, chargé de cours à la Faculté de Pharmacie.

Siège social. — Le transfert du siège social de la Société de l'ancienne Salle de l'Agriculture à la Faculté de Pharmacie est adopté. La Société renouvelle, à cette occasion, ses remerciements à M. le doyen Bruntz pour son aimable accueil.

Élections statutaires. — Nombre de votants : 18.

M. Gain, est élu Vice-Président pour 1924, par 17 voix.

M. Nicolas, Administrateur sortant, est réélu par 18 voix.

M. Goury, Trésorier sortant, est réélu pour trois ans par 17 voix.

M. Simonin, Secrétaire annuel sortant, est réélu pour 1924 par 17 voix.

Séance publique annuelle. — La Société, pour cette séance, fait appel à l'obligeant concours de M. Husson qui, avec MM. Gutton et Guinier, veut bien se charger de son organisation. Il est décidé, en principe, que cette séance aura lieu un jour de semaine vers la fin de l'après-midi et que sera demandée à M. le Doyen des Lettres l'autorisation d'utiliser le grand amphithéâtre.

Communication

MM. MATHIEU et HERMANN. — *Sur les communications interpleurales chez le chien.* (Paraîtra dans le Bulletin).

Le Secrétaire annuel,

Pierre SIMONIN.

Séance du 17 Janvier 1924

Présidence de M. GUINIER, Président

M. Guinier adresse à M. Joly, Président sortant, les remerciements de la Société. Entrant en fonctions, ses premières paroles sont à la mémoire des grands « forestiers » qui de leurs travaux et de leur nom honorèrent la Société des Sciences.

Correspondance. — M. Seyot dépose un exemplaire du fascicule de vulgarisation qu'il vient de publier sur « *Les Principaux Germes de Champignons* ».

La séance publique annuelle est fixée au jeudi 7 février, 17 heures ; par l'intermédiaire de M. l'adjoint Bruntz, la Salle Poirel est mise à la disposition de la Société pour cette manifestation.

M. Goury expose la situation financière ; le bilan de l'exercice 1923 accuse 2.281 fr. 50 de recettes, 4,832 fr. 30 de dépenses, d'où un déficit de 2.550 fr. 80. Divers moyens d'équilibrer le budget sont discutés, entr'autre la proposition de M. Mathieu d'insérer des pages de publicité dans le Bulletin, et la proposition de M. Gain de demander une subvention au Conseil d'Université, cette dernière proposition est unanimement acceptée.

Élection — Après rapport de MM Grélot, M. Studler, professeur d'Université en retraite, est élu membre titulaire à l'unanimité des membres présents.

MM. Guyot et Guinier (rapporteur), présentent la candidature de M. Bernard, professeur de Mathématiques et Sous-Directeur à l'École des Eaux et Forêts.

Communication

M. LEAU. — *Sur certaines formes de fonctions majorantes* (paraîtra dans le Bulletin).

La communication annoncée de M. Guillemain est remise, sur sa demande et à cause de l'heure tardive, à la prochaine séance.

Le Secrétaire annuel,

Pierre SIMONIN.

Séance du 29 Février 1924

Présidence de M. GUINIER, Président

Correspondance. — Comme suite à la demande qui lui avait été faite, le Conseil de l'Université accorde à la Société des Sciences une subvention annuelle de 1.000 francs. M. Guinier se charge de transmettre à M. le Recteur les remerciements de la Société.

Une demande d'échange du Bulletin avec les *Acta Universitatis Voronejensis* (Russie) est acceptée.

Élections. — Après rapport de M. Guinier, la candidature de M. Bernard est soumise à l'assemblée ; M. Bernard est élu membre titulaire à l'unanimité des membres présents.

Communication

M. GUILLEMIN — *L'espèce et ses variations en zoologie; espèces, races, méteils, hybrides.*

Le Secrétaire annuel,

Pierre SIMON.

Séance du 12 Avril 1921

Présidence de M. GUINIER, Président

Le procès-verbal de la dernière séance est approuvé.

Demande de candidature. — M. Ch. Claire, de Rambervillers, présenté par MM. Lemasson et Godfrin. M. Lemasson, fera le rapport d'usage.

MM. Goury et Simonin s'excusent de ne pouvoir assister à la séance.

M. le Président annonce à la Société que la Caisse des Recherches scientifiques a accordé à la Société une subvention de 3.000 francs.

Communications

1^o M. GIRARDET : a) *Les ferments de la racine de Bryone.* (*Bryonia dioica*, Cucurbitacées.

b) *Appareil d'extraction continue pour laboratoires.*

2^o M. PELTIER- — « *Étude de certains risques de destruction des gros aéronefs, du seul fait des agents atmosphériques* ».

Séance du 31 Mai 1921

En l'absence du Président et du Vice-Président, la séance est présidée par M. GRÉLOR, secrétaire général.

1^o Rapport sur la candidature de M. Ch. Claire, de Rambervillers.

À la suite du rapport verbal de M. Lemasson, M. Ch. Claire est élu membre titulaire à l'unanimité.

2^o *Présentations de candidatures :*

a) M. Mentré, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de Nancy, présenté par MM. Vogt et Darmois.

b) M. le D^r J. Bénéch, présenté par MM. Godfrin et Grélot.

Communication

M. CORROY : « *Le néocomien en bordure orientale du Bassin de Paris* ».

L'auteur a entrepris depuis plusieurs années l'étude des temps géologiques intéressant les Bassins ferrugineux de Haute-Marne. Étendue au nord-est et au sud-ouest de cette région, c'est la coupe d'une partie de la cuvette parisienne qui est alors présentée (Ardennes, Meuse, Haute-Marne, Aube, Yonne, Cher).

Une documentation stratigraphique nouvelle, appuyée de faits paléontolo-

giques et biologiques concernant cette bordure, ont amené l'auteur à une coordination paléogéographique de l'Europe Septentrionale, rendue vivante par des tableaux de concordance et d'interprétation. La longue série des temps écoulés depuis le Jurassique jusqu'au Crétacé est révisée dans le détail des conceptions géologiques modernes.

Une partie tectonique enfin, souligne le grand intérêt de l'étude des plissements de l'écorce terrestre reliant les lignes structurales de la Lorraine aux régions nord du Bassin de Paris (Bray, Boulonnais, Angleterre). Les courbes de niveaux de certains toits d'étages, établies par l'auteur dans la Champagne et le Barrois, lui ont permis de suivre avec précision, le prolongement des Bassins Houillers de Lorraine dans la Direction du Pays de Bray : détail important pour l'installation des sondages entre Somme et Seine.



CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE

DE

Bacillus Le Monnieri Lasseur

INTRODUCTION

Nous avons isolé d'une eau de puits un Bacille fluorescent offrant la particularité d'être coloré naturellement en bleu. Cette Bactérie par certains de ses caractères peut être rapprochée de nombreux germes chromogènes connus, mais elle présente toujours, avec chacun des types considérés, des différences telles que nous croyons être en droit d'en faire une espèce nouvelle. L'un de nous, en 1912, lui a donné le nom de *Bacillus Le Monnieri* (1), la dédiant à notre vénéré maître, M. le Professeur G. LE MONNIER.

B. Le Monnieri secrète une matière colorante bleue. Cette substance imprègne les plastides bactériennes et se retrouve en outre précipitée dans les cultures sous forme d'une poudre amorphe ou cristalline. Indépendamment de ce colorant, la Bactérie donne encore naissance à des corps colorés solubles, rouges, jaunes ou violets.

B. Le Monnieri paraît donc devoir surtout exciter notre curiosité par son pouvoir chromogène. Or, quand on songe au nombre con-

(1) PH. LASSEUR. — Contribution à l'étude de « *B. Le Monnieri* » nov. spec. Comptes rendus de la Société de Biologie, t. LXXIV, p. 47.

sidérable de points restant à élucider dans le domaine des Bactéries pathogènes, on peut se demander si l'étude détaillée d'une Bactérie chromogène est justifiée. Elle l'est pour deux raisons :

1° L'élément microbien, la plastide est intéressante surtout par ses fonctions, par le mécanisme de ces dernières. En biologie, les facteurs d'actions sont si nombreux et si peu connus qu'il nous faut multiplier les expériences pour arriver à de premières approximations. Il est une fonction dont toutes les modifications se traduisent en sensations colorées directement appréciables et permettent de multiplier les essais expérimentaux : c'est la fonction chromogène.

2° La microbiologie a d'une part ses disciplines, d'autre part ses applications, médecines humaine et vétérinaire, industrie, agriculture, biologie. En tant que science la microbiologie peut utiliser le matériel qui lui convient sans se soucier des applications immédiates. Il suffit que le choix des faits à observer ne soit pas abandonné au hasard. Et de ce point de vue théorique, *B. Le Monnier* nous intéresse non seulement par son pouvoir chromogène mais encore par toute une série de problèmes biologiques que son étude a soulevés, assez souvent éclairés et parfois résolus.

Dans ce mémoire nous emploierons le terme de « *plastide* » et non celui de *cellule*, pour désigner l'élément bactérien. Le mot de *plastide* est pris dans l'acception précisée par M. P. VUILLEMIN en 1913. Nous pensons que l'on ne doit nommer du même nom que ce qui se ressemble afin de ne pas affirmer des analogies contestables ni d'enlever toute valeur à la généralisation.

Nous avons développé, de façon fort inégale, l'étude des principaux caractères de *B. Le Monnier*. D'autres auteurs auraient assigné un cadre, des limites différents à leur plan d'exposition. Cela tient à ce que chacun porte en soi le sens de l'harmonie du monde. Chacun choisit les faits les plus propres à mettre en relief l'idée qui lui est chère, mais, cette préoccupation instinctive et inavouée ne détourne pas de la recherche de la vérité. D'ailleurs, la « *meilleure expression de cette harmonie c'est : la LOI* ». C'est bien ce que pense M. le Professeur VUILLEMIN l'orsqu'il s'efforce de faire rentrer l'« *exception dans la règle* ».

Pénétrés, imprégnés des idées du Maître, nos efforts devaient

tendre à rechercher les analogies intimes des choses et non pas à enrichir la systématique d'une espèce nouvelle. Ainsi s'explique le luxe de détails avec lequel sera décrit tel phénomène secondaire au point de Bactériologique mais susceptible de généralisation en Biologie. Certes nous ne voulons pas, sans plus, transporter dans le domaine des Métazoaires ce que nous observons dans celui des Bactéries. Cependant c'est l'analogie avec ce qui est simple qui nous permettra de comprendre ce qui est complexe. Telle est du moins notre conception des faits.

MORPHOLOGIE

Nous étudierons la morphologie de *B. Le Monnieri* surtout en milieux chimiquement définis, le milieu synthétique II de LASSEUR étant le plus favorable à la végétation et à la chromogénèse de la Bactérie étudiée.

MILIEUX SYNTHÉTIQUES

Dimensions des plastides

Dans les cultures de 24 heures (à 20° C) *B. Le Monnieri* se présente sous l'aspect de bâtonnets droits ou très légèrement incurvés. Les extrémités sont arrondies, elles sont rarement effilées. (Pl. 1, fig. 1 et 2).

Les plastides mesurent de 1 μ ,4 à 2 μ ,8 de long sur 0 μ ,5 à 0 μ ,9 de large. Les dimensions les plus fréquemment observées sont de l'ordre de 2 μ pour la longueur et 0 μ ,5 pour la largeur. Les mesures ont été effectuées sur du matériel fixé au sublimé alcoolique, légèrement coloré au bleu de toluidine, puis monté au baume du Canada. Les valeurs obtenues avec des germes vivants sont différentes de celles que nous venons d'indiquer. GOTTHEIL (1901), NEPVEUX (1920) sont arrivés à des conclusions analogues dans leurs recherches sur *B. graveolens* et *B. Bruntzii* (1).

Variation des dimensions. — Ce que nous qualifions de « *taille normale* » d'un être vivant n'est autre chose qu'un état d'équilibre, au-delà duquel se produisent des phénomènes inévitables comme par exemple la division chez les organismes simples (BRACHET, 1917). A cet état d'équilibre correspond une relation simple entre la longueur et la largeur (diamètre du cylindre) des bâtonnets bactériens. A ce moment nous pouvons écrire :

$$\frac{L}{l} = K$$

L = longueur de la plastide.

l = largeur de la plastide.

(1) NEPVEUX. — Une nouvelle espèce chromogène des eaux *B. Bruntzii*, Thèse pharmacie Nancy, 1920, p. 26.

Mais l'état d'équilibre n'est valable que pour des conditions déterminées; si on fait varier les facteurs d'action dans des limites compatibles avec la vie de la Bactérie on devra déplacer l'équilibre (1).

Ainsi l'addition d'acide borique aux milieux nutritifs détermine l'allongement des plastides bactériennes, l'addition d'acide phénique produisant l'effet contraire.

GORSCHLICH (1912) schématise en disant que *dans le premier cas* : l'énergie de division étant amoindrie, l'énergie de croissance ne varie pas.

Dans le second cas : l'énergie de division ne subissant aucune modification, l'énergie de croissance diminue.

En réalité les formes anormales n'apparaissent pas dans les cultures à végétation très active, mais dans celles où la végétation est ralentie et la multiplication bactérienne diminuée.

Par suite, dans les deux exemples précités d'allongement ou de raccourcissement de la plastide bactérienne, la croissance est diminuée. L'énergie de division est inégalement affaiblie dans les deux cas. *Dans le premier cas la division ne s'effectue que lentement*, ce qui donne naissance aux formes filamenteuses; *dans le deuxième cas la vitesse de division augmente*, d'où la segmentation. Ces faits ne doivent pas plus nous surprendre que les phénomènes observés par LEHMANN (1904-1905-1907-1908) dans des cristaux désignés par lui comme étant « *doués de vie apparente* ».

Groupement ou Colonies élémentaires. — Le plus souvent les plastides sont isolées ou réunies en diplobacilles, mais il n'est pas rare d'observer de courtes chaînettes de 3 ou 4 éléments. Parfois les plastides sont groupées en amas irréguliers. Par contre, les essaims formés de Bacilles courts, de taille et d'aspect très réguliers, également distants les uns des autres, sont tout à fait exceptionnels.

En général, les divisions ne devancent donc pas l'isolement des éléments et il n'y a pas, à proprement parler, de colonies élémentaires caractéristiques.

Formes de repos. — Nous n'avons observé ni entospore, ni

(1) Comme on provoque le déplacement de l'équilibre en chimie par variation de pression ou de température.

arthrospore dans les cultures de *B. Le Monnier*. Toutes les plastides sont tuées par un chauffage de 10 minutes à 52° C.

Structure. — La structure de *B. Le Monnier* a été étudiée sur les plastides vivantes et sur les plastides fixées et colorées, c'est ce que nous avons résumé dans le tableau suivant :

FIXATION	COLORATION	AGE DES CULTURES
O.	O.	24 et 48 heures-72 h. -6 jours.
O.	Bleu toluidine	— — 72 h.
O.	Rouge neutre	24 heures.
Sublimé alcoolique.	Laque ferrugine et éosine	24 et 48 heures-72 h. 6 jours.
Liquide de Bouin	»	24 et 72 — — 6 —
Liquide de Perenyi.	»	— — — 6 —
Alcool.	May-Grünwald et Giemsa.	24 et 48 — — 6 —
Alcool.	Panchrome de Pappenheim	— — — 6 —
Formol acétique	Fuchisine, Formol	— — — 6 —

Nous n'avons jamais observé de noyaux vésiculeux. Les particules chromatiques, en nombre très variable, sont disséminées sans ordre. Rien n'éveille d'une façon précise l'idée de système chromidial. A certain stade *B. Le Monnier* présente un cytoplasme alvéolaire sans qu'on puisse distinguer de système réticulé. Les plastides étant, naturellement, délicatement colorées en bleu, l'examen sur le frais montre que l'aspect vacuolaire n'est pas dû à un artifice de préparation. De même la structure granuleuse du cytoplasme n'est pas l'apanage d'éléments bactériens plus ou moins altérés par les fixateurs, mais le propre des plastides vivantes. Sous l'influence de préoccupations physico-chimiques nous attachons une grande importance à la structure de l'élément vivant et, dans un autre mémoire, nous reviendrons sur ce point particulier.

MILIEUX USUELS. — **Gélose.** — Sur gélose, les plastides sont plus courtes et plus riches en grains métachromatiques que les éléments provenant de cultures effectuées en milieux synthétiques.

Les grains métachromatiques sont généralement logés dans de petites vacuoles. Parfois ils occupent une grande vacuole centrale ou polaire. (Pl. I, fig. 3, *a* et *b*). Dans le cas de vacuole centrale, et surtout lorsque l'on fait varier la mise au point, on évoque malgré soi les figures publiées par NAKANISHI. Il semble bien que cet auteur

ait considéré comme noyau la vacuole centrale de différentes plastides bactériennes.

Coloration par la méthode de Gram. — DURÉE DE DÉCOLORATION. — *B. Le Monnieri* ne prend pas le Gram.

Les bactériologistes divisent les Bactéries en deux groupes : les germes qui se décolorent et les germes qui restent colorés par la méthode de GRAM. En fait, toutes les Bactéries se décolorent, mais elles le font avec des vitesses différentes. Certains microorganismes sont décolorés en quelques secondes, d'autres exigent des minutes ou des heures. C'est ce qui découle d'ailleurs de l'examen du tableau suivant :

DÉSIGNATION DES GERMES	DURÉE DE DÉCOLORATION
<i>B. typhosus</i>	2 secondes (SCHMITT).
<i>B. pyocyaneus</i>	3 — (SCHMITT).
<i>B. chlororaphis</i>	4 — (LASSEUR).
<i>B. LE MONNIERI</i>	5 — (LASSEUR).
<i>B. sphaericus</i>	65 — (NEIDE).
<i>B. alvei</i>	6 minutes (SCHMITT).
<i>B. mesentericus fuscus</i>	21 — (SCHMITT).
<i>B. Megatherium</i>	33 — (SCHMITT).
<i>B. lactis</i>	90 — (NEIDE).

A l'expression de « prendre le Gram » il faut donc substituer celle de « durée de décoloration » (NEIDE, 1904, MEYER, 1911).

En négligeant de le faire, on arrive à des contradictions, d'une apparence déconcertante. C'est ainsi que *B. proteus vulgaris*, *B. pyocyaneus*, *NEISSERIA gonorrhœæ* ont été considérés tantôt comme des germes prenant le Gram, tantôt comme des microorganismes ne prenant pas le Gram.

Ce fait n'a rien qui doive nous surprendre. Pour nous en convaincre il suffit d'étudier les variations de la durée de décoloration de *B. Le Monnieri*.

Variation du temps de décoloration de B. Le MONNIERI*a) Avec la nature du colorant*

<i>CRISTAL VIOLET</i>	<i>VIOLET de GENTIANE</i>	<i>VIOLET de MÉTHYLE</i>
5 secondes	16 secondes	5 secondes

b) Avec la nature du décolorant

Alcool-acétone (Alcool à 98°) Alcool 2 + acétone 1	Alcool-acétone (Alcool à 80°) Alcool 2 + acétone 1	Alcool absolu	Alcool à 95°	Alcool à 80°
5 secondes	6 secondes	10 secondes	11 secondes	27 secondes

Suivant les conditions d'expérience la durée de décoloration de *B. Le Monnieri* varie donc dans le rapport de 1 à 5,4.

On conçoit dès lors que certains germes puissent être catalogués tantôt dans le groupe des Bactéries prenant le Gram, tantôt dans celui des germes qui se décolorent par cette méthode.

La résistance des plastides à la décoloration est fonction :

- 1° Des morphodes examinées (sporange, bâtonnets germinatifs, etc.)
- 2° Du milieu de culture ;
- 3° De l'épaisseur de la préparation lorsqu'il s'agit d'un milieu albumineux ou d'un liquide de l'organisme ;
- 4° Du mode de fixation ;
- 5° De la solution colorante (nature du colorant, concentration, âge de la solution, température de la coloration, durée de la coloration) ;
- 6° De la solution iodo-iodurée (IKI) (concentration, âge de la solution, durée d'action, température) ;
- 7° Du décolorant (alcool absolu, alcool à 95°, alcool à 80°, alcool-acétone).

Il ne suffit donc pas d'adopter le point de vue quantitatif, il faut encore préciser les conditions d'expérience.

MOTILITÉ

B. Le Monnieri est mobile, mais cette motilité présente des variations suivant la culture examinée. Sur gélose glucosée à eau de condensation abondante : la motilité est très vive.

Sur pomme de terre glycinée : la motilité est assez vive.

Sur milieu II de LASSEUR : les éléments du voile sont peu ou pas mobiles, mais les éléments du liquide offrent une grande motilité.

La caféine, le bichromate, l'acide borique tant qu'ils ne s'opposent pas au développement de la Bactérie exaltent la motilité. Ce fait est particulièrement net pour l'acide borique. Les Bactéries cultivées en présence d'acide borique, puis transportées en milieu II dépourvu d'antiseptique, offrent une motilité supérieure à celles des Bactéries provenant de souches développées en milieu non boriqué.

Au point de vue de la vitesse de déplacement, les éléments issus de cultures boriquées présentent une motilité comparable à celle des jeunes plastides de Bacille typhique.

La motilité consiste en un mouvement de rotation et en un mouvement de translation. Le mouvement de rotation se complique souvent du mouvement en entonnoir décrit par REICHERT (1909) et BUTSCHLI. Dans ce cas, la plastide bactérienne, en tournant ne reste pas dans la ligne de progression, elle s'en écarte quelque peu latéralement. D'autres fois la plastide exécute sur place des rotations rapides autour de son petit axe. Le mouvement de translation est souvent ce mouvement saccadé, qui est le propre des *Monotriches*. Dans d'autres conditions le mouvement de progression est beaucoup plus lent, il rappelle les oscillations du Bacille typhique.

Parfois la plastide effectue une rotation rapide autour du fouet polaire pris comme axe.

Fouets. — *B. Le Monnieri* nous est apparu comme un micro-organisme doué de mouvement propre. Or les Bactéries ne répondent ni à la caractéristique des végétaux ni à celle des animaux. Par suite, le mouvement chez *B. Le Monnieri* ne peut-être attribué qu'à des fouets moteurs et non à une membrane contractile. C'est l'histoire de ces fouets que nous allons résumer brièvement.

Technique. — Nous avons utilisé des cultures sur gélose glucosée (1) âgées de 24 à 48 heures.

Pour la fixation et l'imprégnation argentique nous avons suivi la technique indiquée par l'un de nous en 1915 (LASSEUR). Afin de ne pas transformer les plastides en masses noires uniformes d'où partent de petites baguettes sombres, il faut utiliser des solutions d'argent diluées et ne pas dépasser la température de 37° C. C'est à ces conditions que l'on obtient des colorations électives.

Position des fouets. — Les fouets sont fixés à un seul pôle. (Pl. II, fig. 1 et 2). Quelques plastides paraissent pourvues de fouets aux deux pôles. Un examen plus approfondi de ces éléments anormaux montre une cloison transversale les divisant en deux plastides munies de fouets aux pôles libres (Pl. II, fig. 2 a).

Nombre de fouets. — 70 % des plastides sont monotriches, 30 % possèdent deux fouets. Les plastides à 3 ou 4 fouets correspondent à des artifices de préparation.

Longueur des fouets et nombre de spires. — Lorsque les fouets ont été fixés convenablement, c'est-à-dire surpris bien vivants par le fixateur, les fouets sont très ondulés. (Pl. II, fig. 1, a et 2, b). Si la fixation ne s'est effectuée qu'après la mort, les fouets sont peu ondulés ou presque rectilignes (Pl. II, fig. 2 c).

Ces constatations sont d'ordre général; elles sont valables pour l'immense majorité des Bactéries ainsi que nous le verrons dans un travail d'ensemble sur les fouets des Bactéries.

L'aspect des fouets varie encore avec le mode d'imprégnation. Les méthodes rapides montrent des fouets courts, trapus, peu ou pas ondulés, de 0 à 2 spires. Avec les imprégnations lentes on obtient des fouets fins, déliés, à 3 ou 4 spires régulières.

La longueur des fouets est fonction, elle aussi, des modes de fixation et d'imprégnation. Cette longueur oscille entre 3 et 5,5 μ . Dans les bonnes préparations les fouets mesurent de 4 à 5,5 μ de long.

Le diamètre des fouets imprégnés ne dépasse pas 0,125 il est souvent notablement inférieur à cette valeur. C'est un point que nous développerons dans un travail ultérieur ainsi que tous les artifices de préparations représentés dans la Planche II, figure 1.

(1) A eau de condensation très abondante.

CARACTÈRES DE CULTURE

CULTURES SUR MILIEUX SOLIDES

Gélatine. — VALEUR DES CARACTÈRES DES CULTURES SUR GÉLATINE. — La découverte de *B. Le Monnieri* est due à sa superbe coloration bleue (Pl. IV, fig. 1, 2 et 3), tranchant nettement sur le fond du milieu nutritif. La colonie primitive fut réensemencée sur milieux usuels, puis ce qui restait de cette colonie initiale fut émulsionné dans de l'eau physiologique stérile. Avant d'être ensemencée sur plaque de gélatine cette émulsion mère fut diluée de façon convenable afin d'obtenir des colonies parfaitement isolées. Dans les nombreux passages sur gélatine que nous avons exécutés, nous nous sommes toujours adressés aux colonies les plus colorées comme matériel d'ensemencement. Nous avons admis que l'intensité de la coloration des colonies était fonction de leur pureté. Certes, cette hypothèse vraisemblable n'est nullement démontrée. Nous savons tous avec quelle facilité apparaissent les races achromogènes dans une espèce bactérienne. Mais l'impureté des colonies nous a paru jouer un rôle beaucoup plus important que celui qu'on lui attribue habituellement. En effet, en principe on admet qu'une colonie dérive d'un seul germe initial. Dans les expériences utilisant des techniques, comme celle de BURRI, de BARBER par exemple, il est possible, dans une certaine mesure d'affirmer que les choses se passent bien ainsi. Mais, dans les isollements effectués en utilisant les méthodes classiques, rien ne prouve que la colonie obtenue dérive d'une seule plastide bactérienne. Ce fait était de notion courante il y a vingt ans. Mais la Bactériologie clinique obtint, dans la plupart des cas, des résultats satisfaisants à l'aide de méthodes simplifiées. Et peu à peu, on accorda de moins en moins d'importance à l'isolement des germes. Un matériel infectieux en culture impure était-il susceptible de donner, par ensemencement en strie sur milieu solide, des colonies isolées ? Les colonies étaient

réputées comme ne renfermant qu'un seul germe microbien et la culture obtenue en partant de ces colonies était considérée comme culture pure. C'est en partant de semblables cultures qu'on a découvert une plasticité extraordinaire à l'espèce microbienne et assigné à la variabilité des limites très étendues en Bactériologie. Nous sommes convaincus de l'existence de cette variabilité, mais aussi de l'impureté de la culture mise en œuvre comme facteur de la pseudo-variation dans de multiples cas. Nous nous proposons, d'ailleurs, d'aborder cette question dans un autre travail, nous nous contentons aujourd'hui de signaler l'importance du fait pour justifier les descriptions des colonies après plusieurs séries de purifications.

En effet, les premiers bactériologistes attachaient une importance primordiale aux caractères sur gélatine. On s'aperçut rapidement que l'aspect de la colonie variait dans une certaine limite avec la composition du milieu gélatiné. C'est ainsi que le même germe pouvait liquéfier abondamment, ramollir seulement ou n'avoir aucune action de ce genre sur le substratum gélatiné suivant la concentration en gélatine, la température de culture, etc... L'éclat de la bactériologie clinique rejeta peu à peu dans l'ombre l'étude de la Microbiologie générale. En Bactériologie clinique, le but poursuivi est avant tout d'obtenir des résultats rapides. Aussi, aux méthodes exigeant des jours et des semaines d'expériences se substituèrent des procédés basés sur la fermentation et sur les réactions anticorps, méthodes qui permettent d'obtenir une identification rapide des germes.

Par suite, les cultures sur gélatine se firent de plus en plus rares, c'est regrettable, car, dans de nombreux cas, la culture sur milieu gélatiné permet de confirmer ou d'infirmer un diagnostic provisoire qui ne satisfait pas pleinement la clinique.

Ainsi se trouve expliqué le luxe de détails avec lequel nous allons décrire les caractères des colonies de *B. Le Monnieri* sur milieu gélatiné.

COLONIES DE *B. LE MONNIERI*

Colonies Superficielles. — CARACTÉRISTIQUES PRINCIPALES DES COLONIES. — Avant d'étudier en détail les colonies sur gélatine de *B. Le Monnieri*, indiquons brièvement les caractéristiques de ces colonies.

Ce sont des colonies arrondies de 1 à 8 m/m de diamètre à centre bleu (Pl. IV, fig. 3). En allant du centre vers la périphérie, on rencontre successivement une partie centrale bleue, une zone granuleuse jaune ou verdâtre bordant immédiatement le centre, une zone liquéfiée incolore, puis une zone de gélatine colorée en vert ou en jaune verdâtre par la diffusion du pigment dans les parties voisines de la colonie, la figure 1, planche III, indique schématiquement la succession des différentes zones.

ASPECT DES COLONIES APRÈS UN PASSAGE SUR GÉLATINE. — L'ensemencement a été effectué sur bouillon gélatiné à 10 % et glucosé à 1 %. Les cultures ont été abandonnées à la température du Laboratoire (20 décembre 1911).

Après dix jours, les colonies offrent l'aspect suivant : Colonie bleue ou bleu très foncé, surélevée, arrondie, à bord entier ne présentant aucune liquéfaction.

A un grossissement de 50 diamètres, on perçoit un centre bleu foncé, souvent bleu de Prusse, sans aucune différenciation, sauf quelques cristaux, bordé d'une zone bleu clair ou vert, granuleuse, et à l'extérieur une zone jaunâtre. (Pl. IV, fig. 3).

ASPECT DES COLONIES APRÈS QUATRE PASSAGES SUR GÉLATINE. — Après quatre passages sur plaque de gélatine (gélatine 15 % glucose 1 %), à la température du laboratoire, température variant entre 11° et 16° centigrades, on observe deux sortes de colonies, les unes vertes, les autres bleues.

Les colonies vertes sont les plus nombreuses, elles mesurent de 1, 5 m/m à 2 m/m , elles sont visqueuses, surélevées ; à la périphérie existe toujours une zone plus ou moins régulière de diffusion verte dans le substratum. En vieillissant, les cultures s'élèvent de plus en plus au-dessus du niveau de la gélatine et deviennent sphériques. Dans les cultures de dix jours, on note une légère dépression périphérique, ce qui leur donne l'aspect d'une perle verte. Si on triture sur place une de ces colonies vertes de façon à réaliser une oxydation, la coloration passe du vert au bleu ; on obtient le même résultat avec des oxydations ménagées.

Il est à remarquer qu'avec la légère dépression entourant la colonie, nous voyons apparaître, l'ébauche du pouvoir protéolytique de *B. Le Monnieri*.

Les colonies bleues sont plus petites. Elles mesurent environ 1 m/m de diamètre, elles sont plates ou très légèrement surélevées.

Leur coloration centrale varie du bleu clair au bleu de Prusse, autour de ce noyau central existe une zone blanche ou grisâtre.

ASPECT DES COLONIES APRÈS CINQ PASSAGES SUR PLAQUE DE GÉLATINE. — Les colonies développées à la température de 20° montrent un centre bleu entouré d'une zone jaunâtre ou verdâtre granuleuse, entourée elle-même d'une zone liquéfiée blanc grisâtre et finalement de la zone jaune verdâtre de diffusion du pigment fluorescent.

La zone de liquéfaction ne s'observe que dans les cultures développées à la température du 20°, les cultures développées à 14 - 15° ne montrant aucune tendance à liquéfier la gélatine. Toutefois, le caractère liquéfiant de l'espèce microbienne s'accuse de plus en plus.

ASPECT DES COLONIES APRÈS SIX PASSAGES SUR PLAQUE DE GÉLATINE. — Soit un an (décembre 1912) après le premier passage (gélatine 15 % et glucose 1 %).

Culture de 8 jours à 18-20° centigrades.

Examen macroscopique. — Colonie de 2,5^m/_m à 3^m/_m de diamètre.

Autour du centre bleu se trouve une zone liquéfiée jaunâtre à l'intérieur de laquelle cheminent des prolongements bleus, issus de la portion centrale et modifiant en teinte vert pâle l'aspect de cette zone liquéfiée.

Examen microscopique. — (Grossissement de 50 diamètres). Le centre de la colonie a une couleur variant du bleu de Prusse au brun, il est bordé d'une zone bleu clair à laquelle fait suite une zone d'un bleu plus accusé. De cette dernière partent des prolongements se dirigeant dans la partie liquifiée.

Dans d'autres cas, on distingue 3 zones : une zone centrale jaune (Pl. IV, fig. 3) avec des punctuations bleues formées de cristaux bleus isolés ou groupés en arborescences, qu'il est possible de déceler en employant un grossissement suffisant, puis une zone annulaire d'un bleu intense entourée d'une zone moins foncée et, englobant le tout, une zone vert pâle correspondant à la partie liquifiée.

La liquéfaction de la gélatine étant très nette, nous assistons donc à l'apparition progressive d'un caractère paraissant faire complètement défaut dans la colonie primitive et les premières cultures.

Avant d'interpréter ces faits, il faut encore faire appel à l'expérience.

ASPECT DES COLONIES APRÈS HUIT PASSAGES SUR PLAQUE DE GÉLATINE. — Dans les descriptions précédentes, nous nous sommes surtout attachés à mettre en relief l'apparition du pouvoir liquéfiant du germe étudié et, pour simplifier l'exposé, nous avons négligé de décrire les différents stades de la colonie. Nous allons donc étudier maintenant les variations d'aspect avec l'âge de la culture.

CULTURE SUR GÉLATINE 10 %, GLUCOSÉE A 1 %. — Température du Laboratoire 16 à 20° C.

3^e jour. — Au bout de trois jours, l'examen d'une plaque de gélatine ensemencée montre deux catégories de colonies, les unes bleu clair, les autres jaune verdâtre.

Examinées sur fond blanc, les deux catégories de colonies montrent à la périphérie une zone irrégulière jaune verdâtre de pigment diffusant dans la gélatine.

4^e jour. — Le nombre des colonies bleues augmente, celui des colonies jaune verdâtre diminue, cela tient à ce que ces dernières se transforment progressivement en colonies bleues.

5^e jour. — Progression constante des colonies bleues, elles mesurent de 2 à 4 ^m/_m. Les colonies mesurant 2 ^m/_m sont les plus nombreuses.

10^e jour. — Habituellement les colonies ont toutes pris la coloration bleue, mais parfois un nombre plus ou moins grand de colonies conserve la coloration jaune vert. Les colonies jaune vert sont bombées, sphériques avec cupule de liquéfaction faible ou nulle; les colonies bleues, au contraire, présentent toujours une zone de liquéfaction très nette et très marquée.

Au premier abord, on serait tenté d'admettre deux types de colonies entièrement différents, en réalité ce sont deux stades successifs de l'évolution d'une même colonie.

Pour des raisons que nous indiquerons ultérieurement, le stade colonie verte est parfois très court et la colonie bleue fait d'emblée son apparition. Dans d'autres cas, au contraire, le stade vert persiste et se maintient.

Coloration exceptionnelle. — A trois reprises, dans le courant de l'hiver 1913-1914 alors que la température du laboratoire descendait la nuit à + 6° pour remonter rarement le soir à + 16° + 17°, le développement sur plaque fut extrêmement lent. Les colonies ne

se présentaient plus que sous forme d'un petit noyau bleu occupant environ le $\frac{1}{3}$ de la surface végétative, le reste prenait une coloration brune uniforme. Malgré l'abaissement de température la liquéfaction s'est poursuivie normalement.

Structure de la Colonie. — Nous avons examiné les différentes colorations présentées par les colonies de *B. Le Monnier*, passons maintenant à l'étude de leur structure.

Cette structure n'offre un intérêt que dans les premiers jours du développement jusqu'au moment où apparaît la liquéfaction du substratum nutritif. Si, pour une cause quelconque : température, concentration de la gélatine, etc., la progression de la liquéfaction est ralentie, les caractères initiaux des colonies se maintiennent plus longtemps.

Lorsque l'on examine à un grossissement de 50 diamètres, une colonie de 4 à 5 jours, on est immédiatement frappé par son aspect imbriqué que nous avons schématisé dans la Planche I, figure 4.

Dans les colonies de 3 à 4 $\frac{m}{m}$, on compte aisément 8 à 10 zones concentriques.

Au début, la colonie imbriquée a tendance à s'élever au-dessus du substratum, à ce moment il n'y a aucune liquéfaction ; mais dès que cette dernière apparaît la colonie prend un aspect plus ou moins sphérique, les bords étant en quelque sorte ramenés vers le centre et, à un stade plus avancé de la liquéfaction, l'édifice s'écroule donnant naissance à une colonie plate.

A mesure que progresse la liquéfaction, l'aspect imbriqué perd de sa netteté, et on obtient l'image représentée dans la figure 2 de la Planche III.

La structure imbriquée fut surtout très nette et très belle à partir de janvier 1913, ce qui permet de supposer que ce caractère s'est développé par les passages successifs sur milieux gélatinés.

Nous avons fait remarquer que la progression de la liquéfaction faisait peu à peu disparaître l'aspect imbriqué, la colonie s'écroulant dans la gélatine liquéfiée, mais ses bords présentent encore pendant longtemps l'aspect en palissade, c'est ce que l'on observe dans la Planche I, figure 5, représentant une colonie de 15 jours à liquéfaction peu rapide. Mais peu à peu les bords perdent leur régularité et arrivent à se fondre insensiblement dans la partie liquide.

Polymorphisme des Colonies et variations. — Les

modifications observées dans l'aspect des colonies constitueraient de beaux types pour les partisans de la variabilité à l'extrême. En effet, au quatrième passage on constate deux catégories de colonies : les une vertes, bombées ou sphériques, les autres bleues, aplaties.

De plus, les colonies vertes sont constituées par des Bacilles de plus grande taille que ceux provenant des colonies bleues ; on aurait donc affaire à deux races du même germe. Malheureusement, l'ensemencement des colonies soit vertes, soit bleues redonne rigoureusement le même type non seulement quant à la forme de la plastide bactérienne, mais encore en ce qui regarde l'ensemble de ses propriétés biologiques.

Cet exemple montre qu'on doit se garder de conclusions trop hâtives dans la question de la variation.

Facteurs déterminant la forme des Colonies. — La forme des colonies de *B. Le Monnieri* varie avec : la concentration en gélatine, en peptone, en glucose, la nature de la gélatine et de la peptone utilisées, la réaction du milieu, la température de culture, et enfin l'épaisseur de la couche de gélatine.

Ce dernier point est facilement mis en évidence en inclinant, au moment de la solidification, la boîte de Pétri de façon que la couche nutritive varie par exemple de 0, 5 m/m à 10 m/m . Il n'est même pas nécessaire d'avoir recours à cet artifice, la surface du fond des boîtes de Pétri est rarement plane, elle offre le plus souvent une convexité tournée vers le haut, de sorte qu'en utilisant une faible quantité de gélatine on aura une épaisseur diminuant progressive-ment de la périphérie vers le centre. C'est dans cette région médiane que l'on rencontre les plus grandes colonies, celles qui prennent le plus rapidement la teinte bleu de Prusse. Dans les régions extrêmes où la couche de gélatine atteint de 4 à 10 m/m , les colonies s'accroissent en profondeur au lieu de s'étaler en surface, le diamètre n'augmente que très lentement et la teinte bleue est d'apparition plus tardive. Ce que nous résumons de la façon suivante :

GÉLATINE	
FORTE ÉPAISSEUR	FAIBLE ÉPAISSEUR
Colonies petites profondes, jaune verdâtre ou vertes	Colonies grandes superficielles, bleu de Prusse

Comment interpréter ces résultats ?

1° Le dimorphisme est dû à la différence des quantités d'éléments nutritifs mis à la disposition des Bactéries dans les deux cas. Cette hypothèse doit être rejetée, car la couche de gélatine la moins épaisse renferme une quantité d'aliments bien supérieure à celle qu'exigerait le développement normal de la Bactérie. En effet, *B. Le Monnier* et, en général, tous les germes microbiens peuvent se multiplier activement dans les milieux infiniment moins riches en éléments nutritifs que ceux utilisés habituellement en microbiologie. Ainsi, soit une solution peptonée à 1 % dont la concentration est C. A l'aide de cette solution faisons des solutions de concentration $\frac{C}{2}$ $\frac{C}{4}$ $\frac{C}{8}$ $\frac{C}{128}$ que nous ensemençons avec *B. Le Monnier*. Nous constaterons que dans la solution $\frac{C}{128}$ les germes sont encore vivants après 30 et même 60 jours.

2° C'est à la synérèse qu'il faut vraisemblablement attribuer en dernière analyse le dimorphisme des colonies. D'une part, on connaît l'adhésion de la gélatine à la surface du verre. Cette attraction du verre pour les molécules de gélatine détermine dans la gelée des tensions de valeur variable. Les couches de gélatine voisines du verre seront plus influencées que les couches qui en seront éloignées de 8 à 10 $\frac{m}{m}$.

D'autre part, JACOBSEN (1907) a montré que la forme des colonies microbiennes est fonction des tensions réalisées à l'intérieur de la gélatine. Or, dans les expériences effectuées sur *B. Le Monnier* l'épaisseur de la gélatine allant en décroissant, les tensions déterminées à l'intérieur du gel seront variables et, par suite, les colonies devront offrir des aspects différents, C'est ce que l'expérience vérifie.

L'explication la plus plausible de l'hypothèse de JACOBSEN se retrouve dans le travaux de QUINCKE. Cet auteur a montré que les solutions chaudes de gélatine donnent par refroidissement une gelée monoréfringente. Cette gelée soumise à la flexion devient biréfringente. Comme pour le verre fléchi la biréfringence sera positive dans les régions dilatées, et négative dans les régions comprimées.

Colonies profondes. --- Les colonies profondes, au boât de 5 jours, se présentent sous forme de petits points jaune brunâtre. En général ces colonies mesurent 0 $\frac{m}{m}$ 5 de diamètre.

CULTURE EN PIQÛRE

Gélatine peptonée glucosée. — Au début, culture en clou avec très faible développement dans le canal d'inoculation.

Au bout de 4 à 6 jours on observe une cupule de liquéfaction de 3 à 5 ^m/_m de profondeur, de 8 à 12 ^m/_m dans son plus grand diamètre et de 3 à 4 ^m/_m d'ouverture à la surface du milieu.

Le fond de la cupule est tapissé d'un enduit bleu brillant. Dans le canal d'inoculation, la végétation est extrêmement réduite. Après un mois, la gélatine se liquéfie sur une hauteur d'environ 10 ^m/_m, c'est la liquéfaction par tranche. Ce fait s'explique aisément parce que la liquéfaction a tendance à se produire plus particulièrement dans le sens du plus grand diamètre de la cupule et au bout d'un certain temps on a l'impression de la liquéfaction par tranche.

Gélatine peptonée non glucosée. — En l'absence de glucose la liquéfaction est bien plus rapide qu'en présence de cet hydrate de carbone, mais on n'observe aucune production de matière colorante bleue.

FACTEURS INTERVENANT DANS LA LIQUÉFACTION DE LA GÉLATINE. —

La liquéfaction de la gélatine est sous la dépendance de nombreux facteurs :

Présence ou absence d'aliment hydrocarboné,

Concentration de la gélatine,

Température à laquelle est portée la gélatine lors de la préparation du milieu,

Température à laquelle est effectuée la culture,

Réaction du milieu. (1)

L'influence de l'hydrate de carbone sur la liquéfaction de la gélatine découlait naturellement des travaux de A. KENDALL et CH. I. FARMER (1911-1912). Ces auteurs ont montré, en effet, que lorsque les Bactéries se trouvent à la fois en présence d'hydrates de carbone

(1) E. DUCLAUX a montré (1898) que « la gélatine chauffée en milieu trop alcalin, est attaquée, et ne fait plus prise en se refroidissant ». Mais ce mécanisme n'a été précisé qu'assez récemment et grâce, en particulier, aux belles recherches de J. LOEB. Le gonflement de la gélatine et son optimum de prise en masse varie avec la concentration en ions. Le rôle des ions H a été très bien étudié et aujourd'hui on admet que le point de solidification d'une solution de gélatine est fonction du Ph du système.

et de protéines, tous deux assimilables, elles s'attaquent de préférence aux hydrates de carbone tout en détruisant la quantité de protéine nécessaire à leur nutrition. Dans le cas de *B. Le Monnier*, le germe, s'attaquant de préférence au glucose, ne transforme qu'une faible quantité de gélatine.

On peut se rendre compte de l'influence des deux facteurs d'action par l'expérience suivante :

On prépare deux litres de bouillon de viande :

L'un, que nous appellerons A, est gélatiné à 1,5 % glucosé à 2 % et, après ensemencement, placé à la température de 14° - 16°.

L'autre, que nous appellerons B, est gélatiné à 10 % ensemencé et placé aux températures de 14° - 16° - 18° - 20°. La culture A pousse en forme de clou, sans trace de liquéfaction même après un mois, tandis que la culture B montre déjà après 4 jours une grande cupule de liquéfaction.

Gélose. — Température 22° - 25° Centigrades.

GÉLOSE-BOUILLON. — Culture visqueuse, grisâtre. Pas de matière colorante bleue, mais fluorescence visible surtout les premiers jours.

GÉLOSE-BOUILLON GLUCOSÉE. — Pas de matière colorante bleue, mais fluorescence.

GÉLOSE ASPARAGINÉE. — (Composition donnée par LASSEUR en 1911). Culture en stries. Après 48 heures : stries luisantes bleu de Prusse ; vers le 4^e jour, l'enduit bleu a envahi toute la surface.

Pomme de Terre. — Température 22° Cent. - 25° Cent. —

1° POMME DE TERRE GLYCÉRINÉE. — Vers le 3^e ou le 4^e jour, la culture a envahi les 3/4 ou les 4/5 du tubercule. A ce moment la plus grande partie du substratum est de coloration bleu de Prusse avec souvent un aspect métallique. (Pl. IV, fig. 2.) Dans les portions les moins aérées le tubercule est fortement coloré en rouge vineux ou violacé. Coloration voisine de la teinte 566 du Code des couleurs. D'autres points sont colorés en jaune ou vert, le vert étant le résultat du mélange de bleu et de jaune, c'est plus généralement la partie supérieure de la pomme de terre qui prend cette teinte qui se rapproche de la teinte 351 du Code des couleurs.

La coloration est toute superficielle, elle ne gagne jamais en profondeur.

2° POMME DE TERRE NON GLYCÉRINÉE. — Suivant la semence et les variétés de pommes de terre utilisées, on obtient soit une coloration bleu ciel avec culture peu développée, soit un enduit visqueux jaunâtre avec légère coloration bleu ciel du coton supportant le tubercule.

3° POMME DE TERRE GLYCÉRINÉE, PRÉALABLEMENT IMMERGÉE DANS UNE SOLUTION DE SOUDE A 0,25 %. — Le développement est moins abondant que sur pomme de terre glycinée, la production du pigment est plus faible.

Certaines cultures ont un aspect général gris bleuâtre avec quelques points bleus. Le pigment vert et jaune peut aussi se manifester. Le tubercule n'est jamais coloré en bleu indigo ainsi que cela s'observe dans les cultures du Bacille polychrome de Thiry.

Artichaut. — *B. Le Monnier* se développe très bien sur artichaut. Vers le 2^e ou le 3^e jour, on constate un enduit bleu, vers le 5^e jour tout l'artichaut est bleu verdâtre ; le coton humide, qui, dans le fond du tube, supporte l'artichaut, est lui-même coloré en bleu.

Non seulement le Bacille secrète son pigment bleu, mais il verdit aussi l'artichaut. On le démontre aisément en débarrassant l'artichaut de son enduit microbien et en le traitant par l'eau, on filtre, on obtient une solution vert bleuâtre, qui vire au vert pré par l'ammoniaque et au rouge vineux par l'acide chlorhydrique : réaction du chromogène de ROGER.

Sérum. — Sérum coagulé (sérum de Bœuf, sérum de Cheval). Culture blanc grisâtre, pas de coloration, pas de liquéfaction, même après 30 jours.

Albumine d'œuf coagulée. — TECHNIQUE DE GRIMBERT. — Les cubes d'albumine coagulée ne subissent aucune modification. Pas de matière colorante bleue.

CULTURES EN MILIEUX LIQUIDES

Milieux non chimiquement définis. — BOUILLON. — En bouillon ordinaire, en bouillon glucosé, en solution de peptone, en solution de peptone glucosée, *B. Le Monnier* trouble uniformément la masse liquide dans les 24 heures qui suivent l'ensemencement. A la surface libre du liquide apparaît une mince pellicule.

Vers le 3^e jour, on observe un dépôt au fond du tube, lorsqu'on agite le dépôt on a l'image d'algues flottantes que fait vibrer l'eau courante. Dans aucun cas, on n'observe la production de matière colorante.

Indol. — La recherche de l'Indol a été effectuée en solution de :

1^o Peptone Defrésne 3 ‰.

2^o Peptone Defrésne 3 ‰, plus phosphate de potassium 0 gr. 5.

3^o Peptone Defrésne 3 ‰, plus phosphate de potassium 0 gr. 5, plus sulfate de magnésium 0 gr. 5.

4^o Peptone Chapoteaut.

5^e Peptone Byla.

La recherche de l'Indol par la para-diméthyl-amido-benzaldéhyde a été négative dans les cultures effectuées à 20 - 25° et âgées de 1 à 15 jours.

Dans les cultures témoins de Colibacille la réaction d'Ehrlich était positive et même très intense.

Lait. — Température de culture, 20° cent. - 25° cent. — LAIT COMPLET EN TUBE OU BALLON. — Après 48 heures la partie supérieure du lait est recouverte d'un voile vert (jaune de la crème + bleu du pigment) au niveau des parois la coloration est nettement bleue. Vers le 4^e jour, au-dessous de la couche crémeuse apparaît une zone limpide jaune ou jaune roux, qui va en augmentant, si bien que dans les cultures de 17 jours en tube à essai, il ne reste plus qu'un faible culot de la masse liquide primitive non transformé. Il y a eu peptonisation de la caséine, mais il a été impossible de saisir une coagulation préalable. Une coagulation éphémère, reversible aurait pu passer inaperçue. Mais nous ne croyons pas qu'il en soit ainsi. Le rôle qu'on a voulu faire jouer à la coagulation dans des phénomènes analogues nous paraît singulièrement exagéré.

D'ailleurs, s'il y avait coagulation, elle ne pourrait être imputée à l'acidification du milieu car, en général, le lactose est peu attaqué et même, dans les cultures où il est attaqué, l'acidité du milieu diminue par suite de la dislocation des albuminoïdes. C'est ce que démontrent les nombres suivants :

Première série

	TÉMOIN	CULTURES DE 15 JOURS		
		A	B	C
Lactose ‰	45 gr. 60	44 gr. 06	44 gr. 36	43 gr. 76

Deuxième série

	TÉMOIN	CULTURES DE 27 JOURS	
		D	E
Lactose ‰	40 gr. 16	38 gr. 24	38 gr. 15
Acidité	1 gr. 610	0 gr. 340	0 gr. 090

Troisième série

	TÉMOIN	CULTURES DE 20 JOURS	
		F	G
Lactose ‰	47 gr. 25	47 gr. 10	47 gr. 05

L'examen du tableau suivant montre que la peptonisation de la caséine est très importante.

	TÉMOIN	CULTURES DE 27 JOURS		
		A	B	C
Caséine ‰	39 gr. 05	17 gr. 55	16 gr. 43	14 gr. 12

Cultures anormales. -- Dans une série, certaines cultures sont devenues fortement fluorescentes par addition d'ammoniaque, ce qui

est impossible à réaliser avec les cultures normales. Dans ces cultures fluorescentes l'acidité s'était considérablement élevée et parallèlement une partie du lactose avait disparu ainsi qu'en témoignaient les dosages ci-dessous.

	TÉMOIN	CULTURES FLUORESCENTES		
		A	B	C
Lactose ‰ . . .	45 gr. 74	37 gr. 04	33 gr. 52	35 gr. 61

Sur plus de cent ballonsensemencés durant deux ans, cinq seulement ont montré une belle fluorescence coïncidant avec une attaque notable du lactose. Comment peut-on interpréter ces faits? Les partisans d'une variation illimitée trouveront là un argument en faveur de leur thèse. Par culture sur lait, *B. Le Monnier* aurait donné naissance à une race nouvelle capable de faire fermenter le sucre de lait. Cette hypothèse paraîtrait d'autant plus plausible que des recherches, aussi nombreuses, que variées, ont montré que des microorganismes peuvent se contenter d'aliments auxquels ils ne s'attaquent pas habituellement. On peut tout aussi bien admettre que la souche initiale était formée d'au moins deux races R + et R —. La race R + faisait fermenter le lactose tandis que R — était sans action sur le sucre de lait.

Une hypothèse beaucoup plus simple est celle de la contamination accidentelle des cinq cultures. Le fait n'est nullement impossible, car à cette époque *B. chlororaphis*, *B. pyocyaneus*, *B. fluorescens liquefaciens*, etc... étaient cultivés en grande quantité au Laboratoire en vue de l'extraction de la substance fluorescente. Quelles que soient les précautions prises pour ensemercer *B. Le Monnier* on n'est donc pas certain de s'être mis à l'abri de toute contamination. Ce qui plaide beaucoup en faveur de cette dernière hypothèse c'est qu'il n'a pas été possible ultérieurement d'obtenir des souches faisant fermenter le lactose.

Action sur les Nitrates. — Toutes les Bactéries fluorescentes sont généralement dénitrifiantes. Il devenait intéressant de s'assurer si *B. Le Monnier* était susceptible d'attaquer les nitrates alcalins. Dans ce but, des solutions de peptone à 2 ‰, additionnées de 1 ‰ de nitrate de potasse furentensemencées avec *B. Le*

Monnieri. Afin d'établir le bilan de la fermentation, nous avons suivi la technique classique de GRIMBERT (1903-1909). Il résulte de ces recherches que *B. Le Monnieri* réduit les nitrates en nitrites. Dans le tableau suivant, sont résumées les expériences ayant porté sur deux souches différentes :

Cultures âgées de 7 jours

	A	B
Nitrate existant avant l'expérience.	1 gr. 000	1 gr. 000
Nitrate détruit	0 . 750	0 . 370
Nitrite formé.	0 . 120	0 . 070

L'action de *B. Le Monnieri* peut dépasser la transformation en nitrite et aller jusqu'à la décomposition complète du nitrate avec dégagement d'azote.

Dans la technique de GRIMBERT, les quantités d'oxygène libre mises à la disposition de la bactérie sont très faibles, la végétation en soufre, elle est très pénible et irrégulière, aussi constate-t-on de grandes variations dans les volumes d'azote dégagés par chaque culture, comme le mettent en relief les nombres ci-dessous :

Volume d'azote dégagé après 7 jours

Culture A	91 cmc.
— B	79 . 8
— C	36 . 4
— D	18 . 7

Outre la production d'azote, on observe un faible dégagement d'acide carbonique, ce dernier gaz n'est pas absorbé entièrement par la potasse pour donner du bicarbonate de potasse.

Proportions d'azote et de gaz carbonique dégagés.

	Culture C	Culture D
Azote	36 cmc. 4	18 cmc. 7
Gaz carbonique.	6 . 7	4 . 9

B. Le Monnieri est donc un dénitrifiant direct au même titre que *B. pyocyaneus*, mais son action diffère de celle de ce dernier par la production simultanée d'azote et de gaz carbonique alors que l'action de *B. pyocyaneus* se borne à un dégagement d'azote sans trace

de CO^2 , tout l'acide carbonique provenant de la combustion du carbone de la peptone se retrouvant à l'état de bicarbonate de potasse. Nous avons vu que dans la technique de GRIMBERT, l'oxygène libre, mis à la disposition de la Bactérie, est limité à l'oxygène dissous dans le milieu en expérience. Or, si l'on effectue la culture en bouillon nitraté au contact de l'air, en tubes à essais par exemple, le développement bactérien est bien plus intense que dans la méthode de GRIMBERT et corrélativement le dégagement gazeux plus abondant. C'est ainsi qu'en tubes à essais les cultures de 2 à 3 jours offrent une mousse très épaisse à la surface libre du liquide.

Nous retrouvons là un parallélisme entre l'intensité de la multiplication et l'intensité du pouvoir réducteur. Ce fait mérite de retenir l'attention car nous savons qu'aucun réducteur n'a pu être isolé des Bactéries dénitrifiantes. L'existence d'une diastase réductrice paraissait vraisemblable après que IRVING et HANKINSON eurent démontré la présence d'un enzyme réducteur des nitrates dans les racines et les feuilles des plantes vertes.

Malgré tous nos efforts, il nous a été impossible d'obtenir une diastase réductrice des nitrates en partant de *Bacillus Le Monnier*.

Étudions maintenant l'action d'un hydrate de carbone sur la dénitrification. Pour CARON (1912) le dextrose favorise la dénitrification par *B. pyocyaneus* et *B. fluorescens liquefaciens*. Or, l'addition de glucose à la peptone nitratée n'a pas modifié sensiblement la marche de la réduction effectuée par *B. Le Monnier*. Tantôt ce sont les milieux glucosés qui offrent la réduction la plus intense, tantôt ce sont les milieux peptonés, dépourvus de glucose, qui accusent le dégagement gazeux le plus abondant.

Culture en milieux chimiquement définis. — MILIEUX CHIMIQUEMENT DÉFINIS ET POUVOIR CHROMOGÈNE. — Tout le monde sait que les Bactéries chromogènes cultivées sur milieux usuels peuvent sans cause apparente donner des cultures incolores. Mais ce n'est là qu'une première approximation. L'analyse précise du phénomène montre que la production des pigments bactériens est le plus souvent sous la dépendance de traces d'éléments, ainsi que cela s'observe pour de nombreux phénomènes biologiques.

Or, du fait de leur composition, les milieux usuels ne peuvent offrir d'une façon constante aux Bactéries les éléments indispen-

sables à la manifestation du pouvoir chromogène, d'où les inégalités signalées précédemment dans les résultats de la culture des Bactéries chromogènes.

Aussi, dès 1911 l'un de nous insistait-il sur la nécessité d'utiliser des milieux chimiquement définis, en se servant de produits purifiés, d'eau aussi pure que possible et de récipients peu attaquables par l'eau aux températures de 100 - 105 - 110°. En opérant ainsi, nous arrivons à définir les conditions de production des pigments et à préciser les règles suivant lesquelles s'effectue l'élaboration de la matière colorante. La connaissance de ces faits met en lumière une partie du mécanisme de la nutrition de la plastide bactérienne et nous facilite la diagnose de l'espèce puisque à volonté nous pouvons faire apparaître tel ou tel caractère cultural.

Cultures de *B. Le Monnieri* en milieu II de Lasseur. — Les cultures les plus caractéristiques de *B. Le Monnieri* sont obtenues sur le milieu suivant dont la composition a été antérieurement fixée par *Ph. Lasseur* (1912).

Milieu II de Lasseur

Eau	100 gr.
Asparagine	0 . 900
Succinate d'ammonium	0 . 100
Glycérine	2 . 000
Glucose	1 . 000
Phosphate dipotassique	0 . 250
Sulfate de Magnésium	0 . 500
Chlorure de calcium	0 . 040
Sulfate ferreux	0 . 040

Cultures en tube. — Ensemencé sur milieu II, réparti en tube, *B. Le Monnieri* se développe rapidement.

Au bout de 48 - 72 heures à 20 - 25° C., les cultures présentent à la surface libre du liquide un beau voile bleu, au-dessous duquel se trouve une zone colorée en rouge violet, séparée elle-même de la partie sous-jacente par une faible zone jaune vert. La partie inférieure est constituée par une colonne liquide, dont la blancheur contraste avec les couches supérieures. Le voile grimpe le long des parois, il est chagriné. La coloration de ce voile varie avec l'âge de la culture, au début elle est voisine de la teinte 42 (*caeruleus*) du *Chromotaxia*

de SACCARDO, puis elle se rapproche de la teinte 41 (*cyaneus*), et vers le deuxième ou le troisième jour de la teinte 40 (*atro-cyaneus*) du même *Chromotaxia*. Cette coloration se rapporterait à peu près au N° 428 du Code des couleurs. (Pl. IV, fig. 1).

Au-dessous du voile, la zone rouge-violet a une hauteur variant de 3 à 10 ^m/_m. La coloration, très accusée au voisinage immédiat du voile, va se dégradant insensiblement à mesure qu'on s'en éloigne pour souvent se fondre avec la zone verte ou jaune vert.

Tout le reste du liquide est incolore.

Quand les tubes ne sont pas maintenus dans une position rigoureusement verticale, on peut voir au-dessous des zones colorées une région trouble à aspect plus ou moins filamenteux.

Quand les tubes sont bien verticaux, la portion trouble limite la zone jaune vert à sa partie inférieure. Avec l'âge, la fragilité du voile augmente et des fragments de ce dernier se détachent et s'accumulent au fond du tube.

Parfois, la zone rouge vineux est très réduite ou de durée éphémère, la zone verte s'accroît alors proportionnellement et peut atteindre 10 à 15 ^m/_m.

Le pigment jaune n'est qu'un produit d'oxydation du pigment rouge vineux. On peut obtenir à volonté les deux teintes en utilisant pour la culture un tube en U dont une des branches est renflée en boule. Dans la branche non renflée, sous le voile se trouve la coloration rouge violacé, dans la branche renflée elle fait place à une coloration jaune.

Cultures en ballon. — Après 48 heures de séjour à 20-25°, il se forme à la surface du liquide un voile bleu, épais, chagriné, à reflet métallique, remontant de quelques millimètres le long de la paroi. Le reste du liquide est coloré en vert, variant du vert clair au vert olive. Avec l'âge le voile devient de plus en plus fragile et, comme dans les cultures en tube, des fragments se détachent, gagnent le fond où ils ne tardent pas à constituer un dépôt de matière colorante bleue. Dans les cultures de 30 à 40 jours, toute la matière colorante bleue s'est rassemblée au fond du vase et la masse liquide s'est éclaircie prenant une teinte jaune d'or. Si on agite on obtient une coloration verte résultant du mélange de jaune et de bleu.

RÔLE DES DIFFÉRENTS ÉLÉMENTS DANS LA PRODUCTION DU PIGMENT

Aliment azoté. — Le succinate d'ammoniaque n'est pas indispensable à la formation du pigment, mais l'addition de ce sel augmente le rendement en matière colorante, cela tient à ce que la production du pigment croît avec l'intensité de la végétation. Les besoins en azote variant avec l'âge de la plastide bactérienne, quand on utilise deux sources appropriées d'azote le développement est plus actif qu'en présence d'un seul aliment azoté.

Aliment hydrocarboné. — Un seul des deux hydrates de carbone suffit à assurer la production du pigment; mais il en est de même que pour l'aliment azoté, deux hydrates de carbone donnent plus de matière colorée qu'un seul.

Aliments minéraux. — Action du fer. — Le fait le plus saillant dans l'alimentation minérale est le rôle du fer dans la production du corps coloré.

En présence du fer, le voile est bleu, épais, chagriné; en l'absence de ce métal, le voile est très mince, réduit souvent à une faible pellicule, voile ou pellicule sont incolores. La culture offre seulement un faible anneau coloré au niveau des parois du vase. Le milieu prend une teinte verte due non pas au mélange de jaune et de bleu que nous avons signalé plus haut, mais à une fluorescence qu'on peut aisément exalter par addition d'ammoniaque. En étudiant l'action du fer sur différents champignons, SAUTON était arrivé à la conclusion suivante: le sulfate ferreux agit surtout par son impureté: le manganèse. Or, dans la production du chromogène bleu par *B. Le Monnieri*, le fer ne peut pas être remplacé par le manganèse. Cette action du fer sur le pouvoir chromogène a été signalée pour la première fois par LASSEUR, dans la production de la chlororaphine. Depuis, en collaboration avec THIRY, MAMELLE, NEPVEUX, le même auteur a précisé l'action de ce métal dans la production de nombreux pigments microbiens.

Le pouvoir chromogène ne nous apparaît donc plus comme une particularité se manifestant au gré du hasard mais comme une propriété cellulaire, sensible à des facteurs d'action que l'on avait coutume de négliger.

Les électrolytes conditionnant la production de nombreux pigments bactériens n'entrent que très rarement dans leur composition. L'électrolyte joue le plus souvent le rôle de catalyseur au sens d'OSTWALD et SABATIER et nous le définirons catalyseur positif; car d'autres substances sont susceptibles dans les milieux de culture d'exercer une action contraire, défavorable à la production de pigments : ce sont les catalyseurs négatifs.

L'action de ces derniers est beaucoup plus importante dans les réactions biologiques que dans les réactions chimiques. En effet, l'agent de la transformation étant en biologie un être vivant, a, de ce fait, une durée limitée et on ne peut prolonger suffisamment l'expérience pour pouvoir compenser la diminution de vitesse de réaction due au catalyseur. Reprenons l'exemple de *B. Le Monnieri*. Ce germe, cultivé en milieu II, donne un beau voile bleu, en l'absence du fer la culture reste incolore. Maintenant, faisons intervenir la notion de temps et nous constatons que les aspects décrits ci-dessus correspondent aux cultures de 48 ou 72 heures. En prolongeant l'expérience durant 10 ou 15 jours, on assiste à la formation d'un petit anneau bleu le long des parois du vase à la surface libre du liquide dépourvu de fer. La quantité de matière colorante produite est certes peu abondante, autrement dit la vitesse de réaction est faible. En augmentant la durée de l'expérience on devrait atteindre la production normale de colorant. Malheureusement, comme toutes les Bactéries, *B. Le Monnieri* ne se développe activement que durant un laps de temps très court. Les produits de la vie microbienne, agissant avec plus ou moins de toxicité, contribuent à arrêter le développement de la plastide considérée.

Milieu I de Lasseur. — Les Cultures de *B. Le Monnieri* sur gélose présentent une fluorescence verte, mais leur pouvoir fluorescigène est beaucoup plus accusé sur le milieu synthétique I de LASSEUR. (1).

Quand on ensemence une série de tubes ou de ballons contenant du milieu I, on observe une belle fluorescence verte dans la majeure partie des cultures, quelques-unes toutefois sont colorées en rose ou en rouge intense sans trace de fluorescence.

La production du pigment bleu fait défaut dans toutes ces cultures.

(1) LASSEUR (1911), Contribution à l'étude de *B. chlororaphis* G. et S^e Thèse Sciences, Nancy.

Que la semence provienne de culture rose ou de culture déjà fluorescente, au deuxième passage sur milieu I, toutes les cultures sont fluorescentes.

Culture en milieu III. — En supprimant le succinate et la glycérine dans le milieu II, on obtient un liquide nutritif où *B. Le Monnieri* peut se développer et donner son pigment bleu. L'intensité de la végétation et de la production de matière colorante sont moindres qu'en milieu II, mais suffisantes pour permettre de suivre l'attaque des aliments hydrocarbonés et azotés par *B. Le Monnieri*.

A cet effet nous avons procédé aux opérations suivantes :

- 1° Dosage de l'ammoniaque par distillation dans le vide en présence de MgO.
- 2° Dosage de l'ammoniaque après hydrolyse par l'acide chlorhydrique.
- 3° Dosage de l'azote total.
- 4° Dosage du sucre.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

MILIEUX ANALYSÉS	N H ³ avant hydrolyse exprimé en N.	N H ³ après hydrolyse exprimé en N.	N TOTAL	ASPARAGINE	GLUCOSE	OBSERVATIONS
Témoin.	0,0022	0,0360	0,1302	0,6856	2,121	
Culture de 14 jours.	0,0609	0,0700	0,1057	0,2399	0,213	Pigment bleu abondant

L'action de *B. Le Monnieri* sur l'asparagine est comparable à celle de *B. chlororaphis* : les deux germes déterminent l'hydrolyse de l'asparagine.

Dans un cas, par une curieuse coïncidence, les chiffres obtenus par les dosages furent même indentiques.

PRODUITS VOLATILS. — Les cultures traitées par PO₄ H₃ et soumises à la distillation fractionnée de DUCLAUX, donnent des nombres intermédiaires entre ceux de l'acide formique et ceux de l'acide acétique, soit :

6,96	46,30
13,92	56,43
21,50	67,40
29,07	81,20
37,20	100.

Ces chiffres coïncident sensiblement avec ceux que l'on obtiendrait avec un mélange d'une molécule d'acide acétique et d'une molécule d'acide formique.

L'erreur porte sur la première décimale. L'erreur maxima serait de 8/10.

VITALITÉ

La vitalité de *B. Le Monnier* est indentique à celle de *B. chlororaphis*. Des cultures de deux mois sur pomme de terre, conservées à la température du Laboratoire, redonnent immédiatement des cultures normales après réensemencement sur milieu II.

Température de Culture. — Le développement de la Bactérie et la production de la matière colorante sont lents mais réguliers vers 12 à 14° C. L'optimum pour la production du chromogène bleu est aux environs de 20° - 22° C. La température la plus favorable à la végétation est voisine de 25° C. Au-dessus de 30° C. la végétation est ralentie et la production de matière colorante très réduite ou même suspendue.

5 souches de *B. Le Monnier* ensemencées dans 25 tubes de milieu II, placés à l'étuve à 33° - 34° C. ont donné les résultats suivants :

3 tubes sont restés incolores, offrant un louche à peine visible.

22 tubes ont montré un trouble intense, sans voile, mais avec un liseré bleu à la périphérie de la surface du liquide, tranchant sur le reste du milieu incolore.

Ces 25 tubes placés ensuite à la température de 20° ont tous donné une culture bleue normale.

A 33° - 34° la chromogénèse est seulement suspendue mais non détruite.

A 37° toute végétation est arrêtée.

A 41° non seulement le développement reste nul, mais les plastides bactériennes sont tuées, si on les maintient à cette température pendant plus de 5 jours. Ce fait n'implique pas que les cultures en pleine végétation pourraient être tuées par un séjour aussi long à 41° C. Mais dans l'expérience que nous venons de relater deux

actions défavorables superposent leur action : 1° la température ; 2° le milieu neuf.

Ce dernier point, assez peu connu, mérite quelques indications complémentaires.

MODE D'ENSEMENCEMENT. — Quand onensemence un germe A sur un milieu favorable, il s'écoule toujours un certain temps pendant lequel on n'observe aucune multiplication : ce fait est d'ordre très général. Il y a cependant exception quand le matériel ensemencé est extrêmement jeune.

La durée de ce stade varie avec l'espèce considérée : 2 heures pour le Bacille typhique (MULLER, 1893, HEHEWARTH), 2 à 6 heures pour *B. Le Monnier* suivant la température de culture.

Durant ce stade, un nombre plus ou moins considérable d'individus sont tués.

C'est ce qui explique la nécessité d'ensemencer largement pour de nombreux germes pathogènes ou chromogènes.

Avec *B. Le Monnier*, *B. chlororaphies* on obtient des cultures bien plus luxuriantes en ensemençant une notable portion de voile qu'en se contentant de l'anse classique de 2^m/m.

A quoi attribuer ce retard de croissance dans les milieux neufs ? Nous l'ignorons. Certains auteurs pensent que les Bactéries sécrètent des produits favorisant leur développement. Cette hypothèse n'est nullement démontrée (1). Un fait reste toutefois acquis au point de vue pratique : un ensemencement massif est nécessaire au développement rapide des cultures de nombreuses espèces microbiennes.

Zone de températures mortelles. — Les essais ont porté sur du matériel provenant de cultures sur milieu II et sur pomme de terre. On s'est adressé à des cultures dont l'âge variait de 2 à 50 jours. Les éléments microbiens provenant des cultures sur pomme de terre étaient émulsionnés dans du bouillon ou du milieu II. Qu'il s'agisse d'éléments provenant de cultures sur milieu II ou sur pomme de terre, le matériel à chauffer était ramené, par dilution, à une concentration de *un milliard* de germes par centimètre cube. Les thermostats utilisés permettaient d'obtenir une température constante au 1/10 de degré près.

(1) Malgré les récents travaux de BORREL, BOEZ et COULON (1923) sur la croissance du Bacille tuberculeux la question n'est pas résolue.

Les résultats obtenus peuvent se résumer de la façon suivante :

Chauffage durant 10 minutes

TEMPÉRATURE	RÉSULTATS
50° C.	Tous les échantillons sont stérilisés.
49° C.	30 % des échantillons se développent, donnant des cultures chromogènes.
48° C.	60 % des échantillons se développent, donnant des cultures chromogènes.
47° C.	Tous les échantillons se développent et 93 % donnent des cultures chromogènes.

En résumé, un chauffage à 50° C, durant dix minutes, suffit à détruire tous les germes qu'ils proviennent de cultures jeunes, ou qu'ils appartiennent à des cultures âgées.

B. Le Monnieri ne donne donc naissance ni à des entosporos, ni à une autre forme de repos. Mais, si *B. Le Monnieri* est tué généralement par chauffage à 50° pendant 10 minutes, en multipliant les expériences on trouve cependant des séries dans lesquelles 14 % des échantillons résistent au chauffage. A 52°, par contre, tous les échantillons étudiés ont été tués.

Influence de l'oxygène. — En l'absence d'oxygène, *B. Le Monnieri* ne se développe pas, mais il peut se contenter d'une pression réduite, la végétation est seulement moins active et de plus courte durée qu'à l'air libre. On illustre, d'une façon très simple, l'action de l'oxygène sur la production du pigment. On répartit le milieu dans un tube en U dont une branche est fermée, l'autre étant ouverte et renflée en boule. *B. Le Monnieri*ensemencé dans ce tube donne un beau voile bleu dans la boule en contact avec l'air ambiant et un liquide limpide et incolore dans la branche fermée.

ACTION DES AGENTS CHIMIQUES

(ANTISEPTIQUES DES AUTEURS)

Un être vivant est caractérisé par la façon dont il réagit vis-à-vis des agents physiques, chimiques et biologiques. Cette classification des facteurs d'action dominant l'existence de l'individu est purement conventionnelle. Nous savons combien il est difficile de délimiter exactement les phénomènes physiques et chimiques. Quant à l'expression agents vitaux ou biologiques, elle ne fait que traduire notre ignorance de la nature de ces facteurs qui, vraisemblablement, appartiennent au groupe physico-chimique. Malgré l'arbitraire d'une telle classification, les services qu'elle peut rendre justifient cependant son emploi.

Si nous éprouvons de grandes difficultés à préciser le cadre des phénomènes soit physiques, soit chimiques, nous nous heurtons à des difficultés analogues quand nous voulons donner une définition de l'antiseptique. E. DUCLAUX a longuement insisté sur ce fait en 1898.

Dans ce mémoire nous nous bornerons à rappeler l'intérêt qu'il y a à étudier la façon dont se comporte un germe vis-à-vis des agents chimiques, tant au point de vue de la biologie générale qu'au point de vue de la diagnose de l'espèce.

Nous allons donc passer en revue l'action de différents agents chimiques sur *Bacillus Le Monnieri*.

Caféine. — De 0,1 à 6 ‰, l'action de la caféine est faible. Pour les concentrations de 4, 5, 6 ‰ la production du pigment diminue, mais la multiplication ne paraît pas influencée; quand on a atteint une concentration de 8 ‰, la production de matière colorante diminue encore, mais la végétation est alors manifestement troublée : on observe de longs filaments allongés au lieu de plastides isolées ou réunies en diplobacilles.

Acide phénique. — En cultivant *B. Le Monnier* sur milieu phéniqué, on obtient les résultats suivants :

QUANTITÉ D'ACIDE PHÉNIQUE	PRODUCTION DE MATIÈRE COLORANTE	VÉGÉTATION	FORMES
Par litre 0 ^{gr} 500	Nulle	Nulle	
0 ^{gr} 450	Nulle	A peine sensible	Plastides très courtes, presque rondes
0 ^{gr} 400	Nulle	A peine sensible	
0 ^{gr} 350	Nulle	Très faible	Éléments courts
0 ^{gr} 300	Très faible	Faible	
0 ^{gr} 250	Faible	Faible	
0 ^{gr} 200	Faible	Retard dans le développement	Forme normale
0 ^{gr} 150	Normale	Normale	

L'examen du tableau montre que *B. Le Monnier* est beaucoup plus sensible à l'acide phénique que les Bactéries du groupe Coli-Eberth. Au point de vue morphologique, l'action du phénol se traduit par une réduction du grand axe, par un raccourcissement bactérien.

Acide Borique. — L'action de l'acide borique sur *B. Le Monnier* est résumée dans le tableau suivant. Les recherches ont été effectuées à l'aide de 5 souches, issues de 5 colonies isolées sur gélatine.

QUANTITÉ D'ACIDE BORIQUE	PRODUCTION DE MATIÈRE COLORANTE	VÉGÉTATION	FORMES
°/°° 1 ^{er} »	Nulle	Pas de développement	
0 ^{gr} 9 0.7 0.6 0.55	Nulle Nulle Nulle Nulle	Pas de trouble visible, mais développement confirmé microscopiquement.	Filaments immobiles dont la taille va croissant de 0 μ .5 à 0 μ .9
0 ^{gr} 5 0 ^{gr} 4 0.35	Nulle Nulle Nulle		
0 ^{gr} 3	Nulle	Culture faible	
0 ^{gr} 25 0 ^{gr} 20	Culture à faible liseré bleu. Culture à faible liseré bleu.	Trouble intense, mais retard dans le développement.	Forme normale, motilité très accusée.

Contrairement à ce que nous avons observé avec l'acide phénique, l'acide borique détermine un allongement de la plastide bactérienne.

Bichromate de Potasse. — *B. Le Monnier* est sensible à de faibles quantités de bichromate de potasse. Ainsi à la dose de 0^{gr}020 par litre, on n'observe qu'un louche de la masse liquide sans voile et les cultures restent achromogènes.

La sensibilité spéciale de *B. Le Monnier* à l'égard du bichromate pourrait être utilisée dans un but de diagnostic.

Au point de vue morphologique l'action des antiseptiques expérimentés peut se résumer ainsi :

Dans les zones de concentration compatibles avec la vie, les agents chimiques déterminent des modifications morphologiques

très différentes : allongement ou raccourcissement de la plastide bactérienne suivant que l'énergie de croissance ou l'énergie de division est augmentée ou diminuée.

ÉTUDE DE LA MATIÈRE COLORANTE BLEUE

Le Pigment bleu est un Colorant. — La substance bleue, secrétée par *B. Le Monnieri*, est un colorant au sens de WITT.

En effet, en immergeant un écheveau de soie dans une culture en milieu liquide, la soie se colore en bleu.

Après lavage à l'eau la coloration bleue persiste.

Dans une solution ammoniacale, elle vire au violet.

Dans un acide fort, elle verdit et se décolore peu à peu.

En raison de son insolubilité dans l'eau la matière colorante doit être produite directement sur la fibre que l'on désire teindre.

Siège de la Matière Colorante. — En soumettant une culture de *B. Le Monnieri* à la centrifugation et à la filtration sur papier et sur bougie de porcelaine, on se rend compte que le colorant bleu imprègne le corps bactérien, les cristaux minéraux et organiques et existe en outre sous forme de grains très fins traversant les filtres de papier.

Ces grains sont arrêtés par les bougies F. et L.

Le dépôt amorphe de matière colorante ne présente rien de particulier, il n'en est pas de même du colorant fixé sur la plastide bactérienne.

Des observations anciennes due à SCHROETER (1872), BEYERINCK (1891), MATRUCHOT (1899), semblaient indiquer que les pigments bactériens pouvaient réaliser de véritables colorations vitales des Bactéries ou des Champignons. Ces colorations étant tantôt électives (MATRUCHOT) tantôt diffuses (G. THIRY).

En ce qui concerne *B. Le Monnieri* on observe deux catégories de plastides :

Les unes, peu colorées, paraissant de structure homogène, relativement peu mobiles.

Les autres, présentant au centre un gros grain chromatique, d'un bleu plus foncé, extrêmement mobiles.

Un examen plus approfondi des plastides décèle une structure granuleuse avec vacuole et grain cytoplasmique coloré en bleu.

En présence de ces images, un observateur non prévenu songerait immédiatement à une coloration vitale au bleu de méthylène.

Avec de nombreuses Bactéries chromogènes (*B. prodigiosus*, *B. balticus*, *B. indigoferus*, VOGES, etc.).

On observe effectivement la coloration de la plastide bactérienne, mais dans ces cas, il s'agit surtout, sinon exclusivement, d'une coloration de cellules mortes ou dégénérées ; la plastide morte devenant un centre d'attraction de la matière colorante au même titre qu'un grain d'amidon, qu'un cristal ou qu'un précipité quelconque produits dans la culture.

Des faits observés avec *B. Le Monnieri* nous ne pouvons tirer qu'une conclusion : la perméabilité de la membrane des différentes plastides est variable ou autrement dit : la solubilité du pigment dans la membrane varie.

Le colorant, comme nous l'avons vu, est insoluble dans l'eau, mais le fait qu'un écheveau de soie se colore en bleu dans une culture implique une certaine solubilité du colorant à l'état naissant, son insolubilité ne s'affirmant qu'ultérieurement.

Des faits analogues se produisent avec de nombreuses substances colloïdales.

Nous croyons donc que le pigment a, comme tous les pigments bactériens, une substance mère pour origine, elle-même issue directement de la plastide bactérienne.

Dans l'état actuel de l'expérimentation, il ne semble pas que le pigment bleu de *B. Le Monnieri* permette à la Bactérie de capter l'énergie nécessaire à son métabolisme.

CRISTAUX COLORÉS. — Par les moyens d'extraction en usage, il nous a été impossible de faire cristalliser la substance bleue.

Ce fait ne préjuge en rien la nature cristalline possible de cette matière, pas plus d'ailleurs que les cristaux colorés observés dans les cultures. (Pl. IV, fig. 4).

Les cristaux sont de forme trop variable pour ne pas être considérés comme des cristaux minéraux ou organiques colorés par la substance bleue.

Le fait est indiscutable pour les cristaux de phosphate-ammoniacomagnésien, pour ceux de glycocolle, etc...

Peut-être pourrait-on faire exception pour les cristaux rencontrés dans les cultures sur gélatine.

Mais tant qu'on restera dans l'impossibilité de faire cristalliser le pigment, on ne pourra attribuer aucune valeur précise à des formes cristallines bleues, si variables d'aspect dans un même milieu.

Isolément de la matière colorante bleue. — Pour isoler la matière colorante on s'adresse aux cultures en milieu II de LASSEUR où le Bacille donne de superbes voiles bleus.

Avec un peu d'habitude et en opérant avec précaution on récolte la totalité du voile sur une essoreuse.

Le papier chargé de matière colorante est desséché à l'exsiccateur sulfurique. Les papiers sont ensuite traités par la pyridine. On filtre.

La solution pyridinique est traitée par l'acide sulfurique dilué au 1/10. A un volume de solution pyridinique, on ajoute, par petites portions, en agitant chaque fois et en évitant l'échauffement, trois parties d'acide sulfurique dilué. Il faut éviter l'excès d'acide, qui détruirait la matière colorante. On obtient un précipité bleu de Prusse. On filtre, lave à l'eau froide. On redissout le précipité dans la pyridine. On précipite à nouveau la solution par l'acide dilué.

Pour l'étude du spectre d'absorption dans l'ultra-violet, on purifie le pigment ainsi obtenu à l'aide de la méthode capillaire de GOPPELSROEDER (LASSEUR, 1914).

La matière colorante desséchée peut se conserver pendant des années sans altération, les solutions sont toutes, par contre, très instables.

Propriétés de la matière colorante. — Le colorant est insoluble dans l'eau et dans les solvants neutres.

Il est soluble en bleu dans les acides acétique et lactique, ces solutions ne sont pas stables car, par oxydation (le contact de l'air suffit), elles verdissent en un à trois jours.

Par réduction ménagée les solutions acétiques vertes retournent au bleu, mais si la réduction est trop poussée, on obtient une décoloration. La solution décolorée par réduction redevient bleue par oxydation ménagée à l'aide d'eau oxygénée diluée.

La solution acétique en présence d'eau oxygénée devient incolore

La solution acétique, traitée par l'ammoniaque ou la potasse, en évitant l'élévation de température, donne un précipité violet bleu de matière colorante.

Le pigment bleu de *B. Le Monnieri* se dissout très bien dans la pyridine qu'il colore en bleu foncé.

La solution pyridinique, traitée avec précaution par l'acide sulfurique dilué au 1/10, en évitant l'échauffement, laisse déposer un précipité de matière colorante bleue. Fraîchement recueilli, ce précipité est soluble dans le chloroforme.

Par oxydation, la solution pyridinique se décolore.

L'acide chlorhydrique verdit la matière colorante.

L'acide azotique au 1/3 la verdit, mais le colorant passe presque instantanément au jaune.

Spectre d'absorption. — Le spectre d'absorption de la matière colorante bleue a été étudié dans la région visible du spectre et dans celle de l'ultra-violet.

Nous ne mentionnerons que les caractéristiques pour la région visible, celles de l'ultra-violet seront relatées dans un travail d'ensemble sur les pigments bactériens.

SPECTRE DANS LA RÉGION VISIBLE. — L'étude du spectre d'absorption devant non seulement nous permettre d'identifier les pigments, mais encore d'émettre certaines hypothèses sur leur constitution, LASSEUR a combiné la méthode de HARTLEY et celle de FORMANEK.

Les mesures ont été effectuées au Laboratoire de physique générale de la Faculté des Sciences (1) où M. le Professeur GUTTON a bien voulu mettre à notre disposition le spectroscope gradué en longueur d'onde d'HILGER. Les clichés ont été obtenus à l'aide du spectrographe d'HILGER. Pour les mesures on a utilisé le brûleur NERNST et l'arc au fer pour les photographies.

Les solutions pyridiniques à une dilution convenable montrent deux bandes d'absorption asymétriques.

La bande I est forte, asymétrique.

La bande II est faible, plate, nébuleuse.

Les maxima d'absorption, déterminés d'après la méthode de FORMANEK, sont les suivants :

BANDE I.	BANDE II.
<i>Forte.</i>	<i>Faible.</i>
MAXIMUM : $\lambda = 630,3.$	$\lambda = 578,5.$

(1) Je remercie M. le Professeur GUTTON de son inépuisable obligeance et le prie de croire à l'expression de ma profonde reconnaissance. LASSEUR.

Les deux bandes ne sont nettement visibles que pour les grandes dilutions ou les faibles épaisseurs. Elles se fusionnent très rapidement dès que croît l'épaisseur ou la concentration. Les variations de concentration n'entraînant aucun phénomène d'ionisation, nous avons donc fait varier l'épaisseur du liquide à examiner à l'aide de la cuve de Baly. Ainsi que nous le faisait remarquer M. le Professeur Purvis (Université de Cambridge), l'appréciation du début de la bande donne lieu à des interprétations différentes suivant les expérimentateurs et pour un même expérimentateur suivant les conditions de l'expérience; aussi le célèbre disciple d'Hartley nous proposait-il de publier simplement les clichés, laissant à chaque lecteur le soin de construire la courbe. Cependant nous croyons qu'il peut être utile de faciliter la construction de la courbe par la publication des valeurs trouvées. Les courbes devront être tracées en portant les temps périodiques en abscisses et les logarithmes des épaisseurs en ordonnées.

*Solution Pyridinique renfermant 5^{mmgr.} de substance colorante
par 100^{cmc} de solvant*

ÉPAISSEUR DU LIQUIDE	BANDE I		BANDE II	
	G.	D.	G.	D.
30 mm.	$\lambda = 642$	$\lambda = 618$	$\lambda = 587$	$\lambda = 570,5$
35	$\lambda = 650$	$\lambda = 617$	$\lambda = 587,5$	»
40	$\lambda = 653$	$\lambda = 613$	$\lambda = 588,5$	$\lambda = 569$
45	»	$\lambda = 612$	»	»
50	$\lambda = 658$	$\lambda = 606$	»	$\lambda = 568,5$
60	$\lambda = 660$	$\lambda = 606$	»	$\lambda = 568$
70	$\lambda = 668$	»	»	$\lambda = 568,5?$
80	$\lambda = 674$	»	»	$\lambda = 567$
90	$\lambda = 675$	»	»	$\lambda = 564$

Début du Spectre : $\lambda = 733$.

Les bandes I et II se fusionnent très rapidement et les lectures vers $\lambda = 589$ sont mauvaises.

Le début des bandes varie suivant les opérateurs et avec la source lumineuse, pour la bande I nous avons par exemple :

ÉPAISSEUR DU LIQUIDE	DÉBUT DE L'ABSORPTION SÉLECTIVE (teinte à peine sensible)	ABSORPTION NETTE		DÉBUT DE L'ABSORPTION SÉLECTIVE
		BORD G. DE LA BANDE	BORD D. DE LA BANDE	
30 mm.	$\lambda = 660$	$\lambda = 642$	$\lambda = 618$	$\lambda = 606$
33 	$\lambda = 664$	$\lambda = 630$	$\lambda = 616$	$\lambda = 601$
40 	$\lambda = 670$	$\lambda = 633$	$\lambda = 615$	$\lambda = 598$

Le graphique I, Planche III, schématise, l'absorption sélective (Bande I) pour une épaisseur de 30^m/m.

Solution Pyridinique renfermant 43 milligrammes de matière colorante par 100^{cmc} de Solvant.

ÉPAISSEUR DU LIQUIDE	ABSORPTION SÉLECTIVE	ABSORPTION CONTINUE
3 mm.	$\lambda = 674$ à $\lambda = 370,2$	à partir de $\lambda = \dots$
10 ...	$\lambda = 690$ à $\lambda = 348$	à partir de $\lambda = 417$ à la fin du spectre
15 ...	$\lambda = 698$ à $\lambda = 338$	à partir de $\lambda = 424,7$ »
20 ...	$\lambda = 703$ à $\lambda = 323$	à partir de $\lambda = 0000$ »
25 ...	$\lambda = 706$ à $\lambda = 317$	à partir de $\lambda = 429$ »
30 ...	$\lambda = 708$ à $\lambda = 315$	à partir de $\lambda = 431,7$ »
40 ...	$\lambda = 0000$ à $\lambda = 305$	à partir de $\lambda = 441,5$ »
50 ...	$\lambda = 720$ à $\lambda = 493$	à partir de $\lambda = 454,5$ »
60 ...	$\lambda = 722$ à $\lambda = 483$	à partir de $\lambda = 458,8$ »
70 ...	$\lambda = 724$ à $\lambda = 478$	à partir de $\lambda = 465$ »
80 ...	$\lambda = 724,5$ à $\lambda =$	à partir de $\lambda = 466,5$ »
90 ...	$\lambda = 725$ à $\lambda =$	
100		

En résumé, pour de faibles concentrations, l'absorption sélective est seule sensible ; mais pour de fortes concentrations on observe en outre une absorption continue dans la région des courtes longueurs d'onde.

RÉACTIONS ANTICORPS

ÉTUDE DU POUVOIR AGGLUTINANT ET SENSIBILISANT DU SÉRUM DE LAPINS PRÉPARÉS AVEC *B. LE MONNIERI*

Technique. — PRÉPARATION DES LAPINS. — Les lapins ont reçu douze injections hebdomadaires, intrapéritonéales, de plastides bactériennes, dont quatre de plastides chauffées et huit de plastides vivantes.

L'émulsion renfermait deux milliards de germes par centimètre cube; on débutait par 1/2 centimètre cube de germes chauffés pour terminer par 15 centimètres cubes de germes vivants.

Les germes chauffés ont déterminé un amaigrissement notable de certains des animaux en expérience et parfois même leur mort.

Dès qu'on arrivait à l'injection des germes vivants (5^e injection), le reste de la préparation s'effectuait sans alerte, ce qui tendrait à prouver, comme le dit NICOLLE : qu'avec les germes tués, l'anaphylaxie est plus facile à obtenir que l'immunité.

Pratiquement *B. Le Monnieri* est dépourvu de virulence pour le lapin, mais il conserve néanmoins vis-à-vis de cet animal une certaine toxicité.

La préparation des sujets d'expérience a toujours été plus difficile avec *B. Le Monnieri* qu'avec *B. pyocyaneus*, *B. balticus*, etc...

Il semble qu'il y ait là un argument en faveur de l'hypothèse de la toxicité dans le pouvoir antigène telle que la définit PICK, peut-être n'y a-t-il aussi qu'une simple coïncidence ?

ÉMULSION. — L'étude du pouvoir agglutinant et sensibilisant a été faite à l'aide d'émulsions renfermant 3 milliards de germes au centimètre cube.

Pour la préparation des suspensions on procède de la manière suivante :

Le germe est cultivé sur gélose en boîte de Roux, après 24 heures, les cultures de quatre boîtes sont mises en suspension dans 40 centimètres cubes d'eau physiologique. On verse les 40 centimètres cubes d'eau dans la première boîte et, par des mouvements d'oscillation, on réalise la suspension; on décante à l'aide d'une pipette à boule et on

verse dans la deuxième boîte le liquide chargé des corps microbiens, on réalise à nouveau la suspension par le même procédé, on décante et on opère de même pour la troisième et la quatrième boîte.

Les quatre boîtes sont ainsi épuisées avec un volume total de 40 centimètres cubes d'eau; la suspension obtenue est très dense; on la centrifuge, on décante et on remet la masse microbienne en suspension dans l'eau physiologique. Le lavage des corps microbiens est répété trois fois. Finalement, l'émulsion obtenue est très légèrement centrifugée pour éliminer les agglomérats et avoir un système parfaitement homogène au sens bactériologique du mot. L'homogénéité est contrôlée au microscope.

On détermine la richesse microbienne de l'émulsion et on l'amène au titre voulu par une dilution appropriée.

C'est le jour même de leur préparation que les émulsions doivent être utilisées, car, avec le temps, on note une chute appréciable du pouvoir fixateur.

VERRERIE. — Les ions OH stabilisent les suspensions microbiennes et s'opposent à la précipitation des corps microbiens par les sérums spécifiques (LASSEUR). Aussi nous sommes-nous efforcés d'utiliser des vases peu sensibles à l'action de l'eau. Certains verres, en effet, sont très attaquables par l'eau. C'est ce que démontrent d'ailleurs les chiffres suivants empruntés au travail de LASSEUR et GIRARDET (1924) sur « *l'Eau pure en Biologie* » (1).

Attaque du verre par l'eau à la température de 120° C.

L'eau utilisée avait une conductibilité de : $K = 1,4 \times 10^{-6}$.

DÉSIGNATION DES VASES	CONDUCTIBILITÉ DE L'EAU AVANT SÉJOURNÉ DANS LES VASES
Pipette Chamberland	$K = 130 \times 10^{-6}$
Flacon Pyrex	$K = 1,4 \times 10^{-6}$
Erlenmeyer (Resista).	$K = 1,7 \times 10^{-6}$
Fiole de Gayon.	$K = 5,6 \times 10^{-6}$
Tubes à essais N° 1.	$K = 20 \times 10^{-6}$
Tubes à essais N° 3.	$K = 16 \times 10^{-6}$
Tubes à essais N° 4.	$K = 8,3 \times 10^{-6}$
Tubes provenant des stocks américains.	$K = 160 \times 10^{-6}$

(1) Société de Chimie Biologique, séance du 5 février 1924 et *Bulletin*, Soci. chimie biologique, t. VI, p. 314, 1924.

La verrerie ordinaire est donc fortement attaquée par l'eau à 120° C. L'eau enfermée dans les ballons Chamberland scellés ou dans les tubes de verre des stocks américains offre à la sortie de ces verres une conductibilité de l'ordre de celle d'un électrolyte en solution millième normale.

Rapprochons ces observations des faits suivants : L'orsqu'on effectue des séries d'agglutinations microscopiques, on constate que les plastides peuvent fixer l'agglutinine tout en restant parfaitement isolées. Or, il est à remarquer que ce phénomène s'observe souvent avec la verrerie neuve, non vieillie artificiellement, ou avec des verres usagés, mais dont la richesse en alcali est anormale (verre des stocks américains) ce qui favorise l'attaque par l'eau.

Les ions cédés par certains verres peuvent donc stabiliser les suspensions bactériennes et s'opposer à la précipitation des plastides par les sérums spécifiques.

EAU. — L'eau employée avait une conductibilité de l'ordre

$$K = 1 \times 10^{-6} \frac{1}{\text{Ohm. cm.}}$$

Pour tout ce qui concerne l'eau nous renvoyons le lecteur au mémoire de LASSEUR et GIRARDET (sur l'eau pure en Biologie) (1).

Agglutination. — Le pouvoir agglutinant a été déterminé par la méthode macroscopique. Les lectures ont été effectuées après un séjour de 4 heures à 37° C.

Les résultats fournis par ce procédé (œil nu et loupe) ont été contrôlés par l'examen microscopique.

L'agglutination lente : culture en bouillon peptoné additionnée de doses croissantes de sérum n'offre aucune particularité. Ainsi, au bout de 24 heures de culture, les tubes au 1/500 sont restés limpides avec dépôt de la masse microbienne au fond du tube, à la concentration de 1/1000 on a observé un fin précipité, etc...

TAUX DE L'AGGLUTINATION. — Après 24 heures de séjour à l'étuve,

(1) L'eau pure en Biologie. Société de Chimie biologique, séance du 3 février 1924.

les émulsions de *B. Le Monnieri*, additionnées de sérum homologue présentent l'aspect suivant :

CONCENTRATION DU SYSTÈME EN SÉRUM	RÉSULTAT DE L'AGGLUTINATION
1/50	Dépôt, liquide limpide.
1/100	
1/500	Dépôt, liquide plus ou moins louche.
1/800	
1/1000	A la loupe : fin ou très fin précipité. Au microscope : nombreux amas.
1/1200	
1/1600	
1/2000	Amas très nombreux, mais petits, considérés comme limite de l'agglutination.

Le taux d'agglutination est du même ordre avec les diverses souches utilisées.

Seule, une souche A, très peu chromogène, a offert une agglutinabilité un peu plus élevée.

Taux d'agglutination le plus fréquemment observé : 1/2000.

Taux d'agglutination de la souche A : 1/2400.

Les grandes variations d'agglutinabilité signalées dans différents groupes bactériens (Bacilles typhique, paratyphiques, etc...) ne s'observent pas avec *B. Le Monnieri*.

LE SÉRUM LE MONNIERI AGGLUTINE-T-IL LES GERMES VOISINS ? —
Nous avons recherché dans quelle limite un sérum *Le Monnieri* agglutinait les germes voisins ou du moins ceux ayant des caractères communs avec *B. Le Monnieri*.

Le tableau ci-dessous résume les résultats de ces recherches.

Sérum *Le Monnieri* agglutine :

	TAUX LIMITE
<i>B. Le Monnieri</i>	au 1/2000
<i>B. cyaneofluorescens</i>	au 1/50
<i>B. syncyanus</i>	au 1/100

Sérum Le Monnieri n'agglutine pas :

	TAUX LIMITE
<i>B. pyocyaneus</i> Variété <i>pyocyanogenes</i>	au 1/30
— Variété <i>erythrogenes</i> } Gessard.	au 1/30
— Variété <i>melanogenes</i> } Lasseur.	au 1/30
<i>B. violaceus</i>	au 1/30
<i>B. chlororaphis</i>	au 1/30
<i>B. fluorescens liquefaciens</i>	au 1/30
<i>B. Bruntzii</i>	au 1/30
<i>B. mesentericus niger</i>	au 1/30

Nous n'avons pas effectué de recherches à des taux inférieurs au 1/30. L'un de nous (LASSEUR, 1923) ayant démontré que la fixation de l'anticorps a toujours lieu, mais que l'intensité de cette réaction varie énormément suivant que l'on utilise un antigène homologue ou hétérologue.

Cette réserve faite, nous constatons que le sérum *Le Monnieri* agglutine *B. cyanoofluorescens*, *B. syncyaneus*, mais le taux d'agglutination est peu élevé.

SATURATION DES AGGLUTININES. — En présence de ces faits, nous avons procédé à la saturation des agglutinines de CASTELLANI. La technique décrite dans les ouvrages classiques nous paraît entachée d'erreur puisqu'elle utilise des corps microbiens non lavés c'est-à-dire un mélange *plastide* + *milieu de culture*. Dans ce mélange la quantité de milieu de culture est évidemment variable d'une expérience à l'autre. Il y a plus. On conseille de délayer dans une quantité convenable de sérum, une, deux, trois... anses du produit de raclage d'une culture sur gélose. Or dans cette pulpe les corps microbiens sont très voisins les uns des autres, ils ont de nombreux points de contact et de ce fait leur surface adsorbante est très limitée. Ces plastides, ainsi disposées, introduites dans un sérum fortement agglutinant, augmenteront encore leurs points de contact, leur surface adsorbante diminuera au lieu de s'accroître. Comme conséquence, une quantité relativement considérable de corps microbiens sera nécessaire à la saturation du sérum agglutinant. Aussi opérons-nous de la façon suivante : Une culture de 24 heures sur gélose en boîte de ROUX est délayée dans 20 centimètres cubes d'eau physiologique; on centrifuge, on décante. Le culot de centrifugation est remis en suspension dans 1 centimètre cube d'eau physiologique.

A une partie de sérum on ajoute une partie de cette purée, on

laisse en contact 2 heures à 37° C. On centrifuge et titre le sérum décanté. Les résultats fournis par l'expérience peuvent être résumés de façon suivante :

Témoin : Sérum n'ayant subi le contact d'aucun corps microbien.	} agglutine <i>B. Le Monnieri</i> au 1/2000.
Sérum ayant subi le contact de plastides de <i>B. Le Monnieri</i> .	{ n'agglutine pas <i>B. Le Monnieri</i> au 1/12. n'agglutine pas <i>B. cyaneofluorescens</i> au 1/12. n'agglutine pas <i>B. syncyanens</i> au 1/12.
Sérum ayant subi le contact de plastides <i>B. cyaneofluorescens</i>	{ agglutine <i>B. Le Monnieri</i> au 1/1800. n'agglutine pas <i>B. cyaneofluorescens</i> au 1/12. n'agglutine pas <i>B. syncyanens</i> au 1/12.
Sérum ayant subi le contact de plastides <i>B. syncyanens</i> .	{ agglutine <i>B. Le Monnieri</i> au 1/1800. n'agglutine pas <i>B. cyaneofluorescens</i> au 1/12. n'agglutine pas <i>B. syncyanens</i> au 1/12.

Le sérum examiné ne renferme pas d'agglutinines dites spécifiques pour *B. cyaneofluorescens*, ni pour *B. syncyanens*. Cependant, au point de vue sérologique, *B. Le Monnieri* et les Bacilles du lait bleu offrent une certaine parenté, confirmée d'ailleurs par l'étude des autres caractères biologiques de ces germes. Nous devons noter, sans chercher toutefois à en tirer des conclusions par trop hâtives, qu'un sérum antipyocyanique (*B. pyocyaneus* variété *pyocyanogenes*) agglutine *B. cyaneofluorescens* à 1/400. Ce sérum agglutine *B. pyocyaneus* à 1/3500 mais est sans action sur *B. Le Monnieri* à la dilution du 1/40.

Nous n'avons effectué aucune recherche à un taux inférieur au 1/40 pour les raisons antérieurement signalées. Aux fortes concentrations, il y aurait toujours réaction même avec l'antigène hétérologue.

Nous avons montré qu'un sérum *Le Monnieri* pouvait, à un certain taux, agglutiner des germes offrant des caractères communs avec ce Bacille ; nous avons recherché par contre si *B. Le Monnieri* pouvait subir l'influence de sérums préparés en partant d'autres germes, et nous avons obtenu les résultats suivants :

DÉSIGNATION DES SÉRUMS	TAUX LIMITE D'AGGLUTINATION POUR ANTIGÈNE HOMOLOGUE
Sérum : <i>B. pyocyaneus</i>	1/3500
» <i>B. chlororaphis</i>	1/4000
» <i>B. fluorescens liquefaciens</i>	1/3000
» <i>B. Bruntzii</i>	1/2000
» <i>B. mesentericus niger</i> (spore)	1/500
» <i>B. ballicus</i>	1/20.000

Les sérums ci-dessus n'agglutinent pas *B. Le Monnieri* au 1/40.

Nous avons étudié l'agglutination de *B. Le Monnieri* à un autre point de vue.

ACTION DU CHAUFFAGE A 80° SUR L'AGGLUTINABILITÉ. — On sait, depuis les travaux de WIDAL et SICARD (1892), EISENBERG et VOLK (1902), JOOS (1903), PORGES (1905), etc., que les Bactéries chauffées à 80° peuvent fixer l'agglutinine mais ne précipitent pas, en d'autres termes, que l'addition de sérum agglutinant à une émulsion homologue chauffée ne déterminera pas l'agglomération des Bactéries. Cette règle est générale, mais elle présente cependant des exceptions. Ainsi FABIKI (1923) vient de montrer que le chauffage influence peu le Staphylocoque (1). Il était néanmoins intéressant de vérifier si le chauffage des corps microbiens avait une action sur l'agglutination de *B. Le Monnieri*.

C'est le résultat de ces recherches que nous résumons dans le tableau suivant :

	TAUX LIMITE D'AGGLUTINATION
<i>Témoin</i> : plastides non chauffés	1/2000
A plastides chauffées à 80° pendant 5 minutes	1/400
B — — — — 10 — .	1/200
C — — — — 15 — .	1/100-1/200
D — — — — 60 — .	1/100
E — — à 110° — 20 — .	1/800

Le chauffage à 80° diminue l'agglutinabilité de *B. Le Monnieri*.

La chute de l'agglutinabilité, sensible après 5 minutes, n'augmente plus après 15 minutes.

La température de 110° détermine une chute de l'agglutinabilité plus faible que celle produite par la température de 80° C.

Certaines Bactéries, devenues inagglutinables sous l'action de la température de 80° C., peuvent récupérer leurs propriétés primitives par chauffage à 110° C. Avec *B. Le Monnieri* on n'observe pas de récupération bien nette de l'agglutinabilité. Les plastides chauffés à 80° C., puis chauffés pendant 20 minutes à 110° C., ne sont agglutinables qu'à des taux variant entre 1/200 et 1/400.

En disant que les plastides chauffés à 80° ne sont agglutinés

(1) Thèse effectuée au Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie.

qu'au 1/200, nous traduisons les résultats fournis par la méthode macroscopique. Poussons plus loin l'analyse du phénomène, étudions au microscope les mélanges *plastides chauffés + sérum homologue* et nous constaterons, du discontinu là où l'œil nu ne révélait que du continu, c'est ce que résume le tableau suivant :

Émulsion chauffée à 80° centigrades

DILUTION	RÉSULTATS DE L'AGGLUTINATION	
	<i>A l'œil nu :</i>	<i>Au microscope :</i>
1/30	Émulsion homogène.	Nombreux petits amas.
1/100	—	Petits amas peu nombreux.
1/200	—	Pas d'agglutination.

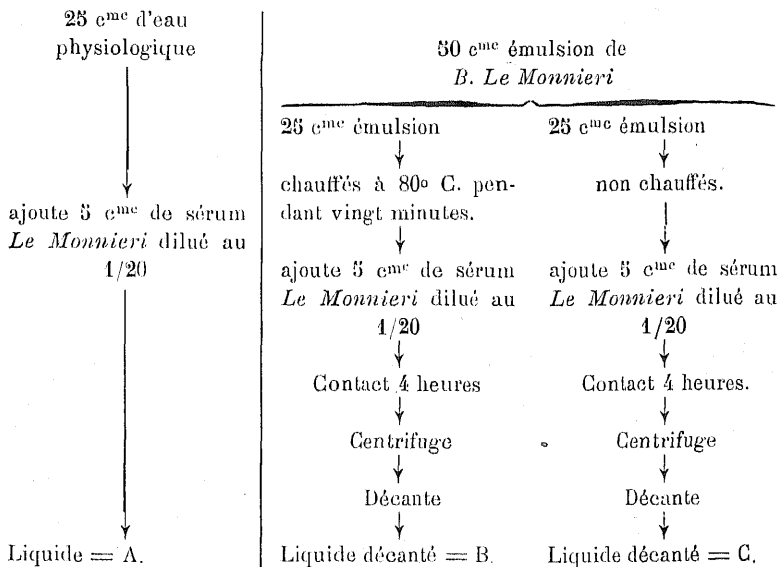
Émulsion chauffée à 80° centigrades, puis à 110° centigrades

DILUTION	RÉSULTATS DE L'AGGLUTINATION	
	<i>A l'œil nu :</i>	<i>Au microscope :</i>
1/30	Émulsion homogène.	Gros amas.
1/100	—	Nombreux petits amas.
1/200	—	Amas, mais beaucoup d'éléments isolés.
1/400	—	Pas d'agglutination.

A l'œil nu, les émulsions chauffées, additionnées de sérum, paraissent homogènes ; elles n'offrent pas trace de précipitation. Elles sont très stables, même après 20 heures, alors que les émulsions non chauffées et non additionnées de sérum précipitent plus ou moins complètement au fond des vases au bout de ce laps de temps.

Quand on examine au microscope une émulsion chauffée à 80° centigrades, mais non additionnée de sérum, on constate que malgré son apparence homogène elle est formée de plastides réunies par 2 ou 3. On a l'impression que sous l'influence du chauffage il y a amorce d'agglutination sans aller jusqu'à la précipitation, autrement dit les petits amas formés ont conservé assez d'indépendance pour ne pas se réunir en gros amas, que leur poids entraî-

nerait au fond du vase. L'émulsion chauffée à 80° centigrades, non additionnée de sérum n'est donc pas rigoureusement homogène (1). Cette suspension bactérienne, qui ne précipite pas comme la suspension non chauffée, fixe cependant l'agglutinine comme le montre l'expérience suivante :



On dose ensuite l'agglutinine libre en A-B-C à l'aide d'une émulsion non chauffée.

CONCENTRATION DES LIQUIDES EXAMINÉS	RÉSULTAT DE L'AGGLUTINATION POUR LES LIQUIDES		
	A	B	C
C/2	+	+	0
C/4	+	0	0
C/8	+	0	0
C/12	+	0	0
C/14	+	0	0
C/16	+	0	0
C/18	+	0	0
C/20	0	0	0

C = sérum pur
 C/2 = sérum 1 partie + eau 1 partie
 C/4 = sérum 1 partie + eau 3 parties

(1) Au sens bactériologique du mot.

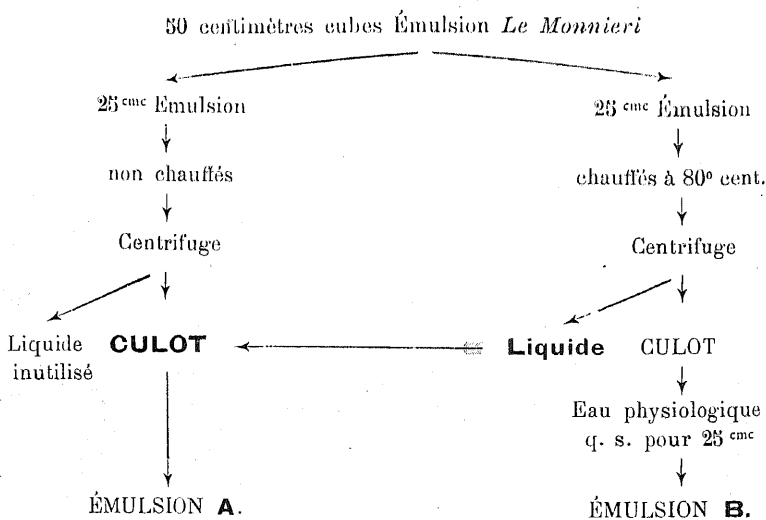
Il résulte de cette expérience :

- 1° Que les plastides chauffées fixent l'agglutinine,
- 2° Que le pouvoir fixateur des plastides chauffées est du même ordre que celui des plastides non chauffées, mais plus faible,
- 3° Que la quantité d'agglutinine fixée est bien supérieure à celle que nécessite la précipitation.

Une unité détermine la précipitation, or les plastide chauffées à 80° C. ont fixé 16 unités.

En étudiant l'agglutination de *B. chlororaphis* à l'aide d'émulsion chauffée et non chauffée, on arrive aux mêmes conclusions : *la première phase de l'agglutination* : Fixation de l'agglutinine est possible avec les émulsions chauffées, mais *la seconde phase* : la précipitation ne peut se produire.

Pour expliquer ce phénomène, on a émis l'hypothèse de corps solubles stabilisant l'émulsion (corps empêchants des auteurs). Pour vérifier l'exactitude de cette hypothèse, nous avons fait l'expérience suivante :



Les émulsions A. et B. sont mises en présence de quantités croissantes de sérum *Le Monnier*. On laisse en contact pendant quatre heures à 37° cent. On obtient les résultats suivants :

DILUTION DU SÉRUM	AGGLUTINATION	
	Émulsion A.	Émulsion B.
1/100	+	0
1/300	+	0
1/1000	+	0
1/2000	+	0
1/2400	0	0

1° Les plastides non chauffées, additionnées d'eau où baignaient les plastides chauffées se comportent comme une émulsion normale.

2° Les plastides chauffées, privées de l'eau dans laquelle elles ont été chauffées, puis mises en suspension dans l'eau physiologique ne présentent pas d'agglutination.

Par conséquent la non précipitation des émulsions chauffées n'est pas due à des corps solubles empêchants.

Précipitation de B. LE MONNIERI par les Électrolytes. — Les plastides bactériennes ayant fixé l'agglutinine sont précipitées par les ions positifs à charge simple + et à plus forte raison par les ions à charge double ++ ou triple +++.

Par contre, les plastides n'ayant pas fixé l'agglutinine ne sont précipitées que par les acides (ion H +) et les ions à charge triple +++ quadruple +++++, etc.

Chaque espèce bactérienne, précipitant à une concentration donnée d'ions H + (MICHAELIS, 1919), on avait cru pouvoir facilement caractériser les Bactéries par leurs courbes de précipitation par les acides. Mais on s'est aperçu que, dans une même espèce, les courbes pouvaient varier avec les conditions de l'expérience et que, pour des espèces différentes, les courbes pouvaient être identiques ou très voisines. Nous avons résumé dans le tableau suivant l'action de l'acide chlorhydrique sur différentes Bactéries.

Précipitation par l'Acide Chlorhydrique

HCL en milligr. par cmc (1)	B. pyocyaneus mélanogènes	B. pyocyaneus erythrogenes Souche Lasseur		B. pyocyaneus erythrogenes Souche Gessard		B. cyaneo- fluorescens		B. synyaneus		B. Brunzii		B. Le Monnier		B. chlororaphis	
	Non Chauffé	Non chauffé	Chauffé à 80° C.	Non chauffé	Chauffé à 80° C.	Non chauffé	Chauffé à 80° C.	Non chauffé	Chauffé à 80° C.	Non chauffé	Chauffé à 80° C.	Non chauffé	Chauffé à 80° C.	Non chauffé	Chauffé à 80° C.
9,125	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4,562	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,281	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,140	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,570	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,285	Totale	Totale	0	0	0	0	0	0	0	Totale	0	0	Partielle	0	0
0,142	Totale	Totale	0	Totale	Totale	Totale	Partielle	Totale	0	Totale	0	0	Totale	0	Totale
0,071	Totale	Totale	0	Totale	Totale	Totale	Totale	Totale	Partielle	0	0	0	0	0	Totale
0,0355	Totale	0	0	Totale	Totale	Totale	0	Totale	0	0	0	Totale	0	Totale	0
0,0178	0	0	0	Totale	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0089	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0044	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(1) La concentration en ions H + sera donnée dans un travail d'ensemble sur la précipitation des Bactéries par les électrolytes.

L'examen de ce tableau montre que :

1° Le chauffage modifie la précipitation des plastides bactériennes par l'acide chlorhydrique.

2° Dans certains cas, les plastides chauffées à 80° C. ne sont pas plus précipitées par l'acide chlorhydrique que par l'agglutinine homologue : *B. pyocyaneus erythrogenes*, souche LASSEUR et *B. Bruntzii*.

3° *B. cyaneofluorescens* et *B. syncyaneus*, agglutinés par le sérum *Le Monnier* offrent cependant des courbes de précipitation nettement différentes de celles de ce dernier germe.

4° Des germes différents tels que *B. Le Monnier* et *B. chlororaphis* peuvent précipiter aux mêmes concentrations d'ions H⁺, mais par le chauffage à 80° C., fait nouveau mis en évidence par LASSEUR, il est possible de différencier nettement ces germes par leurs courbes de précipitation.

FIXATION DE L'ALEXINE

La recherche et le dosage des sensibilisatrices ont été effectués suivant les techniques indiquées par l'un de nous.

En général, le sérum de lapin dilué au 1/200 et employé à la dose de 0^{cm³} 2 fixait encore 6 unités hémolytiques, c'est-à-dire 6 fois la quantité d'alexine capable d'hémolyser l'unité de globule en l'unité de temps (1).

LASSEUR, en collaboration avec HUBLER, P. VUILLEMIN jeune, SPILLMANN, a montré :

1° *Que la fixation de l'alexine est une réaction limitée.*

2° *Que le rapport entre l'alexine libre et l'alexine fixée varie avec les espèces bactériennes en expérience.*

A ce dernier point de vue, l'étude de la fixation de l'alexine par *B. Le Monnier* est intéressante.

C'est ce qui ressort de l'examen du tableau suivant, où est résumée la fixation de l'alexine en présence de sérum dilué au 1/100.

(1) LASSEUR et SPILLMANN (1921).

LAPIN N° XIV

*Anticorps : Sérum dilué au 1/100.**Antigène : Émulsion d'une culture de 24 heures.*

SUSPENSION		SÉRUM dilué au 1/100	ALEXINE		EAU	GLOBULES ROUGES sensibilisés	RÉSULTATS DE L'HÉMOLYSE
<i>B. Le MONNIERI</i>			C/1				
a	0,4	0,2	0,1	1,3	1 h. 30 à la température de 37°	1	0
b	0,4	0,2	0,2	1,2		1	0
c	0,4	0,2	0,3	1,1		1	0
d	0,4	0,2	0,4	1		1	0
e	0,4	0,2	0,5	0,9		1	0
f	0,4	0,2	0,6	0,8		1	0
g	0,4	0,2	0,7	0,7		1	0
h	0,4	0,2	0,8	0,6	1 h. 30 à la température du Laboratoire	1	Traces
i	0,4	0,2	0,9	0,5		1	Partielle
j	0,4	0,2	1	0,4		1	Partielle
k	0,4	0,2	1,2	0,2		1	Partielle
l	0,4	0,2	1,4	0		1	Partielle
m	0,4	0,2	1,5	0		1	Totale
		ALEXINE					
		C/2 C/10					
C ₁	0,2	0,2	0,0	1,6	1	Totale	
C ₂	0,2	0,2	0,2	1,4	1	Totale	
C ₃	0,2	0,2	0,4	1,2	1	Totale	
a	0,4	0	0,2	0,0	1,4	1	0
b	0,4		0,2	0,2	1,2	1	Totale
c	0,4		0,2	0,4	1	1	Totale

Nous constatons que le tube *g* à hémolyse nulle est suivi de toute une série de tubes à hémolyse partielle. Si la fixation de l'alexine était une réaction totale, le tube *i* devrait être complètement hémolysé, ce qui n'est pas.

Si nous utilisons une technique appropriée (1), nous constatons

(1) Il suffit d'utiliser la technique décrite par LASSEUR et SPILLMANN. — *Réaction anticorps*, p 51 (1921).

que la fixation de l'alexine est limitée dans les tubes h, i, j, k, l. Les quantités d'alexine libre et fixée croissent avec la concentration du milieu en alexine, mais tant que la quantité d'alexine libre n'atteindra pas la valeur de l'unité hémolytique, l'hémolyse restera partielle. Avec d'autres germes on pourra observer une marche différente de l'hémolyse.

L'avidité du complexe fixateur pour l'alexine varie avec les germes considérés, ainsi *B. Le Monnieri* et *B. chlororaphis* se comportent de façon différente dans les mêmes conditions d'expérience.

	ALEXINE MISE EN CONTACT DU COMPLEXE FIXATEUR	ALEXINE FIXÉE ‰
Antigène <i>chlororaphis</i> + sérum <i>chlororaphis</i> :	0,425	92,4
Antigène <i>Le Monnieri</i> + sérum <i>Le Monnieri</i> :	0,425	78,4

Dans les deux espèces, cette variation du rapport

$$\frac{\text{alexine libre}}{\text{alexine fixée}}$$

se traduit objectivement par des tubes à hémolyse nulle suivis de tubes à hémolyse totale pour *B. chlororaphis* et par des séries de tubes à hémolyse partielle pour *B. Le Monnieri* (1).

En déterminant certaines modifications physico-chimiques de l'antigène, on doit pouvoir modifier le rapport

$$\frac{\text{alexine libre}}{\text{alexine fixée}}$$

On y arrive, en effet, en chauffant pendant 20' les plastides bactériennes à des températures variant de 60 à 75, 80 et 85° C. Généralement le chauffage détermine une chute du pouvoir fixateur.

ANTIGÈNE	ALEXINE FIXÉE	
	1 ^{re} SÉRIE	2 ^e SÉRIE
Plastides vivantes.	8 unités	7 unités
Plastides chauffées à 60°.	3 —	3 —
— à 80°.	3 —	2 —
— à 85°.	» —	1 —

(1) Réaction anticorps loc. cit., p. 77.

Mais il modifie en même temps le rapport $\frac{\text{alexine libre}}{\text{alexine fixée}}$

Nous savons que :

$$\begin{aligned} C_1 &= K C_2 + B, \\ C_1 &= \text{alexine fixée.} \\ C_2 &= \text{alexine libre.} \end{aligned}$$

Après chauffage B augmente, par suite, l'alexine libre apparaîtra beaucoup plus tard dans les systèmes à concentration croissante en alexine. Par conséquent, les techniques sérologiques habituelles donneront des réactions bien plus nettes avec les plastides chauffées qu'avec les plastides vivantes. Pratiquement, le gain en netteté compensera la perte en intensité.

Les complexes fixateurs *Le Monnieri* sont encore intéressants à un autre point de vue. Leur faible avidité pour l'alexine laisse supposer que l'équilibre ne doit pas s'établir très rapidement (1) dans les systèmes: *Antigène + Anticorps + Alexine*. C'est ce que l'expérience vérifie. L'état d'équilibre final ne peut pas être atteint avant 3 heures.

L'étude approfondie des principaux caractères morphologiques et biologiques de *Bacillus Le Monnieri* vient de nous révéler bien des particularités inaperçues lorsque l'un de nous créa cette espèce. La plupart des diagnostics spécifiques ne reposent pas sur un tel luxe de détails. Loin d'en conclure que cette création est mieux justifiée que celle des autres espèces de Bactéries chromogènes, nous estimons nécessaire de soumettre à une analyse aussi précise presque toutes les Bactéries chromogènes bleues avant de conclure d'une comparaison rigoureuse que *B. Le Monnieri* en est spécifiquement distinct.

A notre instigation, M. P. GODFRIN prépare un travail où sera résumé l'état actuel de nos connaissances sur les Bactéries de ce groupe. La légitimation de l'espèce *B. Le Monnieri* résultera de la publication du mémoire de notre collaborateur.

Dans ce présent travail nous avons fourni un exemple de la

(1) Evidemment il y a une suite d'états d'équilibre.

méthode à suivre pour apprécier à leur juste valeur les caractères sur lesquels est fondée une espèce bactérienne. Les caractères spécifiques, supposés immuables dans leur essence, ne se manifestent à notre observation que par des phénomènes variables. *B. Le Monnieri* nous montre des degrés dans la décoloration par la méthode de Gram, dans la motilité, dans la liquéfaction de la gélatine, dans la forme et la coloration des colonies, dans l'agglutination ou la fixation et autres réactions anticorps. Nous avons cherché le pourquoi de ces fluctuations ; nous l'avons trouvé dans les conditions de l'expérience notées avec soin.

(Travail du Laboratoire de Microbiologie de la
Faculté de Pharmacie. — Janvier 1924).



EXPLICATIONS DES PLANCHES

Les figures 1 - 2 - 3 de la planche I et 1 et 2 de la planche II ont été dessinées à l'aide de la grande chambre claire de ZEISS et avec les objectifs 1/18 de REICHERT ou 1,5 de ZEISS (apochromatique) et l'oculaire compens. 15 de ZEISS.

PLANCHE I

- FIG. 1. — Culture de 24 heures sur milieu synthétique II.
Fixation alcool, coloration MAY-GRÜNWARD — GIEMSA.
- FIG. 2. — Culture de 24 heures sur milieu synthétique II.
Examen à l'état frais. Les plastides sont colorés par le pigment.
- a) Formation de la cloison transversale dans l'interprétation de GUILLERMOND.
 - b) Partie hyaline divisant la cloison formée.
- FIG. 3. — Culture sur gélose. Examen à l'état frais, très légère coloration par le bleu de toluidine. Grains métachromatiques.
- FIG. 4. — Fragment d'une colonie sur gélatine. Colonie âgée de 5 jours ; 8° isolement. Aspect imbriqué. Gros. 50 diamètres.
- FIG. 5. — Bord d'une colonie liquéfiée. La structure imbriquée devient de moins en moins nette.
-

PLANCHE II

Imprégnation argentique

Culture sur gélose âgée de 12 - 18 heures à 20° C.

- FIG. 1. — Cytoplasme jaune brun, fouets de même couleur.
 b - c - d - f - artifices de préparation donnant l'illusion de fouets ramifiés.
 a - g - h - montrent l'origine cytoplasmique des fouets.
- FIG. 2. — Cytoplasme et fouets jaune très clair. Membrane foncée.
- a) Diplobacille muni de fouets aux pôles libres.
 b) Fouet bien fixé.
 c) Fouet mal fixé.

PLANCHE III

- FIG. 1. — Schéma représentant les différentes zones d'une colonie sur gélatine.
- FIG. 2. — Fragment d'une colonie sur gélatine. Aspect radié dû à la liquéfaction.
- FIG. 3. — Schéma représentant l'aspect de la Bande I pour une épaisseur de 30^m/_m de liquide.

PLANCHE IV

- FIG. 1. — Culture sur milieu synthétique II, âgée de 3 jours.
- FIG. 2. — Culture sur pomme de terre glycinée, âgée de 4 jours. Les cultures offrent en général des colorations rouges et violettes plus intenses que celles indiquées Figures 1 et 2.

FIG. 3. — Culture sur gélatine. La zone de diffusion du pigment fluorescent n'a pas été représentée.

a) Colonie superficielle, centre jaune et cristaux bleus.

b) Colonie superficielle, centre bleu foncé.

c) Colonie profonde.

FIG. 4. — Cristaux bleus provenant de colonie sur gélatine
Gross = 700 diamètres.



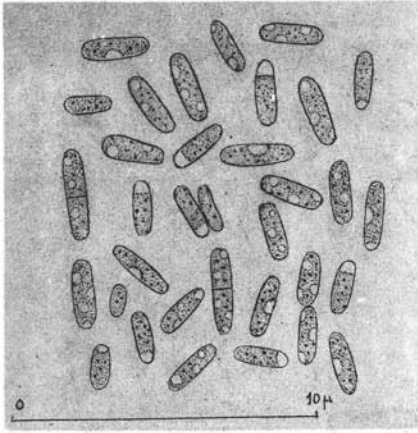


Fig. 1

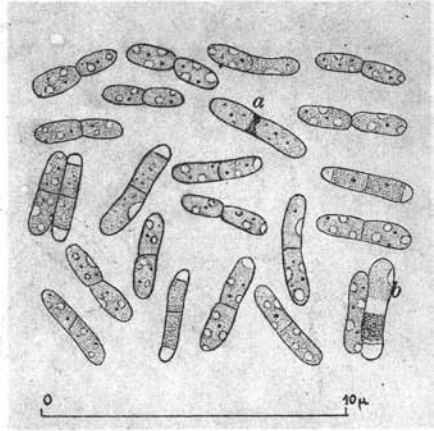


Fig. 2

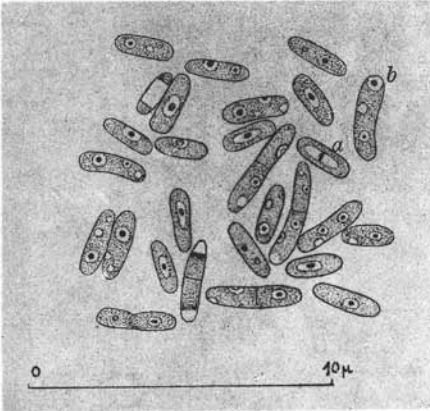


Fig. 3

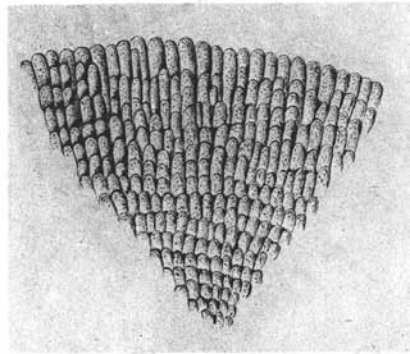


Fig. 4

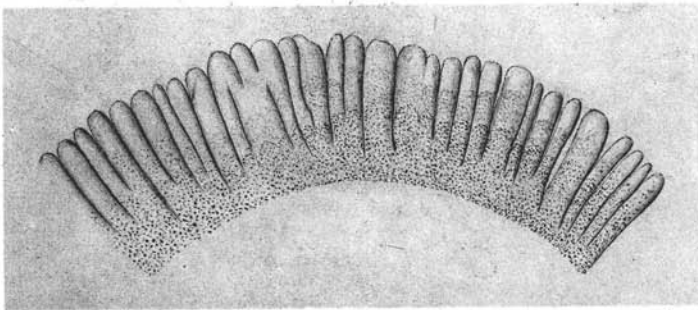


Fig. 5

BACILLUS LE MONNIERI Lasseur

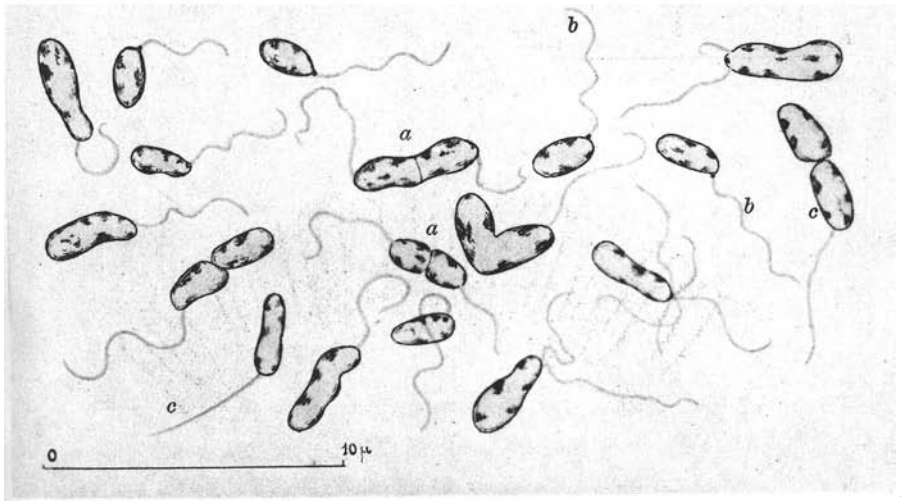
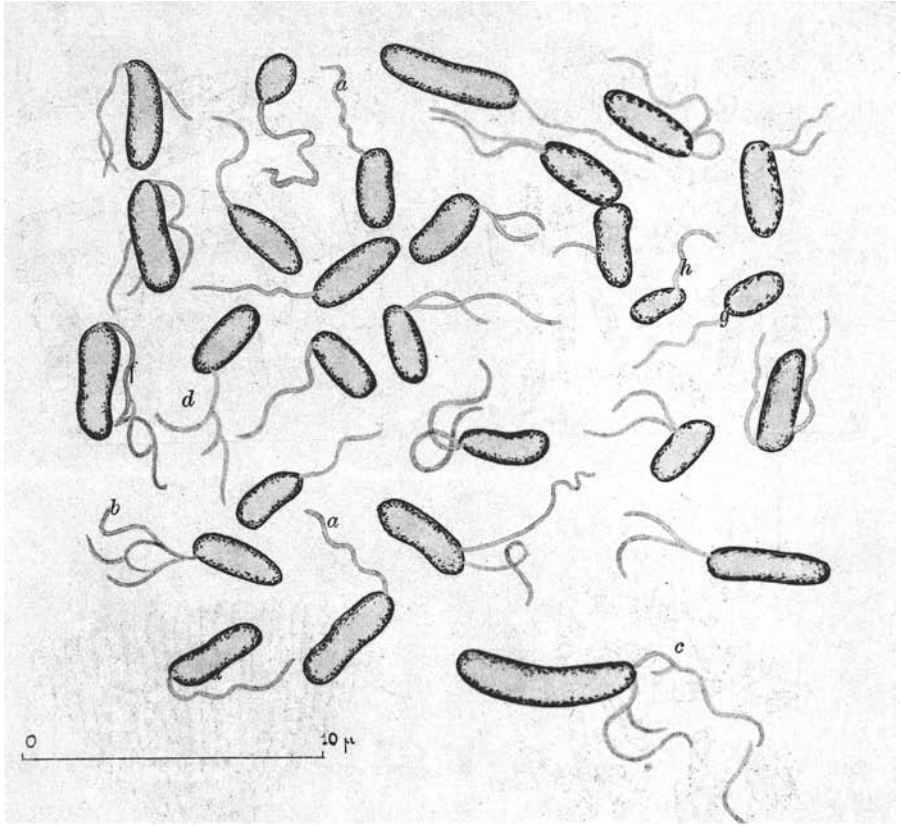


Fig. 2

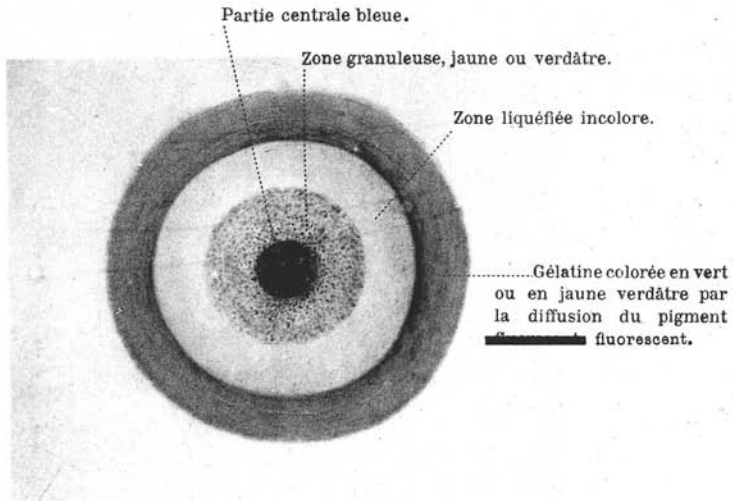


Fig. 1

Schéma représentant les différentes zones d'une colonie sur gélatine.

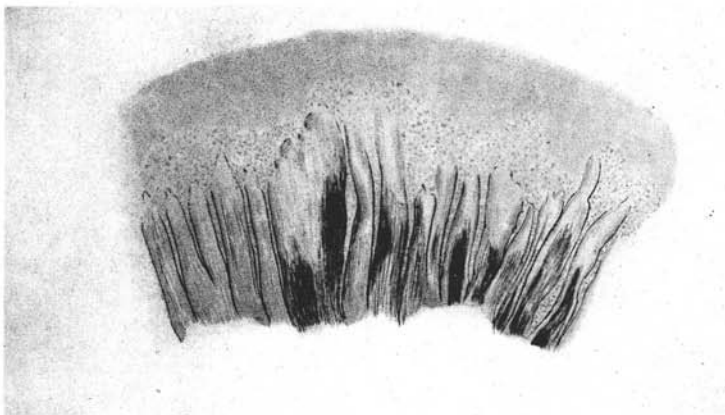


Fig. 2

Fragment d'une colonie sur gélatine - Aspect radié dû à la liquéfaction.

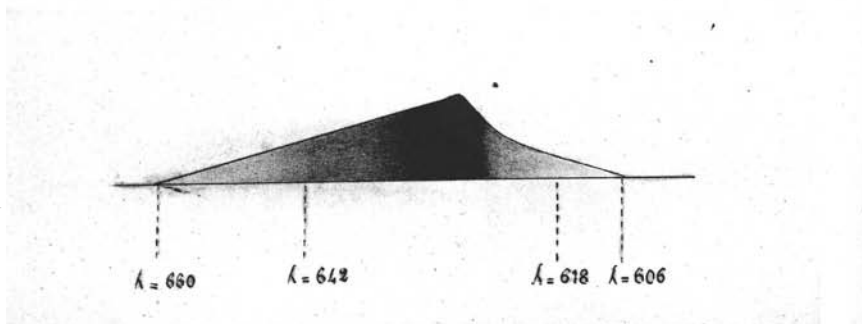


Fig. 3

Schéma représentant l'aspect de la Bande I pour une épaisseur de 30 $\frac{m}{m}$ de liquide.

BACILLUS LE MONNIERI Lasseur

Planche IV

