

Zeitschrift: Bulletin de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 38 (1946)

Artikel: Contribution à l'étude de l'Escherichia Coli
Autor: Taugwalder, Rodolphe
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099451>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Contribution à l'étude de l'*Escherichia Coli*

- I. Dédifférenciation raciale.
- II. Tolérance du phénol.

par

Rodolphe TAUGWALDER
de Zermatt (Valais)

INTRODUCTION

Il y a très peu de bactéries dont les multiples études ont fait couler autant d'encre et à propos desquelles on a trouvé des résultats aussi disparates que l'*Escherichia Coli* (Escherich) (1). Les différents caractères — quelquefois diamétralement opposés — qu'on a été amené à attribuer à l'*E. coli* montrent à l'évidence la disparité qui existe dans les résultats de ces recherches (2).

L'*E. coli* joue de nos jours encore un très grand rôle dans l'analyse bactériologique de l'eau. La recherche des bacilles du typhus, du paratyphus dans l'eau a donné presque constamment des résultats négatifs ; pourtant ces bacilles peuvent parfaitement exister dans l'eau au moment de sa consommation ! Ils se rencontrent ordinairement dans les déjections des malades typhoïdiques ou paratyphoïdiques ou dans celles des porteurs de germes. Ces germes pathogènes sont accompagnés de milliards de bactéries de la flore microbienne intestinale normale. Il est donc d'une extrême importance de mettre en évidence une bactérie habitant de façon habituelle nos intestins ; pareil microbe doit pouvoir être

recherché sans grandes difficultés dans les matières fécales. Tous les pays, à l'exception de l'Angleterre et des Etats-Unis de l'Amérique du Nord (qui recherchent également la présence des streptocoques et des entérocoques) prennent l'*E. coli* comme index de la souillure de l'eau (3).

Nous nous sommes rendu compte que l'étude de l'*E. coli*, qui a déjà fait l'objet de tant de recherches, est des plus difficiles. Il y a de telles divergences dans les résultats obtenus par les différents microbiologistes qu'on peut se demander à juste titre, s'ils ont tous travaillé avec l'*E. coli* à caractères biologiques typiques. Les bactéries étiquetées, *E. coli*, selon les diverses souches, présentent en effet, des différences d'importance variable. N'y aurait-il pas lieu de se demander enfin, si dans le groupe de l'*Escherichia coli*, il n'existerait point un très grand nombre de variétés, rigoureusement semblables, sauf en ce qui concerne la fixité de leurs caractères?

Depuis les travaux d'Escherich, de nombreuses commissions internationales ont jugé utile de codifier les critères qui permettent d'identifier l'*E. coli* typique (Darmkoli). Si de nos jours, les microbiologistes sont unanimes à considérer l'*E. coli* comme hôte normal de la flore intestinale, ils sont beaucoup moins d'accord sur les caractères spécifiques authentifiant ce bacille (4).

Dans toutes nos recherches personnelles, nous avons considéré comme *E. coli* typique, les souches correspondant aux caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques suivants : bacille à extrémités arrondies, aérobic facultatif, plus ou moins mobile, non sporulé, ne liquéfiant pas la gélatine et ne prenant pas le Gram ; sur gélatine et sur gélose, les colonies sont plates, grisâtres, translucides et à contours irréguliers ; le lait est coagulé en masse compacte ; ce microorganisme donne la réaction de l'indol sur milieu peptoné ; il fait virer le rouge neutre en milieu glucosé ; il fait fermenter les hydrates de carbone suivants : glucose, fructose, saccharose, lactose, maltose, mannite, sorbite, glycérine (5 et 6).

A. PARTIE GÉNÉRALE

I. COMPOSITION ET BESOINS ALIMENTAIRES DE L'ESCHERICHIA COLI

1. Insuffisance des milieux de composition indéfinie.

Dès le début des recherches entreprises sur la physiologie des bactéries, l'intérêt principal des études faites alors, se porta sur la virulence de ces micro-organismes pour l'organisme animal et humain. Pour étudier les microbes pathogènes et pour trouver les milieux les plus adéquats à chacune des espèces microbiennes, la connaissance de leur métabolisme particulier est de la plus haute importance ; Karl Bœhnke (7) avait démontré en 1911 déjà, le rôle primordial du métabolisme pour les caractères biologiques des bactéries. Les diverses recherches portaient à cette époque sur la formation de l'ammoniaque et sur la fermentation des hydrates de carbone (sucres). La désagrégation des sucres, ainsi que la désagrégation des albumines par les bactéries, ont donné des résultats très intéressants. Mais on remarqua bientôt que l'on obtenait — avec les mêmes espèces bactériennes — des résultats divergents selon l'âge des souches, la température d'incubation, la composition et le pH du milieu. L'intensité de la multiplication microbienne dépendant de la plus ou moins grande richesse du milieu, il fut nécessaire de trouver des milieux de culture de valeur nutritive constante, pour pouvoir comparer les résultats des différentes recherches. Le bouillon, selon qu'il a été préparé à partir de viande fraîche hâchée ou d'extraits de viande, montre de trop grandes différences dans sa teneur en tryptophane. La peptone elle aussi, présente de très grandes fluctuations dans sa composition (8). C'est pourquoi les microbiologistes se rendent de plus en plus compte que seuls des milieux de culture simples, synthétiques — dans lesquels chaque constituant est qualitativement et quantita-

tivement connu — permettent d'étudier exactement et de façon coordonnée le métabolisme des microorganismes. Ce n'est qu'en utilisant des substrats chimiquement définis qu'on pourra comparer les résultats des recherches dans les différents laboratoires et en tirer les conclusions. Ces considérations ont amené nombre de savants à mettre au point divers milieux ; l'uniformisation des méthodes a permis des comparaisons précises.

2. Composition minérale des bactéries

Certes, il n'était pas facile de trouver autrefois des milieux synthétiques et ce n'est qu'après de longues recherches qu'on y est arrivé. L'analyse chimique des bactéries a montré que celles-ci, comme la plupart des organismes, sont composées en grande partie d'eau. Sur ce point, il faut relever avant tout, les analyses chimiques faites par Nencki, Kappes et Ruppel. Après avoir nettoyé les bactéries des matières provenant des milieux, ils ont trouvé les résultats analytiques ci-dessous mentionnés.

Nencki a étudié un mélange de bactéries putrides, dont la composition était la suivante (9) :

Eau	83,42
Albumine	13,96
Graisses et cires	1,00
Cendres	0,78

Kappes (10) a fait des recherches avec le *Bac. prodigiosus* :

Eau	85,45
Albumine	10,33
Graisses et cires	0,70
Cendres	1,75

Ruppel (11) a trouvé avec le bacille de Koch les résultats suivants :

Eau	85,00
Albumine	8,50
Graisses et cires	4,00
Cendres	1,40

Fischer constate avec justesse que les résultats des analyses ne peuvent donner qu'une idée générale de la composition des bactéries, étant donné qu'elle change selon la nutrition. Selon lui, les cendres augmentent si les matières minérales sont en abondance ; si par contre, les milieux de nutrition contiennent beaucoup de protides, c'est la teneur en albumine qui augmente (12).

3. Solutions minérales nécessaires à la croissance des bactéries

La faible teneur en cendres retenue dans les analyses de Nencki, Kappes et Ruppel nous montre que les matières minérales ne doivent être ajoutées qu'en petites quantités aux milieux de culture des bactéries. Les éléments qui sont indispensables pour le bon développement de ces microorganismes sont les suivants : S, P, Ca, Mg, K, Na, des traces de Cl et de Fe. Selon Fischer, la solution minérale doit être composée des matières suivantes :

K_2HPO_4	0,1 %
$MgSO_4$	0,02 %
$CaCl_2$	0,01 %
$NaCl$	0,1 %
Fe	en petites quantités

Cette composition peut de nos jours encore servir de base pour la partie minérale d'un milieu de culture. Divers savants

ont essayé d'introduire d'autres éléments, par exemple du Mn, Li, Sr, Ba ; le succès de ces expériences a été toujours plus ou moins douteux.

Gray et Thornton (13) ont récemment employé pour la recherche des bactéries du sol une solution minérale de la composition suivante :

K_2HPO_4	0,1 %
$MgSO_4$	0,02 %
$NaCl$	0,01 %
$CaCl_2$	0,01 %
$FeCl_2$	0,002 %

4. Sources de carbone et d'azote nécessaires aux bactéries

Si la composition de la solution minérale a peu varié dans ces deux milieux dont le second date de 40 ans plus tard que le premier, l'évolution des sources de carbone et d'azote a été beaucoup plus prononcée.

L'azote inorganique est suffisant pour certaines bactéries ; d'autres peuvent employer comme seule source de carbone un acide aminé simple ; il y a une série de bactéries qui peuvent seulement se nourrir de peptone. Comme source de carbone le sucre était le plus souvent employé. Certaines bactéries attaquent les sels des acides organiques.

Le comportement de certaines bactéries vis-à-vis de milieux distincts a permis de trouver des milieux de différenciation ; on est arrivé de cette façon aux milieux synthétiques.

Cohn (14) a donné comme milieu de culture synthétique pour les bactéries la composition suivante :

K_2HPO_4	0,1
$MgSO_4$	0,1
$Ca_3(PO_4)_2$	0,01
NH_4 -tartrate	0,2

Fraenkel (15) a recommandé le milieu synthétique suivant :

NaCl	5 gr.
K ₂ HPO ₄	2 gr.
NH ₄ -lactate	6 gr.
Asparagine	4 gr.
H ₂ O	1000 gr.

Ce milieu était alcalinisé par NaOH.

Braun et Wördehoff (16), faisant des recherches avec le *Bact. dysenteriae* ont constaté que l'action enzymatique était bonne dans un milieu qui avait comme source d'azote et de carbone le succinate d'ammonium.

En partant de ces milieux très simples, on a créé de nombreuses variations jusqu'aux milieux les plus compliqués comme celui, employé par Kuhn (17) pour le *Streptobacterium plantarum* où des facteurs de croissance et une série d'acides aminés ont été ajoutés.

5. Composition minérale du E. coli

Guillemin et Larson (18) ont analysé les cendres de l'*E. coli* et sont arrivés au résultat suivant :

Ca ₃ (PO ₄) ₂	35,61 %
MgO	5,92 %
SO ₄	1,78 %
Fe ₂ O ₃	3,35 %
K	12,95 %
Na	2,61 %
P ₂ O ₅	33,99 % = 96,21 %

6. Solution minérale nécessaire à la culture du *E. coli*

L'analyse des cendres, provenant du *E. coli* nous apprend que la partie minérale du milieu proposé par Fischer contenait tous les éléments nécessaires à la culture de ce germe.

Frielein (19) a montré que le K, Na et Cl ne sont pas indispensables dans un milieu à base de lactate d'ammonium, à condition que ces éléments ne manquent pas simultanément. Par contre le Mg et le SO₄ qui activent la croissance sont indispensables.

Thiele und Jansen (20) ont essayé d'influencer la croissance de l'*E. coli* par le Li, Na, K, Sr, Ba et les vitamines A, B, D, et E. Les résultats obtenus sont négatifs sur toute la ligne.

7. Sources de carbone et d'azote nécessaires
à la croissance du *E. coli*

Braun (21) a trouvé que l'*E. coli* employait comme source de carbone et d'azote le lactate d'ammonium ; cela a été confirmé par les recherches de Pozerski (22).

Koser (23) constatait que plus de 50 souches d'*E. coli* peuvent utiliser un sel d'ammonium de l'acide acétique, de l'acide succinique, de l'acide malique ou de l'acide lactique, comme source d'azote et de carbone.

Quastel et Whetham (24) font remarquer que les succinates, les lactates et les formiates se prêtent très bien comme source de carbone pour l'*E. coli*.

Folpmers (25) a recommandé comme milieu de culture pour l'*E. coli* le formiate de sodium (HCOONa).

Cahn-Bronner (26) a relevé le fait que l'*E. coli* peut employer un sel d'ammonium comme unique source d'azote pour autant que ce bacille ait à sa disposition une source de carbone appropriée.

Leinbroek (27) a émis également l'idée que l'*E. coli* peut utiliser comme seule source de carbone, les sels des acides organiques pour autant qu'il ait à sa disposition une source d'azote appropriée.

Lieb (28) a constaté que l'*E. coli* peut attaquer dans un milieu alcalin les acides aminés, tandis que ce pouvoir fermentaire n'existe pas dans un milieu fortement acide.

Mickelson (29) et Werkmann ont relevé que le formiate est vite décomposé par l'*E. coli* dans un milieu acide.

Smit, Kroland et van Wijk (30) ont employé dans leur milieu de culture un sel de l'acide glutamique.

Koser (31) constate que le *B. aerogenes* peut employer un sel de l'acide citrique comme source de carbone; l'*E. coli* provenant d'animaux supérieurs par contre n'a pas cette faculté.

Etant donné que l'*E. coli* peut utiliser comme source de carbone un sel d'acides organiques, et que la littérature recommande le succinate, nous avons choisi comme source de carbone pour le milieu synthétique de nos recherches, le succinate de sodium.

II. MILIEU DE CULTURE

ET ADAPTATION ENZYMATIQUE DE L'ESCHERICHIA COLI

La notion d'espèce collective est familière à tous les microbiologistes qui se sont attachés à l'étude d'une espèce de micro-organisme. Il est toutefois assez rare d'assister à la naissance de ces petites formes, dont l'ensemble constitue l'espèce collective. Les causes de ces différences, qui distinguent les races élémentaires, restent donc dans la plupart des cas ignorées. Pour l'*E. coli*, le bactériologiste est toutefois mieux placé. Le nombre extraordinairement élevé des essais réalisés avec ce microbe dans des conditions définies, a permis

d'enregistrer toute une série de modifications expérimentales, dont plusieurs se sont avérées durables. Les caractères nouveaux consistent le plus souvent en une perte ou une acquisition de pouvoir fermentaire à l'égard des hydrates de carbone, parfois à l'égard des substances oxydo-réductibles, d'autres fois à l'égard des matières protéiques.

Le principe général illustré par les exemples que nous signalerons est le suivant : la présence dans le milieu externe d'un irritant (aliment nouveau, colorant, toxique, etc.) déclenche dans le milieu interne de la cellule la naissance, le réveil, l'atrophie ou la disparition d'un pouvoir enzymatique. Dans la plupart des cas, nos documents sont insuffisants pour saisir les relations qui unissent la cause irritante à ses effets, qui sont le plus souvent indirects. Les cas les plus simples, connus sous le nom d'adaptation enzymatique, sont ceux où le microbe s'habitue à un sucre nouveau et riposte par la production plus intense du ferment spécifique de ce sucre. Telle relation pour compliquée encore qu'elle soit, reste moins énigmatique que celle observée dans le cas où l'irritation due au phénol intervient dans le pouvoir indoligène.

Nous avons réuni dans les pages qui suivent les principales données relatives à ce sujet pour l'*E. coli*.

Il est établi que les *E. coli* d'origines différentes (urine, matières fécales humaines ou animales, eaux, etc.) ou cultivés dans des milieux plus ou moins riches en substances nutritives, se comportent diversement au point de vue de certaines de leurs réactions biologiques. Ce fait a été constaté entre autres par P. Fabry (32) qui a montré qu'on peut obtenir une nouvelle race d'*E. coli* en cultivant ce microbe pendant un certain temps dans du bouillon additionné de phénol. L'*E. coli* nouveau ne produit plus d'indol en eau peptonée. Fabry a essayé de différencier par d'autres caractères le nouvel *E. coli* de celui dont il est parti primitivement. La fermentation du sucre n'a pas permis de différencier ces deux microbes, ni l'examen microscopique.

Depuis ce temps, la fonction productrice de l'indol ne s'est pas montrée à nouveau, malgré de nombreux passages

en milieux nutritifs variés. Il semble donc bien qu'il y a là une modification durable.

Jeanne Lommel (33), elle aussi a constaté que sur seize *E. coli*, 3 ont perdu leurs propriétés indoligènes au vingtième passage dans les milieux nutritifs additionnés de phénol à 0,5%. Elle a constaté que les variations étaient moins marquées pour les sucres. Vis-à-vis de la glycérine les diverses souches de l'*E. coli* se montrent très inégalement actives et donnent des variations bien plus considérables. Il est particulièrement intéressant de signaler que des *E. coli* initialement inactifs vis-à-vis du sucre (saccharose) deviennent très actifs sous l'influence du milieu modificateur phénolé.

Les essais de Jeanne Lommel (33) avec l'*E. coli* et les matières colorantes ont aussi donné des résultats intéressants. Elle a constaté que sous l'influence du vert malachite 9 souches sur 15 employées, et sous l'influence du bouillon safraniné 4 sur 16 souches sont devenues absolument inactives vis-à-vis du lactose.

S'agissait-il d'une modification biochimique définitivement acquise ? Pour le savoir, Jeanne Lommel a pratiqué des repiquages répétés de ce microbe modifié sur la gélose ordinaire. Certains de ces microbes, malgré 86 repiquages n'ont plus donné d'activité vis-à-vis du lactose. D'autre part, ces mêmes souches ont ainsi perdu définitivement la fonction indoligène malgré des repiquages en bouillon ordinaire.

Jaffé (34), lui aussi, a trouvé dans une même selle des *E. coli* présentant des propriétés biochimiques différentes. Bien que ce dernier auteur ait soumis exactement aux mêmes conditions les souches qu'il utilisait, plusieurs d'entre elles ont changé leurs caractères biologiques au cours des expériences. Il lui semblait que quelques souches isolées de l'eau et, par conséquent habituées à vivre dans un milieu nutritif habituellement pauvre, ne se développaient pas immédiatement dans des milieux riches ; il leur fallait un temps d'adaptation. Il est certain, que des souches conservées plus ou moins longuement en eau stérile, se comportaient très diffé-

remment après ensemencement en milieux ordinaires. Les raisons de ces modifications, que nous avons pu observer à notre tour sont dues, d'une part à la composition des milieux, (pauvreté) et d'autre part au comportement des bactéries elles-mêmes (stabilité).

Ruprecht Bartels (35) a attiré également l'attention des microbiologistes sur le fait que la résistance des bactéries du sol vis-à-vis du phénol dépend dans une large mesure de leur alimentation.

Nombre d'auteurs ont rapporté la cause de ces résultats divergents à la source d'azote. L'azote, d'après eux, selon qu'il est de source inorganique ou organique, peut provoquer des changements dans les particularités morpho-biologiques du germe.

Le microbiologiste Emmerling (36) a trouvé que l'*E. coli* cultivé dans un milieu synthétique comprenant de l'azote inorganique présentait certaines différences qui l'opposait à l'*E. coli* qui avait à sa disposition une source d'azote organique (peptone).

Hausam (37) a réussi par des essais sur des souris blanches à transformer l'*E. coli* de forme normale en une forme pléomorphe.

C. Revis (38) a montré qu'on peut en cultivant l'*E. coli* sur un milieu additionné de vert de malachite obtenir deux souches différentes : l'une d'elles ressemblait à la souche primitive, tandis que l'autre a toujours montré dans ses subcultures des propriétés différentes. Il a constaté que certains enzymes, dont la présence avait été contrôlée, avaient disparu dans la suite.

F.-M. Scales (39) a trouvé que 28 souches cultivées au laboratoire présentaient des propriétés typiques ; quand il les a cultivées sur des milieux spéciaux, beaucoup de ces souches ont donné une image disparate quant à leurs caractères biologiques.

Shermann et Wing (40) ont fait des essais avec des cultures pures de l'*E. coli*. Les propriétés biologiques (carbohydrases)

de leurs subcultures ne ressemblaient plus à celles que les cultures avaient au début des essais. Les souches qui étaient longtemps cultivées sur le milieu synthétique présentaient une constance remarquable de leurs propriétés biologiques.

Silberstein, Rappaport et Kolmer (41) ont réussi, dans leurs essais avec un milieu additionné du sucre Sia, à différencier deux *E. coli* tout à fait distincts. Ces deux *E. coli* revenaient au type commun primitif par des passages sur des milieux de culture appropriés.

Fleury (42) lui aussi, a montré que l'*E. coli* peut s'acclimater au milieu dans lequel il est appelé à vivre.

Leinbrock (43) également a prouvé que la variation du pouvoir fermentaire des *E. coli* isolés de mêmes personnes, mais à des moments différents, était due aux conditions changeantes du bol intestinal (acidité, nutrition).

Marchal (44) a constaté l'apparition chez le *E. coli mutabile* d'une propriété se conservant à travers les générations et pouvant être considérée comme une modification durable. Les questions suivantes se posaient alors : quelle est l'origine de cette propriété ? L'*E. coli* récupère-t-il une propriété passée à l'état latent et n'attendant que la présence du lactose dans le milieu pour se manifester ? Ou bien l'*E. coli* acquiert-il une propriété nouvelle ?

Tous ces travaux montrent nettement combien les caractères biologiques de l'*E. coli* dépendent de ses possibilités nutritives et combien il est nécessaire de tenir compte de ce fait dans les expériences réalisées sur ce bacille. Il ne semble pas difficile de classer — grosso modo — les *E. coli* en bacilles typiques et en bacilles atypiques ; mais la question qu'il conviendrait d'étudier expérimentalement et de façon définitive, est de savoir si les *E. coli* typiques peuvent devenir atypiques et si les *E. coli* atypiques peuvent réacquérir les caractères d'un bacille typique sous l'influence d'un changement de nutrition.

Marchal (45) a défini la *mutation* comme suit : « Elle est une modification du patrimoine héréditaire, siège dans les

cellules germinales, et apparaît brusquement, sans cause apparente ». La *variation* est considérée, selon lui, comme étant « une réaction de l'être due aux changements du milieu qu'il habite ». Il distingue entre la variation morphologique (polymorphisme bactérien) et la variation biologique (concernant la pigmentation, le pouvoir fermentatif, l'accoutumance vis-à-vis des substances toxiques, la production de spores, etc).

Kaström (46) a démontré qu'il y a deux sortes d'enzymes chez les bactéries : les enzymes adaptatifs et les enzymes constitutifs. Les enzymes adaptatifs ne sont présents que dans certaines circonstances, tandis que les enzymes constitutifs sont toujours présents.

John Yudkin (47), qui a fait une série de recherches sur la variation enzymatique des microorganismes, est arrivé à la conclusion que les enzymes, qui étaient acquis par les microorganismes par adaptation, se perdaient facilement, tandis que les enzymes qui provenaient d'une mutation ou d'une sélection risquaient d'être permanents.

Yudkin, Stephenson et Stickland (48, 49) ont étudié différents types de ferments adaptatifs ; ils ont constaté que l'action enzymatique chez l'*E. coli* dépendait avant tout de la composition du milieu et des conditions de culture.

B. PARTIE EXPÉRIMENTALE

ESSAI D'UNIFORMISATION DES CARACTÈRES FERMENTAIRES D'UNE COLLECTION HÉTÉROGÈNE D'*ESCHERICHIA COLI* PAR CULTURE PROLONGÉE SUR UN MILIEU UNIQUE

1. Problème

Les données bibliographiques prouvent que l'emploi de milieux nutritifs divers conduit, par le mécanisme d'adaptation enzymatique, à des « clones » ou « sports » distincts. (mutants somatiques, « saltation »). On assiste donc au réveil ou éventuellement à la naissance d'un pouvoir fermentaire nouveau.

On peut légitimement se demander si le processus est réversible ; c'est-à-dire si l'uniformisation du pouvoir fermentaire est possible par emploi d'une nourriture unique et prolongée, en partant de types différents à l'origine.

Il est possible qu'en cultivant des *E. coli* pendant plusieurs mois dans le même milieu, c'est-à-dire dans les mêmes conditions de vie, on obtiendra des souches d'*E. coli* ayant des pouvoirs fermentaires et des actions biologiques plus semblables.

2. Milieu choisi

Nous avons choisi pour nos recherches un milieu de culture de composition suivante :

K_2HPO_4	1,0
$MgSO_4$	0,2
NaCl	0,1
$(NH_4)_2SO_4$	1,0

CaCl ₂	0,1
FeSO ₄	0,01
Succinate de sodium	1,0
H ₂ O ad	1000,0

Pour la partie minérale de ce milieu nous nous sommes inspirés des recherches faites par Gray et Thornton (50). Ces deux microbiologistes ont fait des recherches sur les bactéries du sol et ont trouvé qu'une série d'entr'elles pouvaient très bien se développer dans le milieu suivant :

K ₂ HPO ₄	1,0
MgSO ₄	0,2
NaCl	0,1
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0
CaCl ₂	0,1
FeCl ₂	0,02
H ₂ O	1000,00

Comme source de carbone ils ont ajouté l'acide phénique ou le méta-crésol de 1 ‰ à 1/2 ‰.

Dans notre milieu nous avons pris comme source de carbone le succinate de sodium fortement recommandé par Koser (51), Quastel (52) et Braun (53) pour l'*E. coli*. Nous avons pris comme source d'azote un sel d'ammonium, car déjà Friedlein (54) a constaté que l'asparagine ne se prêtait pas mieux que l'ammonium pour la culture de l'*E. coli*.

Nous avons fait des recherches préliminaires pour voir si les souches d'*E. coli* pouvaient se développer dans ce milieu. Nous avons cultivé nos différents *E. coli* jusqu'à la sixième subculture et soumis ces subcultures âgées de 4 jours aux épreuves nécessaires pour vérifier que leurs qualités biochimiques correspondaient à celles de l'*E. coli* type. (cf. page 6). La sixième subculture a donné pour les *E. coli* mis à l'épreuve le même résultat que la 1^{re} culture. Ces cultures étaient placées à l'étuve à 37°.

Nous avons dissous les sels minéraux de notre milieu dans l'eau, à l'exception du sulfate de fer. Cette solution est stérilisée pendant une demi-heure à 105°. Après refroidissement, nous y ajoutons le succinate de sodium et le sulfate de fer ; le pH a été ramené à 7-7,4 par NaOH $\frac{n}{10}$.

Nous avons ensuite restérilisé la solution à 105° pendant une demi-heure ; après refroidissement elle est filtrée par un double filtre (deux papiers à filtrer). Nous préparons des tubes d'essai, contenant 5 cc. de notre milieu stérilisé à deux reprises, chaque fois pendant 30 minutes à 105°, à 24 heures d'intervalle.

3. Méthode

Nous avonsensemencé chacune des souches que nous avons à disposition, soit 10 *E. coli* différents (souches une à dix). La plus grande partie de ces bacilles ont été isolés dans notre laboratoire et quelques-uns d'entre eux nous ont été fournis par M. le professeur Hauduroy, directeur du Laboratoire bactériologique universitaire de Lausanne.

Les *Escherichia coli* :

- N° 1. Isolé de matières fécales d'un homme de 40 ans.
- N° 2. Isolé de matières fécales fraîches d'un enfant de 4 ans.
- N° 3. Isolé de matières fécales de 20 jours provenant d'une vache.
- N° 4. Isolé d'eau du Triftbach (au milieu du village de Zermatt, canton du Valais).
- N° 5. Isolé d'un étang à Crans/Sierre.
- N° 6. Provenant d'une citerne.
- N° 7. Provenant de la terre à l'Alpe de Thyon/Sion.
- N° 8. Provenant d'un chat (pleurésie).
- N° 9. Provenant d'une poule.
- N° 10. Provenant d'un puits.

Après l'isolement de ces *E. coli* nous avons contrôlé leurs caractères biologiques.

Pour le contrôle des caractères biologiques de l'*E. coli* nous avons employé les méthodes et les milieux suivants :

Bouillon phéniqué

Peptone Witte	15,00
Phosphate disodique (Sørensen)	3,50
NaCl	3,00
Lactose	7,50
Eau distillée	1000,00

10 cc. de ce milieu sont mis en éprouvettes et ensuite stérilisés. Après refroidissement, la quantité de phénol nécessaire pour donner une solution à 1⁰/₀₀ a été ajoutée.

Virage du rouge neutre

Eau	500,00
Extrait de viande Liebig	2,50
Peptone Witte	5,00
Glucose	1,50
NaCl	1,25
Solution de rouge neutre 2,5%	1,00
Agar-Agar	2,50

Nous avons rempli des éprouvettes avec 1 cc. de ce milieu etensemencé avec les *E. coli*.

Indol. — Le milieu a été préparé selon la formule de Neisser et Pringsheim ; il contient des extraits de viande et de la peptone. Ces deux produits subissent une digestion de

24 heures avec de la trypsine. Grâce à ce milieu, il est possible de faire la réaction de l'indol 24 heures après l'ensemencement. Comme réactif nous avons employé le para-diméthylaminobenzaldéhyde dissous dans l'alcool méthylique et l'acide chlorhydrique.

Fermentation des sucres. — Le contrôle de la fermentation des sucres est fait avec notre milieu synthétique.

A ce milieu nous ajoutons comme source de carbone un des produits suivants : lactose, glucose, lévulose, saccharose, maltose, mannite, glycérine et sorbite, de sorte que nous obtenons une solution de 2% dans les éprouvettes de 10 cc. Dans ces éprouvettes, nous plaçons des petits tubes d'un diamètre de 5 mm. et d'une longueur de 2,5 cm. Puis, les éprouvettes sont stérilisées et ensemencées. La formation du gaz dans le petit tube montre l'activité de l'*E. coli* vis-à-vis de chacun des produits sus-indiqués.

Les résultats de ces examens se trouvent résumés dans le tableau N° 1 ci-après.

Considérons tout d'abord les 16 caractères analysés.

Il sera pratique de les séparer en 3 groupes.

- 1) Forme, mobilité et Gram relèvent de la morphologie et de la cytologie.
- 2) Liquéfaction de la gélatine
Coagulation du lait
Croissance en milieu phénolé
Réduction du rouge neutre
Formation d'indol,

sont des caractères physiologiques qui dépendent chacun de la présence d'un ou de plusieurs enzymes.

- 3) Les fermentations du :
 - glucose
 - lévulose
 - saccharose
 - maltose
 - lactose
 - mannite
 - sorbite
 - glycérine

mettent en œuvre une série de ferments solubles bien définis.

L'expression heureuse de symbole glycolytique a été utilisée pour désigner l'ensemble des sucres que peut fermenter un seul et même microbe. Le symbole est une précieuse caractéristique raciale dont la fixité a fait l'objet de divers travaux parmi lesquels il faut citer en premier lieu ceux de C. GORINI (54). Nous développerons plus loin cette notion en la plaçant sur un plan quantitatif.

Examinons encore par quoi les 10 souches se ressemblent et par quoi elles diffèrent.

Cinq d'entr'elles, les N^{os} 1, 2, 5, 9 et 10 sont rigoureusement identiques et possèdent tous les 16 caractères normaux de la description type.

Dix caractères sont communs à toutes les 10 souches :

forme
 gram négatif
 coagulation du lait
 réduction du rouge neutre
 croissance dans le milieu phénolé
 formation d'indol
 fermentation du glucose
 id. lévulose
 id. lactose
 id. maltose.

Les caractères qui varient d'une race à l'autre sont :

mobilité (3 et 4 immobiles)
 fermentation du saccharose. (négative pr. 3, 4, 6, 7)
 fermentation de la mannite (négative pr. 3, 4, 6)
 fermentation de la glycérine (négative pr. 6, 8)
 fermentation de la sorbite . (négative pr. 3, 6)

soit un caractère biologique et 5 propriétés enzymatiques dont 4 appartiennent au symbole glycolytique.

Ces 10 souches de *E. coli* ont été répiquées dans notre milieu étalon tous les 15 jours durant 6 mois. Après cette période, nous avons contrôlé une nouvelle fois les propriétés de chaque race de la collection.

4. Résultats

Les résultats de cet examen après le training sont collationnés dans le tableau suivant (N^o 2).

TABLEAU N° 2

*Caractères biologiques des E. coli après repiquages
en milieu standard*

Caractères :	Bacilles N°									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Forme	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
Mobilité	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Liquéfaction de la gélatine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coagulation du lait	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance en bouillon phéniqué à 1 ⁰ / ₀₀	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—
Virage du rouge neutre	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lévuiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	—	+	+	—	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannite 45°	+	+	—	+	+	—	+	+	+	+
Glycérine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbite	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+

L'examen comparatif des tableaux N^{os} 1 et 2 révèle que les *E. coli* N^{os} 1, 2, 3, 5 et 9 présentent les mêmes caractères biologiques avant et après les repiquages successifs dans le milieu étalon. Les autres souches étudiées montrent une variabilité nette de certains de leurs caractères cultureux ou fermentaires. Le tableau N^o 3 met en évidence les différences constatées :

TABLEAU N^o 3

*Modifications des caractères biologiques
observées à la fin de nos expériences*

Caractères	Bacilles N ^o				
	4	6	7	8	10
	D.F.	D.F.	D.F.	D.F.	D.F.
Croissance en bouillon phéniqué à 1 ^o / ₀₀		+—			+—
Saccharose	—+		—+		
Mannite 45 ^o	—+				
Glycérine		—+		—+	
Sorbite		—+			
Indol		+—			

D = début

F = fin

L'examen du tableau 3 montre que sur 9 modifications qui se sont produites dans nos essais, 6 étaient des acquisitions de nouvelles propriétés, tandis que le nombre des pertes n'était que de trois. Pour exploiter d'une manière fructueuse ces résultats il faut les grouper suivant leur espèce.

Commençons par le symbole glycolytique, c'est-à-dire l'ensemble des sucres fermentés par une espèce définie. Nos expériences concernent 8 sucres ou alcools. Si l'une des races fermente les 8 sucres on dira que son symbole glycolytique a la valeur 1,00 ; si la souche n'attaque que 4 des 8 substances offertes, on estimera à 0,50 son symbole glycolytique.

Nous avons calculé la valeur du symbole pour chaque race avant et après le « training ». La tablelle suivante fournit ces valeurs :

Symbole glycolytique des 10 souches :

N° de bacille	avant le training	après le training	gain
1	1.00	1.00	nul
2	1.00	1.00	nul
3	0.625	0.625	nul
4	0.750	1.00	25 %
5	1.00	1.00	nul
6	0.50	0.75	25 %
7	0.875	1.00	12.5 %
8	0.875	1.00	12.5 %
9	1.00	1.00	nul
10	1.00	1.00	nul

Résumé : 5 races sur 10 (1, 2, 5, 9, 10) présentaient avant le training un symbole glycolytique complet et le gardent à la suite du training.

1 race, le N° 3, présentait avant le training un symbole glycolytique incomplet (0,625) et ne l'a pas amélioré par le training.

4 races (4, 6, 8, 7) présentaient avant le training un symbole glycolytique incomplet et l'ont toutes plus ou moins complété par le training.

La race N° 6, qui présentait le symbole glycolytique le moins complet : 0,5, a perdu au cours du training sa résistance au phénol et sa faculté de produire de l'indol. Elle manifeste par là une grande labilité susceptible de soustraire le germe à la définition de l'espèce collective.

Notre expérience a donc pour effet de ramener le symbole glycolytique vers son maximum, donc de rééquiper l'arsenal enzymatique de ces diverses souches. Le succès n'est certes pas égal chez toutes ; chez aucune cependant nous n'enregistrons de perte. En bref, à défaut d'une uniformisation complète des caractères fermentaires, nous avons obtenu par le traitement homogène une uniformisation partielle.

Le mécanisme de cette récupération est encore très obscur. Un fait doit être signalé : le milieu relativement pauvre sur lequel nous avons cultivé les *E. coli* (milieu synthétique) semble propice pour permettre aux bactéries de retrouver les propriétés qu'elles avaient perdues. Ces réveils du pouvoir de synthèse d'un enzyme se sont opérés sans que le substrat spécifique de l'enzyme ait été utilisé comme excitateur.

Remarquons encore que sur les 9 modifications il y a 6 acquisitions en rapport avec le symbole glycolytique ; les 3 pertes concernent la résistance au phénol (2 cas) et la formation de l'indol (1 cas).

Il est donc clair qu'il y a, chez les bacilles examinés, deux sortes de ferments : ceux qui sont en permanence et ne peuvent être perdus (la grande constance de certains caractères nous en fournit la preuve) et d'autres ferments dits adaptatifs pouvant apparaître dans une expérience d'uniformisation comme ils ont pu disparaître dans les aventures

de la différenciation raciale. Parmi ces ferments, il faut compter au premier rang les enzymes des hydrates de carbone.

La conclusion pratique de ces expériences est la suivante : il est indispensable, si l'on veut faire des études comparées de l'*Escherichia coli*, de typiser avec finesse les souches et de les multiplier sur un milieu de composition rigoureusement définie.

C. LES RELATIONS DE L'*E. COLI* AVEC L'ACIDE PHENIQUE

I. PARTIE GENERALE

L'emploi de l'acide phénique pour la recherche de l'*E. coli* dans les analyses d'eau potable n'est pas récent. Déjà bien avant Vincent plusieurs auteurs, dont Chantemesse, Vidal, Miquel, Dienert et Guillerd, ainsi que Peré avaient travaillé avec des milieux phénolés ; c'était la période empirique de l'analyse de l'eau avec l'acide phénique (55). Chick (56) a utilisé un milieu de culture contenant 100 gr. de dextrose, 50 gr. de peptone, 1 gr. de phénol et 1 litre d'eau. Mais c'est Vincent (57) qui, par ses travaux scientifiques sur les milieux phénolés, les a introduits dans l'usage courant des laboratoires bactériologiques. Depuis ce jour, la méthode avec l'acide phénique porte le nom de méthode Vincent.

Les recherches ont cependant vite démontré que bien d'autres bacilles que l'*E. coli* peuvent se développer dans les milieux phénolés et que ces derniers n'étaient pas électifs pour l'*E. coli*. Le milieu phénolé a donc une spécificité insuffisante pour la recherche du *B. coli* (58).

Gray et Thornton (59) ont trouvé toute une série de bactéries du sol qui peuvent décomposer le phénol et le méta-crésol. Ces bactéries du sol n'étaient pas seulement phénico-résistantes comme les autres bactéries que nous allons voir, mais même phénicotrophes, terme introduit par P. Vigier. P. Vigier (60), dans une étude faite à Genève, a fait remarquer que les conclusions de Gray et Thornton (59) ne peuvent être admises intégralement en raison de la technique insuffisante que ces auteurs ont employée. Vigier a montré qu'il y a dans le sol des organismes fungiques qui sont, en culture pure, effectivement phénicotrophes. Les microbes

qui accompagnent ces champignons dans le sol ne le sont pas, dans les expériences de Vigier tout au moins. Il faut donc considérer avec réserve des conclusions établies sur des expériences faites avec un inoculum de terre, source de germes nombreux et différents. On attribue alors aux microbes ce qui a été fait pour le ou les champignons.

Quelques bactéries se développent dans un milieu phénolé (phénico-résistance). Wittling (61) a eu l'idée d'augmenter le pouvoir sélectif du milieu phénolé par l'intervention de la chaleur.

Si Bartels, (62) Gray et Thornton ont prouvé la phénico-trophie de certaines bactéries, Oeser (63) va encore plus loin et constate que l'*E. coli* peut synthétiser le phénol dans des milieux ne contenant pas de sucres.

Sicke (64) a étudié à fond la formation du phénol par les bactéries et il a constaté que c'est principalement l'*E. coli* qui synthétise le phénol. Il a distingué des races spéciales qu'il appelait les *E. coli* phénologènes et il a également constaté que le para-Coli pouvait synthétiser le phénol. Comme milieu pour la formation du phénol en ce qui concerne l'*E. coli* il donne la formule suivante (64) :

Tyrosine	0,3
Asparagine	0,5
Lactate d'ammonium	5,0
MgSO ₄	0,2
K ₂ HPO ₄	2,0
Eau	1000,0

II. PARTIE EXPERIMENTALE

1. Méthode

Nous constatons, après avoir étudié la littérature, que les relations qui existent entre l'acide phénique et l'*E. coli* ne sont pas encore élucidées d'une manière satisfaisante. Nous avons vu que Gray et Thornton citent un *E. coli* qui était

phénicotrophe ; l'usage journalier du phénol dans les analyses de l'eau nous montre qu'en tous cas il est phénicorésistant. D'autres auteurs — nous l'avons vu — nous disent que l'*E. coli* synthétise du phénol. Nous nous sommes donc posé la question : l'*E. coli* est-il phénicotrophe ou phénicorésistant ? Autrement dit, est-ce que l'*E. coli* peut décomposer le phénol ou ne peut-il que résister à l'action bactéricide du phénol ?

Pour résoudre ce problème nous avons employé trois milieux de culture, à savoir :

Milieu N° 1 : Semblable à celui de Gray et Thornton, mais sans succinate. Comme seule source de carbone nous avons ajouté du phénol :

K_2HPO_4	1,0
$MgSO_4$	0,2
NaCl	0,1
$(NH_4)_2SO_4$	1,0
$CaCl_2$	0,1
$FeSO_4$	0,01
H_2O	1000,00

Milieu N° 2 : Milieu analogue au premier, mais complété par une source d'azote organique, l'asparagine et par du succinate :

Succinate de sodium	1,0
Asparagine	1,0

Milieu N° 3 : Un milieu de bouillon phéniqué :

Peptone Witte	15 gr.
Phosphate disodique (Sørensen)	3,5 gr.
NaCl	3,0 gr.
Lactose	7,5 gr.
H_2O distillée	1000 cc.

A ces trois milieux nous avons ajouté du phénol de façon à ce que la teneur en phénol soit de $\frac{1}{2}^0/_{00}$ et de $1^0/_{00}$ pour chaque milieu. Nous nous sommes basés, en ce qui concerne la proportion phénolique, sur les données de Calmette (65) et de Gray et Thornton (66).

En utilisant le milieu N° 1 nous verrons si l'*E. coli* peut employer comme seule source de carbone l'acide phénique. Etant donné que l'azote inorganique présent est capable d'influencer la phénicotrophie ou la phénicorésistance de l'*E. coli*, nous avons aussi employé le second milieu, comportant une source d'azote organique (Emmerling). Le troisième milieu est celui qui est employé dans la plupart des laboratoires comme milieu phéniqué. Le milieu N° 1 et le milieu N° 3 ont été stérilisés à deux reprises, à 24 heures d'intervalle, pendant trente minutes à 105° . Le milieu N° 2 a été tyndallisé 3 jours consécutivement durant une heure à 60° . Chacun des trois milieux était réparti dans des Erlenmeyer de 100 cc. de contenance, à raison de 50 cc. par Erlenmeyer. Après refroidissement la quantité de phénol nécessaire pour obtenir un taux de $1^0/_{00}$ ou de $0,5^0/_{00}$ était introduite stérilement dans chaque ballon. C'est dans ces milieux nutritifs que nous avons ensuiteensemencé des souches d'*E. coli* fraîches (cultures de 24 heures); ces cultures ont été portées à l'étuve à 37° pendant 10, 20 et 40 jours.

Lors de chaque essai deux milieux témoins (non inoculés) ont été placés à l'étuve en même temps que les milieuxensemencés. Pour obtenir des émulsions de départ, dont la teneur en *E. coli* soit aussi égale que possible, la surface de chaque souche a été râclée et diluée dans 30 cc. d'eau distillée. Après avoir homogénéisé par brassage cette suspension microbienne, nous en avons porté 1 cc. dans chaque milieu de culture.

Après les 10, 20 ou 40 jours de séjour à l'étuve, nous avons transvasé, en rinçant soigneusement l'Erlenmeyer avec 50 cc. d'eau distillée, chaque culture et chaque témoin dans des

ballons à distiller, contenant 5 cc. d'acide sulfurique dilué (1 : 1, soit 50%).

Au point de vue technique, nous avons pu nous rendre compte par des essais à blanc, que pour recueillir les dernières traces de phénol, il était nécessaire de distiller environ 250 cc. d'eau, soit 2½ fois la quantité de la solution initiale.

Voulant contrôler dans nos essais à blanc si tout le phénol avait été entraîné par les vapeurs d'eau, nous en avons fait la recherche qualitative en utilisant la réaction classique à l'eau de Brome, dont la sensibilité est de 1 : 44'000⁶⁷) et la réaction de Millon, dont la sensibilité est de 1 : 200'000⁶⁸).

Nous avons été obligé de prendre ces précautions à la suite d'une série d'échecs. Au commencement des expériences nous avons voulu titrer le phénol directement dans le milieu. La peptone, comme l'asparagine et le succinate, qui réagissent chimiquement avec le brome, ont faussé notre dosage et nous avons dû abandonner cette méthode. Nous avons ensuite recouru à la distillation à la vapeur d'eau. Au début nous avons cru que si la quantité initiale du liquide (donc 50 cc.) était distillée, tout le phénol serait entraîné. Les réactions chimiques nous ont montré qu'il y avait encore du phénol et que la vapeur d'eau de 50 cc. était insuffisante pour entraîner toute la quantité de phénol. Nous avons distillé ensuite 100, 150 et 200 cc. ; c'est seulement la quantité de 250 cc. qui nous a donné un résultat constant ; avec le réactif de Millon nous n'avons plus trouvé de trace de phénol dans les ballons à distiller.

Après la distillation (milieux de culture et témoins) nous avons effectué le dosage du phénol selon la méthode de Koppeschaar (69). Les résultats obtenus pour les diverses souches d'*E. coli* et pour chaque milieu, sont indiqués dans les tableaux 4-6 ci-après.

2. Résultats

TABLEAU N° 4
Milieu de culture N° 1

E. coli N°	Teneur en phénol : $\frac{1}{2}$ ‰			Teneur en phénol : 1‰		
	Etuve : (jours)			Etuve : (jours)		
	10	20	40	10	20	40
1	0,0247	0,0247	0,0241	0,0481	0,0481	0,0479
4	0,02475	0,02463	0,0247	0,0490	0,0483	0,0480
8	0,0247	0,02465	0,0246	0,0492	0,0478	0,0480
Témoins T ₁	0,0247	0,02462	0,0246	0,0485	0,0486	0,0482
T ₂	0,02471	0,02476	0,0239	0,0487	0,0479	0,0486
Moyenne des E. coli:	0,02471	0,02466	0,02446	0,0487	0,04806	0,04793
Moyenne des témoins :	0,024705	0,02469	0,02435	0,0486	0,04835	0,0484

Observations :

- 1) Aucun développement n'a été constaté.
- 2) Les E. coli n'ont pas pu employer le phénol comme seule source de carbone dans le milieu que nous leur avons donné.
- 3) Tous les milieux sont restés clairs et limpides ; aucun développement bactérien n'a pu être constaté et une différence entre les témoins et les milieux ensemencés ne s'est pas présentée.

Conclusion: Pas de phénicotrophie sans autre source de carbone.

TABLEAU N° 5
Milieu de culture N° 2

E. coli N°	Teneur en phénol : $\frac{1}{2}$ ‰			Teneur en phénol : 1‰		
	Etuve (jours) :			Etuve (jours) :		
	10	20	40	10	20	40
1	0,0248	0,0248	0,0246	0,050	0,049	0,0485
4	0,0247	0,02485	0,0248	0,0495	0,0492	0,0490
8	0,0248	0,02476	0,0248	0,0490	0,0490	0,0480
Témoins T ₁	0,0247	0,0248	0,0244	0,0490	0,0494	0,0490
T ₂	0,02475	0,0247	0,0246	0,048	0,0492	0,0483
Moyenne des E. coli:	0,02476	0,0248	0,0247	0,0495	0,04907	0,0485
Moyenne des témoins :	0,024725	0,02475	0,0245	0,0485	0,0493	0,04865

Observations :

- 1) Développement abondant.
- 2) Des troubles se sont présentés dans les cultures, sauf dans les témoins, qui restèrent clairs et limpides.
- 3) La quantité de phénol dans toutes les cultures reste la même.

Conclusion : Phénicorésistance, mais non phénicotrophie.

TABLEAU N° 6
Milieu de culture N° 3

E. coli N°	Teneur en phénol : $\frac{1}{2}^0/_{00}$			Teneur en phénol : $1^0/_{00}$		
	Etuve (jours) :			Etuve (jours) :		
	10	20	40	10	20	40
1	0,0251	0,0248	0,0248	0,0480	0,0490	0,0470
4	0,0242	0,0249	0,02475	0,0485	0,0480	0,0480
8	0,0249	0,0248	0,0249	0,0480	0,0485	0,0480
Témoins T ₁	0,0249	0,02485	0,02485	0,0460	0,0480	0,0480
T ₂	0,02485	0,0249	0,02480	0,0480	0,0495	0,0460
Moyenne des E. coli:	0,024733	0,02483	0,02481	0,04816	0,0485	0,04766
Moyenne des témoins :	0,024875	0,02487	0,024825	0,0470	0,04875	0,0470

Observations : Développement fort. La quantité de phénol pour toutes les cultures reste la même.

Phénicorésistance et non phénicotrophie.

D. CONCLUSIONS

L'*Escherichia coli*, le germe le plus important dont l'hygiéniste ait à s'occuper et celui à propos duquel il faudrait fournir le maximum de précisions, reste en définitive une entité systématique difficile à définir. Cette difficulté est la cause des divergences nombreuses constatées dans les résultats des auteurs qui ont expérimenté avec ce microbe.

Pour servir de base à nos propres recherches, nous avons fait la revue des études sur la composition de l'*E. coli* et de ses besoins alimentaires. A cet examen préliminaire, nous avons ajouté celui plus important, des modifications enregistrées chez *E. coli*, à la suite et comme conséquence de traitements divers : culture prolongée, changement d'aliment azoté ou sucré, irritation par un toxique léger, etc. Ces modifications multiples, dont les mieux étudiées sont connues sous le nom d'adaptation enzymatique, et dont la réalité ne saurait être mise en doute, nous ont permis de formuler la question suivante : la multiplicité des petites espèces de *E. coli* étant un état secondaire, produit par de la dégradation irrégulière (appauvrissements multiples) d'une souche initiale complète, ne serait-il pas possible dans une certaine mesure tout au moins, d'obliger ce microbe à remonter le cours de son histoire, en bref de le ramener à son état primitif moins polymorphe ? Cette prétention dépasse, on le voit immédiatement, le cadre de la physiologie ! Elle implique l'idée qu'une expérience fasse faire à l'organisme le chemin inverse que l'évolution lui a fait subir. Considéré sous cet angle, le problème a des exigences particulières. La première est nécessairement de partir d'une collection hétérogène de petites espèces d'*E. coli*, puisque le fruit véritable de l'évolution est l'espèce collective. L'autre

obligation concerne le traitement à imposer à cette constellation de petites espèces. Son choix se fonde sur le raisonnement suivant : la pluralité des conditions de vie (nous n'avons retenu que les facteurs alimentaires) fut un facteur important du morcellement de la souche initiale en unités physiologiquement distinctes. L'uniformité des conditions de vie agit peut-être en sens inverse. Aussi avons-nous traité parallèlement et également toute notre collection d'*Escherichia coli*, en la cultivant sur un milieu synthétique pauvre.

Toute enquête exige un instrument pour opérer les mesures. A cet effet, nous avons adopté et développé la notion de symbole glycolytique, caractéristique précieuse d'une race microbienne puisqu'elle intègre diverses propriétés d'un même germe.

Les résultats de notre recherche sont encourageants parce qu'ils apportent une contribution positive à une question de vaste envergure. Nous avons en effet pu montrer une uniformisation partielle, sinon complète, de notre collection de petites espèces à la suite du traitement imposé. Nous avons en plus, émis la supposition, que la pauvreté du milieu synthétique utilisé, est un facteur important du réveil des propriétés enzymatiques latentes, mais non disparues.

La seconde partie de notre mémoire est consacrée à l'analyse d'une propriété bien connue de l'*E. coli*, sa tolérance à l'égard du phénol. Profitant des conditions précises de culture que nous avons établies, nous avons montré que le milieu synthétique se prête parfaitement à l'étude de la phénico-résistance de l'*E. coli*.

Les essais tentés pour prouver l'utilisation de l'acide phénique, comme unique source de carbone du milieu de culture, par *E. coli*, ont fourni un résultat négatif : aucune de nos souches ne s'est développée dans ces conditions. Elles ne sont donc pas phénicotrophes. Dès que le milieu de culture est complété par une source normale de carbone, les souches se développent vigoureusement en présence de phénol. Elles expriment dans ce milieu, comme dans celui de VINCENT,

leur phénico-résistance. Des analyses faites sur les milieux phénolés où les germes se sont développés, montrent que le titre initial en phénol n'est pas modifié par la culture. Il y a là une preuve supplémentaire que ces microbes ne sont pas phénicotrophes.

E. BIBLIOGRAPHIE

1. ESCHERICH, Th. — (1886) Die Darmbakterien des Säuglings, etc., Stuttgart.
2. JAFFÉ, R. — (1912) Variationen in der Typhus-Coligruppe. Arch. f. Hygiene p. 145.
3. HAUDUROY, P. — (1941) Technique de Bactériologie élémentaire. Roth, éditeur, Lausanne.
4. SÉVÉRAC, J. — (1937) Contribution à l'étude d'une méthode lactosée tournesolée pour la recherche du Colibacille dans l'eau. Thèse, Lyon.
5. CALMETTE, A. — (1933) Manuel technique de Microbiologie et Sérologie. Masson & Cie éditeurs, Paris.
6. STEPHENSON, Marjory. — (1939) Bacterial Metabolism, New Edition, Longmans, Green and Co. London.
7. BOEHNKE, K. — (1911) Archiv f. Hygiene p. 81.
8. ARKLIN, O. — (1929) Zum Nachweis des Bakterium Coli commune als Faekalindikator menschlicher Herkunft im Wasser. Zbl. f. Bakt. I. 114, p. 119.
9. NENCKI et SCHEFFER. — (1880) Ueber die chemische Zusammensetzung der Fäulnisbakterien (in Beiträgen zur Biologie der Spaltpilze) herausgegeben von Nencki, Leipzig; Separat-Abdruck aus J. f. prakt. Chemie neue Folge 19.20.
10. KAPPES. — (1889) Analyse der Massenkulturen einiger Spaltpilze der Soorhefe. Leipziger Dissertation.
11. RUPPEL. — (1898) Zur Chemie der Tuberkelbazillen. Z. Ch. 26.
12. FISCHER, A. — (1903) Vorlesungen über Bakterien. Verlag G. Fischer Jena.
13. GRAY P. H. H. and H. G. THORNTON. — (1928) Soil Bacteria that decompose certain aromatic Compounds. Zbl. f. Bakt. II. 73 p. 75.
14. COHN, F. — (1875) Untersuchungen über Bakterien. Beitrag zur Biologie der Pflanzen Bd. 1, Heft 2.
15. FRAENKEL. — (1894) Hygienische Rundschau p. 772.
16. BRAUN: H. and WORDEHOFF, P. — (1933) Zbl. F. Bakt. I. 128,50.
17. KUHN, R. — (1942) Vitamine und Arzneimittel. Zschrft: Die Chemie 55 Nr 1-2 p. 1-20.

18. GUILLEMAN M. and LARSON W.-P. — (1922) Fixed and free salts of bacteria. *J. inf. Dis.* 31.349.
19. FRIEDLEIN, F. — (1928) Der quantitative Verwendungsstoffwechsel des Paratyphus-B. *Bazillus des Bact. coli* etc. *Biochem. Zeitschrift* 194 p. 273.
20. THIELE und JANSEN. — (1941) Ein Beitrag zur Diagnose des *Bakt. coli* in Zusammenhang mit stoffwechselfysiologischen Fragen. *Arch. f. Hyg. und Bakt.* 126. p. 121.
21. BRAUN, H. — (1931) *Zbl. f. Bakt.* I. 122, p. 5.
22. POZERSKI, E. — (1925) *C. R. Soc. Biol. Paris*, 93 p. 1285.
23. KOSER, S.A. — (1923) *J. Bact.* 8.493.
24. QUASTEL J.-H. and WHETHAM M.-D. — (1924) The equilibria existing between succinic, fumaric, and malic acids in the presence of resting bacteria. (*Biochem. J.* 18 p. 519).

QUASTEL J.-H. and WOOLDRIDGE W.-R. — (1927) The effects of chemical and physical changes in environment on resting bacteria. (*Biochem. J.* 21 p. 148).
25. FOLPMERS, W. — 1939/40. New enrichment methods for the cultivation of *bact. coli* and faecal streptococci in water samples. *A. van Leuwenhœk J. of Microbiol. and Ser.* 6 p. 22 ss.
26. BRAUN H. and CAHN-BRONNER C.-E. (1922) Der Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien. *Biochem. Z.* 131 p. 226.
27. LEINBROCK, A. — (1941) Ueber den Kohlenhydratstoffwechsel der *Coli-Bakterien*, *Zbl. f. Bakt.*, I, 147, p. 44, p. 57, p. 137, p. 105.
28. LIEB, F. — (1941) Ueber die aminosäurespaltende Fermente des *Coli-B.* *Zbl. f. Bakt* I 147, p. 446.
29. MICKELSON M. and WERKMAN C.-H. (1938). — *J. of Bact.* 36, p. 67.
30. SMIT J. KROLAND and VAN WIJK. — (1939/40) The *B. Coli* Test in the Routine analysis of raw Milk. *A. van Leuwenhœk* 6. 1. *J. of Microbiol. and Ser.* 6. p. 22.
31. KOSER, S. A. — (1923) *opus. cit.* (N° 23) *loc. cit.*
32. FABRY, P. — (1922) A propos du *Bact. coli* modifié ne fabriquant plus l'indol. *C.-R. Soc. Biol.* 88 p. 113.
33. LOMMEL Jeanne. — (1926) L'influence du phénol et du formol et de certaines associations microbiennes sur les propriétés biochimiques du *Coli-bacille*. *C.-R. de la Soc. biol.* 94, p. 711. Modification des propriétés biochimiques du *Colibacille* sous l'influence de milieux additionnés de matières colorantes. *C.-R. Soc. biol.* 94 p. 714.

34. JAFFÉ, R. — (1912) Variationen in der Typhus Coli Gruppe. Archiv f. Hygiene p. 145 ss.
35. BARTELS, R. — (1940) Phenolzersetzende Bodenbakterien, Zbl. f. Bakt. II 103, p. 1-36.
36. EMMERLING. — (1902) Die Zersetzung stickstoffreier org. Substanzen durch Bakterien, p. 42. Verlag von F. Vieweg, Braunschweig.
37. HAUSAM, Willi. — (1930) Untersuchungen über Bakt. Coli. Zbl. f. Bakt. II, 82 p. 103.
38. REVIS, C. — (1916) Variation in Bact. coli. Proceed. Royal Soc. London 86. 373.
39. SCALES F.-M. — (1921) Induced morphologic variation in B. coli. J. Infect. Dis. 29, p. 591.
40. SHERMAN, J.-M. and WING H.-U. — (1937) Attempts to reveal sex in bacteria with some light on fermentative variability in the Coli-Aerogenes Group. J. Bact. 33.
41. SILBERSTEIN, F. RAPPAPORT, F. et KOLMER, E. — (1932) Versuche einer Differenzierung innerhalb der Coligruppe. Zbl. f. Bakt. 1, 124, p. 32.
42. FLEURY, G. — (1935) Contribution à la biologie du B. coli. Bordeaux, Imprimerie Delmas.
43. LEINBROCK, A. — (1941) opus cit. (N° 27) loc. cit.
44. MARCHAL, J.-G. (1932). Variation et Mutation en bactériologie. Librairie le François Bd. St-Germain. Paris.
45. MARCHAL, J.-G. — (1932) opus cit. (N° 44) loc. cit.
46. KARSTROM, H. — (1930). Ueber die Enzyymbildung in Bakterien Thesis Helsingfors.
47. YUDKIN, John — (1938) Enzyme variation in micro-organisms Biol. Reviews of the Cambridge Philosophical Society 13, p. 93.
48. STEPHENSON M. and STICKLAND. L.-H. (1932). Hydrogenlyases. Bacterial enzymes liberating molecular hydrogen. Biochem. J. 26. p. 712.
STEPHENSON M. and STICKLAND L.-H. — (1933) Hydrogenlyases III. Further experiments on the formation of formic hydrogenlyse by Bact. coli. Biochem. J. 27, 1528.
STEPHENSON M. and STICKLAND, L.-H. — (1933) Hydrogenase III. The bacterial formation of methane by the reduction of some carbone compounds by molecular hydrogen. Biochem J. 27, 1517.
49. YUDKIN, J. — (1933) The dehydrogenases of Bact. coli. Biochem. J. 27, 1849.

- YUDKIN, J. — (1934) The dehydrogenases of *Bact. coli*. *Biochem J.* 28, 1463.
50. GRAY and THORNTON. — opus cit. (N° 13) loc. cit.
51. KOSER. — (1923) opus cit. (N° 23) loc. cit.
52. QUASTEL, J.-H. — (1924) opus cit. (N° 24) loc. cit.
53. BRAUN. — (1933) opus cit. (N° 16) loc. cit.
54. FRIEDLEIN. — (1928) *Biochem. Ztschft.* 194, 273.
55. VIDAL, MIQUEL et CHANTEMESSE. — cités par SEVERAC 1937, thèse Lyon p. 22 ss.
DIENERT F. et GUILLERD, A. — (1935) Procédés d'analyses et de contrôle des eaux d'alimentation et des eaux usées. Paris, Deyrolles édit. 2 p. 6.
PÉRÉ — (1891) Contribution à l'étude des eaux d'Alger. *Ann. Inst. Past.* p. 79.
56. CHICK. — (1902) The distribution of *Bact. coli* commune. The Thompson-Yates Laboratories, Report 3. *Referat hyg. Rundschau* 12 p. 647.
57. VINCENT, H. — (1909) Sur le dosage du *B. coli* dans l'eau de boisson. *Hygiène générale et appliquée* p. 74.
VINCENT, H. — (1905) Sur la signification du *B. coli* dans les eaux potables. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 19 p. 233.
58. WITTLING. — Des bactéries susceptibles de se développer lorsqu'on emploie la méthode de Panetie pour l'analyse bactériologique de l'eau. *Ann. de Microbiologie* 8, p. 89.
59. GRAY and THORNTON. — op. cit. (N° 13) loc. cit.
60. VIGIER, Ph. — (1941) Phénicorésistance et phénicotrophie des microorganismes du sol. *C.R. Séances de la Soc. Phys. et Hist. nat. Genève* vol. 58.
61. WITTLING. — op. cit. (N° 58) loc. cit.
62. BARTELS, R. — op. cit. (N° 35) loc. cit.
63. OESER, H. — *Bakterium Coli in der Milch*. *Zbl. f. Bakt.* II, 96 p. 287.
64. SICKE, F. — (1921) *Zeitschrift f. Hygiene* 94, p. 214.
65. CALMETTE. — op. cit. (N° 5) loc. cit.
66. GRAY and THORNTON. — op. cit. (N° 13) loc. cit.
67. CLOETTA et SCHAER. — (1881) *A. Ph.* 218, p. 241.
68. ULLMANN. — (1921) *Enzyklopädie der techn. Chemie*, p. 37.
69. KOPPESCHAAR. — (1876) *Z. annal. Ch.* 15, p. 233.

TABLE DES MATIERES

Introduction	1
<i>A. partie générale</i>	
I. Composition et besoins alimentaires de l'E. coli	3
1. Insuffisance des milieux de composition indéfinie	3
2. Composition minérale des bactéries	4
3. Solutions minérales nécessaires à la croissance des bactéries	5
4. Sources de carbone et d'azote nécessaires aux bactéries	6
5. Composition minérale de l'Escherichia coli	7
6. Solution minérale nécessaire à la culture de l'Escherichia coli	8
7. Sources de carbone et d'azote nécessaires à la croissance de l'Escherichia coli	8
II. Milieu de culture et adaptation enzymatique de l'E. coli	9
<i>B. Partie expérimentale</i>	
Essai d'uniformisation des caractères fermentaires d'une collection hétérogène d'Escherichia coli par culture prolongée sur un milieu unique	15
1. Problème	15
2. Milieu choisi	15
3. Méthode	17
4. Résultats	22
<i>C. Les relations de l'Escherichia coli avec l'acide phénique</i>	
1. Partie générale	28
2. Partie expérimentale	29
1. Méthode	29
2. Résultats	33
<i>D. Conclusions</i>	36
<i>E. Bibliographie</i>	39
<i>F. Table des matières</i>	43

