

LES COLIBACILLES ET LES COLIPHAGES CHEZ LES NOURRISSONS

par

IRÈNE LIPSKA

Ecole d'Hygiène à Varsovie. Laboratoire de Biochimie.

Dans mes études ultérieures [12-14] je me suis occupée des colibacilles et des bactériophages du lait, actifs pour les bacilles du groupe *coli-paratyphique*. En 1933 et 1934 j'ai eu l'occasion d'examiner quarante-deux nourrissons de l'Etablissement municipal à Varsovie, ce qui m'a permis d'étudier le même sujet chez eux pour constater quelles différences on y trouve sous l'influence des sucs digestifs et de la température plus élevée. L'analyse des déjections fut faite en trois reprises pour voir l'influence des saisons : au mois de mai 1933 S1-S8 et M1-M6, au mois d'octobre S9-S18 et M7-M14, et au mois de janvier 1934 S19-21 et M15-M21 ; en tout j'ai examiné vingt et un nourrissons bien portants (S) et vingt et un sujets atteints de dyspepsie (M).

La technique d'isolement et de l'identification des colibacilles fut la même que celle donnée en détails dans mon mémoire traitant ces bacilles du lait [13]. Pour l'étude des filtrats des déjections, j'ai suivi de près la méthode classique de D'HÉRELLE [11], en me servant à côté du bouillon de la culture sur la gélose inclinée, ce qui permet de décélérer des bactériophages même peu actifs et de conserver leurs colonies, c'est-à-dire les plages, un temps plus long.

Le tableau I donne un aperçu sur les propriétés biochimiques des colibacilles isolés de déjections des nourrissons sains ; il faut souligner que je n'ai isolé de la gélose d'Endo que les colonies présentant les caractères typiques de *Bact. coli*. Suivant leur pouvoir de fermentation des substances hydrocarbonées, dix souches peuvent être réparties en cinq espèces essentielles : *Bact. neapolitanum* souche S12, *Bact. lactis aerogenes* S6, 20, 21, *Bact. coli communior* S7, *Bact. coli commune* S3, 5, 16 et *Bact. acidi lactici* S11 et S14. Les cinq souches S8, 9, 15, 17, 19 réunissent les caractères fermentatifs de *Bact. coli commune* et *communior* : ils n'attaquent pas le saccharose, le raffinose ni la salicine ; ils produisent de l'indol et présentent la réaction négative de Voges-Proskauer. Les deux souches S2, 18 additionnent les pouvoirs fermentatifs de *Bact. lactis aerogenes* et de *Bact. coli commune* en n'attaquant ni la dulcité, ni le saccharose, ni le raffinose. Les quatre dernières souches S1, 4, 10 et 13 sont irrégulières dans leurs fermentations et, par suite, ne peuvent pas être classées ; la souche S4 est comme un *Bact. coli commune* affaibli et n'attaquant presque pas le lactose (paracoli) ; les souches S1 et S10 sont caractérisées par leur non-fermentation

TABLEAU I.

Numéros d'ordre	Nom d'espèce	Nombre de souches	Glycérine	Sorbite	Dulcité	Saccharose	Raffinose	Salicine	Fluorescence du rouge neutre	Lait coagulé	H ² S	Indol	Voges-Proskauer	Citrate de sodium	Propionate de sodium
1	<i>Bact. neapolitanum</i>	S 12	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+	—
2	<i>Bact. lactis aerogenes</i>	3	+	+	—	+	+	+	+	1	1	2	1	3	—
3	<i>Bact. coli communior</i>	S 7	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+	—	—	+
4	<i>B. coli commune</i> ..	3	+	+	+	—	—	+	+	2	2	1	—	3	2
5	<i>B. acidi lactici</i>	2	+	+	—	—	—	—	+	—	1	1	—	2	—
6		5	+	+	+	—	—	—	+	3	1	5	—	4	1
7		2	+	+	—	—	—	+	+	1	1	2	—	1	1
8		S 4	+	+	+	—	—	+	+	—	+	+	—	—	+
9		S 1	+	—	—	+	+	—	—	+	+	+	—	+	+
10		S 10	+	—	—	+	+	—	—	+	—	+	—	+	—
11		S 13	+	+	+	—	+	—	+	—	—	+	—	+	—
		21	21	19	12	7	8	11	19	9	9	17	1	17	7

de la sorbite, d'habitude facilement attaquée par les colibacilles ; la souche S13 a perdu sa faculté de fermenter le saccharose en attaquant le raffinose. Les résultats obtenus avec tous ces colibacilles sur les milieux synthétiques liquidés au citrate et au propionate de sodium présentent une discordance plus ou moins grande avec leur faculté de production d'indol et avec la réaction de Voges-Proskauer. A côté des souches parfaitement typiques pour leur espèce, comme S6, S7 et S12, on en voit d'autres qui ont perdu quelques caractères spécifiques pour leur espèce en en acquérant en même temps d'autres, par exemple S20 et S21, deux souches de *Bact. lactis aerogenes*, fortes productrices d'indol avec réaction négative de Voges-Proskauer. La fluorescence du rouge neutre fut observée les dix-neuf fois où la sorbite fut attaquée, à l'exception des souches S1 et S10 qui, par leur non-fermentation de la dulcité, semblent s'approcher de *Bact. lactis aerogenes*. Quant au comportement vis-à-vis du lait tournesolé, neuf souches seulement le font cailler, tandis que onze ne le font qu'aciduler ; parmi ces dernières on trouve les deux souches de *Bact. acidi lactici*, espèce considérée comme spécifique du lait, ce qui confirme la grande influence des conditions de vie sur les caractères biochimiques des *colibacilles*. La grande rareté de la réaction positive de Voges-Proskauer — un seul cas S6 —

démontre aussi la valeur modifiante énorme du milieu et la grande plasticité des *colibacilles*.

Passons maintenant à la discussion du tableau II où sont présentés les caractères biochimiques des colibacilles isolés des déjections des nourrissons dyspeptiques. Suivant leur pouvoir de fermentation

TABLEAU II.

Numéros d'ordre	Nom d'espèce	Nombre de souches	Glycérine	Sorbitol	Dulcitol	Saccharose	Raffinose	Salicine	Fluorescence du rouge neutre	Lait coagulé	H ₂ S	Indol	Voges-Proskauer	Citrate de sodium	Propionate de
1	<i>B. neapolitanum</i> ..	3	+	+	+	+	+	+	+	1	1	3	—	2	—
2	<i>B. lactis aerogenes</i> .	4	+	+	—	+	+	+	+	—	—	3	—	4	—
3	<i>B. coli communior</i>	M 17	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	+	—
4	<i>B. coli commune</i> ..	2	+	+	+	—	—	+	+	1	—	2	—	2	—
5	<i>B. acidi lactici</i>	M 8	+	+	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—
6		M 3	+	+	—	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—
7		4	+	+	—	—	—	+	+	1	1	4	—	4	—
8		2	+	+	+	—	—	—	+	1	1	2	—	2	—
9		M 6	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	—	+	—
10		M 9	+	+	+	—	+	—	+	—	—	+	—	+	—
11		M 4	+	—	—	+	—	—	+	—	+	—	—	—	—
		21	21	19	9	11	11	13	21	6	6	18	—	17	—

des substances hydrocarbonées, spécialement de six employées par moi dans mes études depuis 1930 car elles différencient le mieux les colibacilles, onze souches peuvent être réparties en cinq espèces essentielles: trois souches (M2, 18, 20) appartiennent à l'espèce *Bact. neapolitanum*; quatre (M12, 13, 14, 16), à l'espèce *Bact. lactis aerogenes*; une (M17), à l'espèce *Bact. coli communior*; deux (M7, 11), à l'espèce *Bact. coli commune*, et une (M8), à l'espèce *Bact. acidi lactici*. La souche M3 unit les propriétés fermentatives de *Bact. lactis aerogenes* et de *Bact. coli communior*; les quatre (M5, 15, 19, 21) présentent les caractères transitoires entre les espèces *Bact. lactis aerogenes* et *Bact. coli commune*; les souches M1 et 10 réunissent les propriétés fermentatives de *Bact. coli commune* et *communior*; des trois dernières souches (M4, 6, 9), M6 montre l'identité presque absolue avec la souche S1 et M9 avec S13; M4 n'attaque que la glycérine et le saccharose. Deux souches seulement de ce groupe (M2, 3) sont typiques et donnent la réaction d'indol et le développement sur le milieu au propionate de sodium positifs, tandis que la

réaction de Voges-Proskauer et le développement sur le citrate de sodium sont négatifs. Il faut souligner le fait que, dans les deux groupes de *colibacilles* : ceux-là des nourrissons sains et ceux-ci des malades, sur les quarante-deux souches, il n'y a qu'une seule S6 avec la réaction positive de Voges-Proskauer, bien qu'il y ait les sept souches de l'espèce *Bact. lactis aerogenes* et bien d'autres qui s'en approchent par la non-fermentation de la dulcité. Ce fait, ainsi que le grand pourcentage de la production d'indol, semble indiquer que les colibacilles des nourrissons, quoique provenant du lait (voir le développement sur les milieux synthétiques au citrate et propionate de sodium), se sont acclimatés dans un milieu nouveau et y ont subi un changement de leurs caractères biochimiques en se rapprochant du type fécal.

De la comparaison des colibacilles de ces deux groupes ressort le fait qu'ils diffèrent peu entre eux ; les colibacilles des malades font fermenter plus souvent le saccharose, le raffinose et la salicine en cessant en même temps de cailler le lait, ce qui les fait se rapprocher encore plus de colibacilles de provenance fécale. La grande discordance des caractères biochimiques constatée chez les colibacilles des nourrissons semble confirmer l'assertion de D'HÉRELLE [11, p. 234] que l'espèce *Bact. Coli* tout entière est une espèce mutante sous l'influence de la symbiose avec le bactériophage dans l'intestin.

Avant de passer à la description de mes résultats concernant l'étude des bactériophages, je veux passer en revue la bibliographie de la dernière dizaine d'années ; elle est fort pauvre en ce qui concerne mon sujet. SANBORN [17, 18] en 1931 a consacré deux mémoires à l'étude de la microflore des adultes sains et malades soumis aux différentes diètes. La microflore anaérobie des nourrissons fut étudiée par UPTON [22] et STRANSKY et WASITZKY [20], la microflore aérobie par EPSTEIN et JELINEK [4] et GERSTLEY, HOWELL et NAGEL [8] ; ces auteurs ont examiné le changement de la microflore dû au lait de femme et au lait de vache, ils ont constaté que l'addition du lactose à ce dernier fait dominer dans les déjections les microbes présentant la coloration positive de Gram. ROSENTHAL et LIEBERMANN [16] ont trouvé en 1931 que le lait de femme contient le lysozyme, tandis que le lait de vache ne le renferme pas, ce qui détermine la prépondérance des colibacilles dans les déjections des nourrissons allaités artificiellement. A l'étude des colibacilles provoquant les maladies intestinales et lésions rénales des nourrissons sont consacrés les mémoires de FOTHERGILL LE ROY [5] et de ABRAHAM [1] apparus en 1929, de FRANK [6, 7] et de TEVELI [21] en 1932, de GOLDSCHMIDT [9] en 1934 et de HASSMANN [10] en 1935, mais les conclusions auxquelles arrivent ces auteurs diffèrent beaucoup, à savoir que ABRAHAM, GOLDSCHMIDT et HASSMANN soutien-

ment qu'il existe des dyspepsiecolis et des pyuriecolis dont les filtrats des cultures tuent des cobayes et des lapins par une coliendoxine ; ces souches, selon ces auteurs, n'existent pas ou presque pas, ni dans le lait, ni dans les déjections des nourrissons et des adultes sains. L'existence d'une coliendoxine fut aussi constatée en 1930 par PLANTENGA [15]. L'opinion de trois autres auteurs est que, biochimiquement, il y a identité entre les colibacilles isolés des déjections de nourrissons sains et malades. Pour expliquer cette discordance, il faut rappeler la constatation de D'HÉRELLE, établissant que le *Bact. coli* ordinaire n'est pas pathogène, le *Bact. coli* résistant le devient du fait même de sa résistance à l'action du bactériophage, « les expériences in vitro montrent qu'un microbe résistant au bactériophage est également résistant à la phagocytose ; vis-à-vis d'un tel microbe, l'organisme est impuissant ». Mes propres résultats sont d'accord avec l'opinion qu'il n'y a pas des espèces spéciales pathogènes de colibacilles jouant des caractères biochimiques spécifiques, c'est leur toxicité qui les différencie ; je regrette beaucoup de ne pas pouvoir vérifier la toxicité ou non des filtrats de cultures de mes colibacilles sur les animaux ; aussi il faut noter que les cas des nourrissons malades étudiés par moi n'étaient ni très graves, ni mortels et que, vu la grande hétérogénéité du groupe *coli-aerogenes*, il faudrait examiner beaucoup plus de nourrissons pour pouvoir arriver à des conclusions générales. Il me reste à citer encore deux mémoires apparus en 1932 de CLARK [2] et de SCHEER et ABRAHAM [19] qui s'occupent du traitement des colibacilloles infantiles ; le premier arrive à de bons résultats par l'emploi d'une diète spéciale, les seconds ont sauvé par le vaccin spécifique quatorze nourrissons malades (cas très graves). Il faut ici souligner que D'HÉRELLE [11] cite plusieurs auteurs qui ont traité en 1925 avec succès des pyélites infantiles par le bactériophage virulent pour le colibacille du malade.

Passant à l'étude des filtrats préparés avec les déjections des nourrissons sains et malades, je dois insister sur le fait que la recherche des coliphages ne fut pas mon but, car cette constatation fut faite déjà en 1918 par D'HÉRELLE et fut ensuite confirmée par VEDERENNE en 1922, par SURANYI et KRAMAR en 1924 et par PIERRET et BILOUET en 1925, ce qui a permis à D'HÉRELLE [11], de conclure « que le bactériophage fait son apparition dans l'intestin de l'homme entre le quatrième et le septième jour après la naissance. Il est probable que le début coïncide avec l'ingestion d'un bacille coli infecté par un protobe bactériophage ». D'autre part, il est incompréhensible pour moi d'avoir trouvé en 1934 dans le mémoire de DEAK [3], l'unique traitant ce sujet, cette conclusion : « la recherche des bactériophages actifs pour les coli et paracolibacilles

chez les vingt-cinq nourrissons sains et chez les vingt-six malades a donné des résultats négatifs » ; l'emploi d'une méthode défectueuse peut expliquer cet insuccès.

En étudiant les filtrats des déjections des nourrissons j'ai voulu constater s'ils diffèrent, et jusqu'à quel point, de ceux faits par moi en 1932 du lait des villages polonais près de Varsovie. Pour avoir la possibilité de comparer la force et l'étendue de la virulence des bactériophages contenus dans les filtrats des déjections avec ceux du lait, je les ai fait agir sur les mêmes bacilles-tests, à savoir : *Bact. typhi*, *B. para A*, *B. para B*, *B. para C*, *Bact. coli* 2, souches appartenant à la même espèce et trois souches dysentériques, ensuite *B. Gaertner*, en somme quatorze bacilles-souches sensibles. Le premier résultat fut que les filtrats des déjections des nourrissons sains et malades étaient moins actifs (force et étendue de la virulence) pour les bacilles étudiés que les filtrats du lait. L'explication de ce fait, me semble, peut être trouvée en ce que les nourrissons étudiés se trouvaient dans l'établissement municipal où règne la propreté observée par un personnel spécialisé, où ils étaient nourris au sein ou avec le lait de vache produit d'une manière hygiénique et pasteurisé, tandis que les laits de campagne étaient très riches en *Bact. coli commune* et *communior*, ce qui fut une vérification bactériologique des mauvaises conditions sanitaires de la production du lait, fait constaté par l'instructeur visitant les étables et les maisons des paysans. On sait d'ailleurs que les animaux domestiques sont plus exposés que les hommes à l'ingestion de bacilles divers et, par suite, leur bactériophage peut mieux exalter sa faculté de virulence.

En second lieu, en comparant les données obtenues avec les filtrats des déjections de nourrissons sains avec celles des nourrissons malades, on constate une plus grande activité des premiers filtrats, ce qui est bien compréhensible, car, selon d'HÉRELLE, la maladie se déclare quand le bactériophage du malade ne s'adapte que tardivement et lentement.

Examinons maintenant les résultats réunis sur le tableau III : le plus souvent fut attaqué *Bact. Shiga*, un des bacilles intestinaux les plus sensibles, 19 fois chez les nourrissons sains et 17 chez les malades ; en second lieu, il faut citer *Bact. typhi*, une seule souche attaquée respectivement 16 et 14 fois, les deux souches 7 et 8 fois ; la troisième place est occupée par *Bact. coli* avec une fréquence de 11 pour les deux groupes, les deux souches ont été attaquées à la fois 7 et 4 fois. Relativement peu actifs étaient les filtrats vis-à-vis des bacilles *para B*, attaqués 6 et 3 fois au plus. En somme, les filtrats des déjections du premier groupe ont attaqué 83 fois les bacilles tests et du second groupe 82 fois.

TABLEAU III.

Filtrats des déjections de nourrissons	Typhiques		Bacilles :						Bact. coli		Bacilles dysentériques			B. Gaertner	Souches attaquées	Souches sensibles			Plages
			Para A		Para B		Para C				Shiga	Pasteur	Dys.			5	6	7	
			1.	2.	1.	2.	1.	2.											
	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.											
Sains	8	16	5		6	1		3	11	8	19	3	2	1	83	2	4	2	7
Malades	11	14	2		3	2		3	11	6	17	10	1	2	82	2	1	4	1

Il est intéressant de noter que, durant le mois de mai, sur 14 filtrats de deux groupes, ils ne furent actifs qu'une fois pour une seule souche de *Bact. coli* dans chaque groupe, tandis qu'au mois d'octobre, sur 18 filtrats, une souche fut attaquée 16 fois et les deux souches de *Bact. coli* 8 fois, ce qui s'explique par la plus grande fréquence des troubles gastriques en saison des fruits et par contre-coup l'exaltation de virulence des bactériophages pour les *colibacilles* — les bactériophages, grâce à leurs petites dimensions et à leur grande résistance, se propagent encore plus facilement que les microbes.

Quant à l'étendue de la virulence des filtrats, ceux du premier groupe furent actifs pour les 5 bacilles étudiés 2 fois, de même que du second groupe ; pour les 6 bacilles 4 fois les premiers et 1 fois les seconds, et, pour les 7 bacilles 2 et 4 fois, ce qui fait en somme 8 fois dans le premier groupe et 7 fois dans le second.

Vu l'intérêt tout spécial que présente pour moi l'étude des *coliphages* des nourrissons, je les ai fait agir encore une fois sur les six souches de *colibacilles* sensibles, de provenance diverse, à savoir : Co¹, Co⁴ et L₃₃ provenant le premier de l'homme malade, les suivants d'un même homme sain, isolés consécutivement en 1930 et 1933 (Co¹ et Co⁴ furent déjà employés avec les bacilles typhiques), ω₃ isolé en 1930 d'un dromadaire du jardin zoologique de Varsovie ; 16₅ et 39₁₀ tous les deux isolés en 1932 du lait de villages près de Varsovie. Au point de vue de leur pouvoir fermentatif le plus actif est le coli 16₅, qui attaque les six substances hydrocarbonées ; la glycérine, la sorbite et la salicine sont fermentées par les deux colibacilles Co⁴ et L₃₃ ; le colibacille ω₃ n'attaque pas le saccharose et le raffinose ; la dulcité et la salicine ne sont pas fermentées par le colibacille 39₁₀ et le dernier Co¹ est le moins actif et n'attaque que la glycérine et la dulcité. J'ai utilisé dix-huit filtrats S12-17 et M7-12, M17-21 ; cette expérience, outre la confirmation des résultats obtenus pour la première fois avec les colibacilles Co¹ et Co⁴, m'a donné plus de sûreté sur la plus grande activité des

filtrats faits des déjections de nourrissons sains aussi pour les coli bacilles 16₅, ω₃, L₃₃ et 39₁₀, disposés suivant leur sensibilité décroissante. Les filtrats S16, M19 et M21 ont attaqué en somme les dix souches de bacilles sur dix-huit souches, qui furent essayées.

CONCLUSIONS

1. Les colibacilles isolés de déjections de quarante-deux nourrissons présentent les caractères biochimiques intermédiaires entre les colibacilles d'origine fécale et ceux du lait.

2. Les colibacilles isolés des déjections de nourrissons sains et malades (dyspepsie) se ressemblent par leurs propriétés biochimiques.

3. Les filtrats faits des déjections de nourrissons sont moins actifs pour les bacilles du groupe *coli-paratyphique* et pour les *bactéries dysentériques* que les filtrats du lait.

4. Les filtrats des déjections des nourrissons malades sont moins actifs pour les bactéries étudiées que ceux des nourrissons sains.

5. L'activité des filtrats étudiés s'étend sur les dix souches, au maximum.

6. Les bactériophages les plus actifs forment sur la gélose inclinée des plages de 1 à 2 mm. de diamètre.

BIBLIOGRAPHIE.

- [1] G. ABRAHAM. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I*, 1929, 113, 74.
- [2] A. L. CLARK. *Idem, Refer.*, 1932, 107, 505.
- [3] E. DEAK. *Idem*, 1934, 112, 231.
- [4] B. EPSTEIN et O. JELINEK. *Idem*, 1932, 107, 507.
- [5] FORTHERGILL, D. LE ROY. *Journ. of Inf. Dis.*, 1929, 45, 393.
- [6] M. FRANK. *Centralbl. f. Bakt. Refer.*, 1931, 102, 363.
- [7] M. FRANK. *Idem*, 1932, 107, 503.
- [8] J. R. GERSTLEY, K. M. HOWELL et B. R. NAGEL, *Idem*, 1934, 112, 128.
- [9] R. GOLDSCHMIDT. *Idem*, 1934, 112, 121.
- [10] K. HASSMANN. *Idem*, 1935, 116, 278.
- [11] F. D'HÉRELLE. *Le bactériophage et son comportement*, 1926.
- [12] I. LIPSKA. *Le Lait*, 1932, 12, 88.
- [13] I. LIPSKA. *Idem*, 1934, 14, 673.
- [14] I. LIPSKA. X^e Congrès mondial de Laiterie, 1934, 245.
- [15] B. PLANTENGA. *Centralbl. f. Bakt. Refer.*, 1930, 101, 398.
- [16] L. ROSENTHAL et H. LIEBERMANN. *Journ. of Inf. Dis.*, 1931, 48, 226.
- [17] A. SANBORN. *Idem*, 1931, 48, 541.
- [18] A. SANBORN. *Idem*, 1931, 49, 37.
- [19] E. SCHEER et G. ABRAHAM. *Centralbl. f. Bakt. Refer.*, 1932, 104, 409.
- [20] E. STRANSKY et A. WASITZKY. *Idem*, 1930, 101, 398.
- [21] Z. TEVELL. *Idem*, 1932, 108, 43.
- [22] M. UPTON. *Idem*, 1930, 98, 188.