

**ANNALES**  
DE LA  
**SOCIÉTÉ LINNÉENNE**  
DE LYON

---

*Année 1892*

—  
(NOUVELLE SÉRIE)  
—

TOME TRENTE-NEUVIÈME

---

LYON  
H. GEORG, LIBRAIRE-ÉDITEUR  
36, PASSAGE DE L'HOTEL-DIEU  
MÊME MAISON A GENÈVE ET A BALE

PARIS  
J.-B. BAILLIÈRE ET FILS, ÉDITEURS  
19, RUE HAUTEFEUILLE  
—  
1892

SUR LA PRODUCTION  
DE  
**LA PHOSPHORESCENCE**  
DE LA VIANDE

PAR LE *PHOTOBACTERIUM SARCOPHILUM* (1)

PAR

**RAPHAËL DUBOIS**

---

La phosphorescence de la viande de boucherie a été attribuée à des microorganismes par les divers auteurs qui ont écrit sur ce sujet dans ces dernières années ; toutefois aucun d'eux n'a pu obtenir de cultures pures, et c'est sans doute ce qui permet d'expliquer les divergences d'opinion qui ont persisté jusqu'à ce jour à propos de l'agent photogène (2).

D'autre part, l'apparition spontanée de la phosphorescence de la viande n'a, à notre connaissance, été signalée que chez le porc, le cheval et le mouton, et nous n'avons rencontré jusqu'à ce jour aucune observation de la phosphorescence de la chair du lapin domestique. C'est grâce à l'extrême obligeance de M. Leclerc, inspecteur d'hygiène de la Ville de Lyon, que j'ai pu pour la première fois étudier un cas de ce genre.

Il s'agit d'un lapin qui avait été acheté mort et dépouillé au marché de la ville. La propriétaire de cette viande, s'étant aperçu dans la soirée que le corps de l'animal émettait des lueurs dans l'obscurité, l'apporta le lendemain au bureau municipal d'hygiène, qui le fit parvenir le même jour au laboratoire de physiologie de la Faculté des sciences, le 24 février 1891.

(1) Une communication verbale et inédite de ce travail a été faite en mai 1891 à la Société Vaudoise des sciences physiques et naturelles à Lausanne.

(2) On trouvera l'historique de la question dans le travail que j'ai publié en trois articles parus en 1889 dans l'*Écho des Sociétés et Associations vétérinaires*.

La phosphorescence était surtout manifeste sur le râble et aux faces internes et externes des cuisses, ainsi que sur divers autres points du corps, où elle était cependant moins marquée.

Dans les points les plus lumineux, il n'y avait au papier tournesol ni réaction acide, ni réaction alcaline appréciable. La viande ne présentait aucune odeur particulière et ce n'est que trois ou quatre jours plus tard, lorsque la putréfaction commença à se développer que les lueurs disparurent.

Le 25 février, on inocula avec la matière lumineuse plusieurs tubes de gélatine-viande-peptone à 3 pour 100 de sel qui brillèrent fortement au bout de 24 heures, mais s'éteignirent assez rapidement après s'être liquéfiés.

L'examen microscopique montra que les cultures contenaient plusieurs espèces différentes de microorganismes.

Les cultures faites en tubes d'Esmarck nous ont permis d'isoler ces diverses espèces parmi lesquelles nous avons rencontré quatre variétés, ou formes différentes d'une même espèce appartenant au genre *photobacterium*.

Ces quatre variétés sont représentées par des microorganismes très petits dont la taille ne dépasse guère  $1 \mu$  à  $1 \mu 1/2$ .

Ils forment des colonies arrondies, qui se distinguent facilement par leur coloration.

La *variété a* est représentée par des colonies blanc jaunâtre sales, glaireuses, ne creusant pas la gélatine et s'élevant au contraire au-dessus de sa surface : elles sont exclusivement formées de microcoques ou de bactéries très courtes, non mobiles.

Ces colonies ne sont pas lumineuses.

La *variété b* est formée de colonies présentant sous certaines incidences une belle teinte verdâtre, due à un principe fluorescent. Ces colonies sont formées par des microorganismes qui présentent la forme de microcoques, de diplocoques et même de courtes bactéries, réunies parfois en chaînettes de cinq à six individus. Ces microorganismes ne sont ni mobiles ni lumineux : ils ne fluidifient pas la gélatine.

La *variété c* est formée de colonies de couleur blanc jaunâtre,

mais qui, au lieu de faire saillie à la surface de la gélatine, la creusent profondément et rapidement.

La partie liquéfiée présente toujours une forte réaction alcaline, même dans les bouillons primitivement neutres. On y rencontre des bactéries mobiles, renflées en massues à leur deux extrémités, étranglées vers le milieu.

Elles ressemblent beaucoup à celles qui forment les colonies de la variété *d*, dont elles semblent n'être, comme les deux variétés précédentes d'ailleurs, qu'un état morphologique non lumineux.

Les colonies de la *variété d* sont transparentes, incolores au début de leur formation et quand elles sont plus développées elles prennent parfois une coloration très franchement jaune. Loin de fluidifier la gélatine, elles la dessèchent et forment à sa surface des mamelons arrondis. Elles émettent une *belle lumière verte*. Ces colonies sont formées par des bactéries non mobiles présentant la forme générale propre au genre *photobacterium* ; mais elles se distinguent des espèces que j'ai pu observer par leur extrême petitesse. Elles s'en distinguent également par une propriété que je n'ai rencontrée chez aucune autre espèce lumineuse, à savoir qu'elles conservent leur pouvoir photogène dans le bouillon de viande-gélatine-peptone non neutralisé, c'est-à-dire acide.

J'ai le premier démontré (*loc. cit.*, p. 1) que l'on pouvait à volonté éteindre les photobactéries en les transportant d'un milieu neutre ou alcalin dans un bouillon légèrement acide, et inversement les rallumer en les faisant passer d'un milieu acide dans un milieu alcalin ou neutre. J'ai été tout d'abord d'autant plus surpris de voir la lumière se produire dans un bouillon acide, que j'avais établi expérimentalement la généralité de la loi qui veut que la lumière se produise, aussi bien chez les animaux que chez les végétaux, seulement dans un milieu humide, oxygéné et alcalin.

En examinant attentivement ce qui se passait dans les tubes acides, j'ai pu facilement me convaincre que les nouveaux microorganismes obéissaient bien à la loi générale, mais par un artifice particulier, ils possèdent en effet la propriété de sécréter une sub-

stance alcaline, qui leur permet de neutraliser l'acidité du milieu ambiant, de telle sorte que le point où s'est développée la colonie lumineuse colore en bleu le tournesol rougi, tandis que le bouillon qui n'a pas été attaqué, rougit le tournesol bleu.

Ce fait est important, parce qu'il nous fait comprendre pourquoi l'organisme normal est réfractaire au développement de certains microorganismes et non d'autres. Les microbes pathogènes se comportent comme les microbes lumineux : L'agent infectieux est modifié ou tué par un milieu qui ne convient pas à son développement, il est l'esclave du milieu, ou bien il peut modifier le milieu où il tombe et devient alors le maître de l'organisme.

Toutefois il ne faut pas que l'acidité du bouillon soit trop prononcée, car il suffit d'ajouter une très petite quantité d'acide lactique à la gélatine-viande-peptone pour empêcher la lumière de se produire, les colonies restent misérables; mais on peut les ralentir, même au bout d'un temps fort long en les inoculant à des bouillons alcalins ou neutres.

D'autres conditions de milieu peuvent également faire perdre la propriété photogénique à la variété lumineuse : L'absence ou l'insuffisance de sel dans le bouillon de culture donne la forme fluorescente mais éteinte *b*.

La variété fluidifiante *c* s'obtient expérimentalement en cultivant à 30 degrés dans un milieu franchement alcalinisé par le carbonate de soude la variété lumineuse. Quant à la variété *a*, elle résulte du vieillissement. On voit parfois se former au milieu ou plutôt sur les bords de cultures jaunes bien photogènes des colonies d'un blanc jaunâtre ou grisâtre nées des premières, mais formées d'éléments dégénérés.

Ces quatre variétés appartiennent à une espèce polymorphe, qui ne brille que dans certaines conditions que nous avons expérimentalement déterminées, ainsi qu'on le verra plus loin. Mais nous pouvons dire de suite que par l'ensemble de leurs caractères morphologiques et physiologiques, les photobactéries de la viande du lapin méritent d'être distinguées de celles qui ont été décrites antérieurement, et bien qu'il ne soit pas impossible que tous les micro-

organismes connus soient des variétés d'une seule et même espèce, nous croyons cependant, en raison des caractères particuliers et de l'origine de celui qui nous occupe être autorisé à le désigner sous le nom de *photobacterium sarcophilum*.

Nous n'avons pas réussi jusqu'à présent à le cultiver sur les tissus végétaux (bois, tubercules de pomme de terre) à l'état lumineux, mais il se développe bien sur la chair cuite ou crue des poissons, ce qui permet de supposer qu'il est d'origine marine. Inoculé à la viande fraîche de porc, de veau, de mouton, et de cheval, ce photobactérium donne lieu à des cultures lumineuses après une période d'incubation de 24 à 48 heures. Le développement des colonies s'est montré peu actif et tardif sur la viande de cheval et sur celle du bœuf.

Sur toutes ces viandes, l'envahissement et l'énergie lumineuse ont été activées par l'inoculation simultanée du photobactérium *sarcophilum* normal et de la variété fluidifiante et mobile *c*, qui l'accompagnait sur notre lapin lumineux. Vraisemblablement ce dernier sert d'auxiliaire en entraînant le microorganisme lumineux, en sécrétant en abondance la substance alcalinisante et en fluidifiant, peut-être même en peptonisant le protoplasma des éléments anatomiques de la viande. La chair du lapin est rapidement contaminée et brille fortement après inoculation du *photobacterium sarcophilum*, au bout de 24 heures.

Il ne semble pas cependant que ces microorganismes soient dangereux pour les animaux vivants et leur présence ne paraît pas être un indice que la variété contaminée appartient plutôt à des animaux malades qu'à des animaux sains.

Un grand nombre de cultures *impures* se sont montrées d'emblée stériles ou se sont éteintes rapidement dans le laboratoire, dont la température était seulement de quelques degrés plus élevée que dans le sous-sol où je faisais la plupart de mes expériences : c'est peut-être ce qui permet de s'expliquer pourquoi les variétés lumineuses ont toujours été observées aux environs de Pâques.

En culture pure, c'est au voisinage de 12° centigrades que le *photobacterium sarcophilum* brille et se développe le mieux : mais

il peut également supporter une température de 20° sans s'éteindre, aussi bien dans les bouilleurs alcalins (à la condition que la chaleur ne les liquéfie pas) que dans les bouillons neutres ou acides. Si on élève rapidement la température, on voit les cultures pâlir entre 30° et 40° et s'éteindre définitivement à 50°.

Au contraire, si l'on refroidit brusquement une culture lumineuse, la lumière pâlit, mais ne s'éteint pas vers — 3°. Elle persiste encore à — 7° alors que le contenu du tube est congelé. Ce résultat singulier peut être facilement obtenu avec les bouillons liquides.

Les bouillons de gélatine-viande-peptone alcalinisés, neutralisés ou légèrement acides additionnés de 3 pour 100 de sel donnent de belles cultures qui se conservent pendant plusieurs mois.

L'addition de quelques gouttes de glycérine à ces bouillons augmente le pouvoir éclairant et le développement des colonies, qui semblent marcher de pair.

Pour rechercher quels étaient les éléments les plus favorables au développement et au pouvoir photogène de ces microbes, je les aiensemencés d'abord dans des tubes contenant une gelée faite d'agar-agar préalablement traitée à plusieurs reprises par l'acide chlorhydrique et l'ammoniaque et convenablement salée. Dans ces conditions, le développement est très considérable et il n'y a pas production de lumière.

Mais si à ce bouillon l'on ajoute des peptones on obtient de belles cultures bien lumineuses.

Malheureusement les peptones sont des produits fort complexes et il est difficile de savoir à quel élément ils doivent leur activité.

J'ai pu extraire particulièrement des peptones du commerce de notables quantités de lécythines par l'éther à 65° et j'ai recherché si ce produit complexe ajouté à l'agar-agar salé suffirait pour donner au bouillon les qualités nécessaires pour obtenir des cultures lumineuses.

L'expérience a montré que les bouillons d'agar-agar lavé et d'eau salée qui ne donnent que des cultures misérables et non lumineuses forment un excellent milieu pour le développement de la phosphorescence quand on les additionne de lécythines ou de nucléines,

mais il est évident que dans les bouillons qui ont été stérilisés à 120°, les lécythines et les nucléines sont décomposées et que ce sont leurs produits de décomposition qui donnent au bouillon les qualités nécessaires pour en faire un milieu photogénique.

On sait que la lécythine du jaune d'œuf se décompose en acides gras, acide phosphoglycérique et névrine.

L'addition d'acides gras neutralisés (savons) au bouillon d'agar-agar ne lui communique pas les qualités requises pour que la lumière se produise. Il en est de même quand on ajoute séparément à ce milieu de culture de la névrine ou un sel de névrine (chlorhydrate). L'acide phosphoglycérique avec l'agar-agar qui renferme de l'azote donne un bouillon avec cultures lumineuses. On obtient un meilleur résultat, en ajoutant à l'agar-agar du phosphoglycérate de névrine.

Ces résultats expérimentaux et d'autres encore dans le détail desquelles je ne puis entrer dans cette communication m'ont conduit à penser que le *photobacterium sarcophilum* ne brille que dans des milieux contenant. 1° une certaine quantité de sel marin, 2° un principe azoté comparable à la névrine, 3° un aliment carboné tel que la glycérine, 4° des produits phosphorés.

Le photobactérium se cultive facilement dans les bouillons liquides et cette propriété m'a permis de simplifier et de varier facilement les bouillons de culture.

J'ai pu en particulier éliminer l'emploi des substances colloïdales : gélatine, agar-agar, etc., dont la composition n'est pas chimiquement bien définie et obtenir des cultures lumineuses dans des bouillons liquides ne contenant que des composés chimiquement définis.

Le phospho-glycérate de névrine et l'eau salée à 3 0/0 donnent des bouillons lumineux, mais ces composés ne sont pas indispensables. On peut substituer à la névrine, l'asparagine, l'urée et même simplement des sels ammoniacaux.

Le phosphate d'ammoniaque, la glycérine et l'eau salée permettent la culture et la phosphorescence du photobactérium sarcophilum.

Mais l'asparagine permet d'obtenir des résultats meilleurs.

Je conserve depuis plusieurs semaines des bouillons liquides lumineux composés comme il suit :

Eau commune, 100 grammes ; Asparagine, 1 gr. ; Glycérine, 1 gr. ; Phosphate de potasse, 0<sup>sr</sup>,10 ; Sel marin 3 gr.

La glycérine elle-même peut être remplacée par divers autres aliments carbonés : dextrine, sucre, glycoçe, dulcité.

Le sel marin n'intervient pas exclusivement comme aliment dans ces bouillons, il forme avec l'eau pour ainsi dire un sérum artificiel dans lequel le protoplasma du microorganisme conserve un état convenable d'hydratation. On peut d'ailleurs obtenir le même effet avec d'autres substances tels que le sucre, en quantité suffisante, le sulfate de soude ou de magnésie, mais en proportions différentes.

Il y a avantage à ajouter à ces bouillons des traces de divers principes minéraux servant à la nutrition des micro-organismes lorsque l'on emploie de l'eau distillée au lieu d'eau commune.

Ces résultats montrent que la phosphorescence est entièrement liée à la végétation du photobactérium, il n'exige pour se produire que les aliments qui sont nécessaires à tous les autres végétaux inférieurs.

La production de la lumière paraît en outre résulter uniquement de l'activité physiologique du protoplasma spécial du photobactérium et non de principes photogènes oxydables déversés dans le milieu où ils vivent. Les cultures en milieux liquides sont complètement dépouillées de leur phosphorescence quand on les force à traverser des filtres en porcelaine ou en terre de pipe ne présentant aucune fissure accidentelle, et cette phosphorescence ne reparait pas par l'agitation au contact de l'air comme cela se produit quand elle s'éteint par défaut de l'oxygène nécessaire à la respiration du protoplasma.

Les cultures liquides ne contenant que des principes chimiquement définis nous ont permis d'élucider divers points intéressants relatifs à la production de la lumière physiologique ; ils seront consignés dans un article qui paraîtra prochainement dans la *Revue générale des sciences pures et appliquées* (1).

(1) Paris, Carré édit.