

tous mes essais étaient inévitablement suivis du développement de cet organisme envahissant. Je finis toutefois par l'é luder en poursuivant mes recherches tout au haut de la maison dans une chambre qui avait été longtemps inoccupée; là j'obtins des résultats conformes à ceux que j'avais obtenus d'abord dans mon cabinet d'étude.

— Mais je n'ai point encore parlé des deux verres qui, dans cette seconde expérience, ne furent pas exposés à l'air, mais recouverts de capsules de porcelaine renversées et placés sous un globe de verre. Le liquide de ces deux verres étant resté inaltéré durant une quinzaine environ (treize jours), j'en exposai un durant 9 heures, à l'air de mon cabinet d'étude, place chaude (au-dessus de la cuisine), par un temps froid et sec; je le replaçai ensuite, couvert de sa capsule, sous le globe de verre, après m'être assuré qu'il avait le bouquet d'urine parfaitement fraîche. Deux jours après, le nuage de Mucus présentait une multitude de stries blanches, verticales et les parois de verre étaient marquées de même; le jour suivant, tout le liquide était manifestement trouble et sa surface présentait deux petits îlots d'écume. Au microscope je constatai que cette écume était constituée par une espèce de Torula et que le trouble du liquide était causé par un petit organisme immobile comme les granuligera, mais qui ressemblait aux bactéries par son mode de disposition et de segmentation: lorsque trois éléments en étaient réunis, ils étaient en ligne droite, et quelques-uns de ceux qui étaient disposés par couples, présentaient une ligne transversale de segmentation commençante dans chaque article. Ils se trouvaient quelquefois aussi disposés en longues chaînes (Leptothrix); bref, on peut bien les ranger dans le groupe bactérien. Mais du commence-

ment à la fin, ce verre n'offrit point de fungus filamenteux et il forma ainsi un contraste parfait avec le verre qui avait été exposé tout d'abord à l'air durant 40 minutes, lequel, on s'en souvient, fut le siège d'un développement de fungi filamenteux sans torulae ni bactéries. — L'explication naturelle de cette différence, c'est que des organismes différents dominaient par hasard dans l'air de la salle, aux deux périodes d'exposition.

Enfin le dernier verre resta continuellement couvert et l'urine n'y offrit ni développement organique ni altération putride. Après plusieurs semaines, alors que l'évaporation en avait considérablement réduit la quantité, elle devint trouble, et je soupçonnai la présence de bactéries. Mais au microscope, je constatai que l'aspect trouble était uniquement produit par un dépôt salin, et toute l'urine finit par s'évaporer à siccité, laissant un résidu solide, sans avoir subi aucun autre changement perceptible.

Il est à peine besoin de faire remarquer combien ce dernier fait réfute complètement la théorie de l'oxygénation, au moins pour le cas du liquide en question à la température ordinaire. Ni le couvercle ni le globe de verre ne fermaient hermétiquement, de sorte que des échanges continuels se sont faits entre l'air du verre à vin, et l'oxygène et les autres gaz de l'air extérieur; et néanmoins il ne s'est produit ni putréfaction ni autre changement fermentiel. Ce fait n'a pas moins de signification à l'égard des théories des ferments chimiques et de la génération spontanée. Le mucus vésical a été regardé communément comme le ferment spécial de l'urine: mais ce mucus était présent ici et n'avait été altéré ni par l'ébullition ni par aucune autre opération, et durant des semaines il s'est montré incapable

de produire aucune transformation d'ordre zymique. La simple précaution de recevoir l'urine dans un verre préalablement chauffé de façon à y tuer tout être vivant, et de la garantir ensuite contre l'accès des poussières aériennes, a suffi pour assurer, du commencement à la fin, l'absence de tout développement d'organismes. Il est donc certain que cette urine ne renfermait point de matériaux ou principes capables de se transformer en êtres vivants à la température ordinaire.

D'un autre côté, les altérations des différents verres qui avaient subi l'exhibition atmosphérique, démontrent que l'élément étranger qui donne naissance aux bactéries comme celui qui cause le développement de *torulae* et de champignons filamenteux, peut pénétrer sous la forme de poussière aérienne (1).

Mais les résultats de cette expérience étaient précieux encore sous d'autres rapports; d'abord, il y avait là une preuve péremptoire que l'urine peut être obtenue exempte de tout organisme, grâce à la simple application d'un antiseptique efficace au *méat urinaire*; j'ai parlé plus haut de l'intérêt qui s'attache à ce point.

Secondement, ces résultats démontraient qu'un liquide

(1) On pourrait prétendre que les particules poussiéreuses qui occasionnent le développement d'organismes et les transformations zymiques dans un liquide comme l'urine, ne sont pas nécessairement des organismes, mais peut-être de petites particules dites ferments chimiques, qui provoquent des altérations chimiques, lesquelles, à leur tour, conduiraient à la production d'organismes par génération spontanée. Nous démontrerons plus loin que cette interprétation, quelque plausible qu'elle puisse paraître, est complètement dépourvue de base scientifique. En attendant, contentons-nous du fait certain mentionné dans le texte : que ni l'urine fraîche ni son mucus ne renferment de ces particules évolutives. Je me crois autorisé à affirmer cela comme une vérité générale pour ce qui regarde l'urine parce que j'en ai constaté l'exactitude dans d'autres expériences nombreuses non-seulement avec de l'urine de même provenance, mais encore avec de l'urine obtenue de deux autres sujets, par la même méthode.

organique reçu incontaminé dans un verre « chauffé », puis couvert d'une capsule renversée également « chauffée » et muni de la protection additionnelle d'un globe de verre, est sûrement garanti contre l'introduction de tout organisme de l'extérieur, aussi longtemps que les choses restent en place.

De plus, l'absence permanente de contamination dans ce dernier verre me satisfaisait particulièrement parce que, sept jours après y avoir mis l'urine, j'avais retiré un drachme de ce liquide à l'aide d'une pipette « chauffée », afin de constater l'effet de l'eau sur l'urine non bouillie. Si l'entrée subite d'un volume d'air si considérable destiné à remplacer le liquide retiré, n'avait pu amener de développement organique, il en résulte que, quelque variés que soient les germes flottants de l'atmosphère, ils ne constituent qu'une petite proportion des nombreuses particules poussiéreuses qu'un rayon solaire nous permet de voir dans un appartement habité.

Une conclusion semblable doit se déduire d'une circonstance déjà mentionnée plus haut, qu'une exposition de quarante minutes d'un des verres en expérience, n'avait abouti qu'à la production de trois champignons filamenteux, alors que les particules poussiéreuses tombées dans le liquide pendant ce temps, avaient dû être bien plus nombreuses.

Donc, si l'enlèvement d'un drachme de liquide et une exposition à découvert de plus d'une demi-heure, eurent si peu d'effet, il est clair que, pratiquement, il n'y a point risque de contamination accidentelle à enlever une ou deux gouttes de liquide, prestement, de manière à ne découvrir le verre que d'une façon toute momentanée.

J'en vins de la sorte à posséder, pour l'observation de ces organismes minuscules, mais très-importants, un moyen qui promettait des résultats plus exactement définis que tous ceux qu'on avait encore obtenus.

Dans ces dernières années il est paru différents rapports détaillés, non-seulement au sujet de la production spontanée de formes animales ou végétales plus ou moins compliquées, (par exemple, développement de grands infusoires ciliés dans une infusion de foin, naissance de *torulae* et de *penicillia* des globules lactiques), mais encore au sujet de la transformation d'une forme d'organisme dans une autre. Mais dans la seconde classe comme dans la première, on est si sujet à errer, par suite du développement accidentel d'organismes microscopiques tout près des petits éléments que l'on examine et dont ils paraissent ainsi naître, que sans mettre en doute la bonne foi des observateurs, nous avons droit de n'accueillir leurs faits qu'avec la plus grande défiance. Mais grâce à nos moyens actuels, il serait possible d'éliminer peut-être la grande source d'erreurs des précédentes recherches de ce genre, et nous pourrions compter alors sur des résultats plus satisfaisants. C'est ainsi que je fus conduit à poursuivre mes recherches bien plus loin que je n'en avais d'abord l'intention, et je publie ici un choix des résultats obtenus.

Ce que j'ai à dire d'abord a trait à la fois à l'origine des *Torules* et des bactéries.

Le soir du 13 décembre 1871, par une pluie fine qui tombait depuis midi, je portai dehors un verre à vin « chauffé » avec un couvercle; alors, soulevant ce dernier, je laissai tomber quelques gouttes de pluie dans le verre que je recouvris immédiatement après, pour le rentrer

dans la maison où j'y versai de l'urine non bouillie d'une bouteille « chauffée »; je m'étais procuré l'urine de la manière décrite plus haut. Après deux jours, je notai une petite strie opaque qui, partant d'un point de l'intérieur du verre, allait verticalement en bas. Le jour suivant, cette ligne avait grandi et le nuage de mucus était tacheté de nombreux points blancs. Au quatrième jour, tandis que le pointillé du mucus avait augmenté et que la strie opaque avait pris un aspect granuleux, deux petites plantes de *fungi fibrillaires* flottaient dans la partie limpide. Au cinquième jour, les taches du dépôt muqueux avaient pris l'aspect de gros grains de sable blanc, et des granules semblables étaient répandus sur toute la partie inférieure de la paroi interne du verre. J'enlevai un de ces grains avec une pipette « chauffée » et je le mis au microscope. C'était une *Torula* splendide composée de cellules ovales délicates et très-nombreuses disposées par groupes. Quoique peu différentes par leur grandeur, des cellules de la levure, elles montraient qu'elles étaient d'espèce différente, non-seulement par ce qu'elles étaient plus délicates et moins granuleuses mais par ce fait même qu'elles prospéraient ainsi dans une urine non sucrée où la *Torula cerevisiae* ne se développe qu'avec une difficulté extrême. Pour les distinguer je donnerai aux premières le nom de *Torula ovalis* à cause de la forme ovale des cellules. Dix jours après que j'avais recueilli le mélange d'urine et de pluie, le dépôt granuleux blanc avait considérablement augmenté et la surface du liquide présentait quelques tâches spumeuses que je reconnus au microscope, comme formées également de la même *Torula* ovale. Les deux *fungi* filamenteux s'étaient affaïssés et avaient apparemment cessé de grandir. Ce

liquide quoique encore bien transparent et très-peu altéré seulement de bouquet, leur était probablement déjà devenu impropre par suite des changements chimiques effectués par la torula. Une autre petit champignon que j'avais remarqué depuis plusieurs jours sur la paroi du verre sous la surface du liquide, semblait néanmoins grandir encore. A cette époque, j'eus à aller en Angleterre pour quelques jours; désirant toutefois poursuivre mes recherches, j'emportai avec moi un peu de ce liquide que j'avais recueilli au moyen d'une pipette « chauffée » et transvasé dans une éprouvette « chauffée » longue de cinq pouces; j'avais recouvert cette dernière d'une autre éprouvette renversée de même longueur (naturellement « chauffée »), et puis je l'avais disposée verticalement dans une boîte garnie d'ouate. Cinq jours plus tard, (le 28 décembre) j'introduisis une demi goutte de cette urine de l'éprouvette y compris un peu du dépôt blanc du fond, dans une once de solution de Pasteur que je m'étais préparée (1) de façon y assurer, je l'espérais du moins, l'absence d'organismes vivants. Le verre et son couvercle de porcelaine naturellement « chauffé »

(1) Pour la préparation de ce liquide, je m'écartai quelque peu de la formule de Pasteur qui est : 100 part. eau distillée, 10 part. sucre candi, 1 part. tartrate d'ammonium et cendres de 1 part. de levure. Au lieu de sucre candi j'employai du sucre en pain, et j'en réduisis la proportion de moitié, la proportion de Pasteur me semblant trop forte pour certains organismes. Ensuite n'ayant pas de données exactes sur la quantité de sels minéraux employée par Pasteur, j'en pris une quantité que je crus convenable, me réglant d'après les cendres que laissait un poids donné de levure; je constatai plus tard que j'en avais employé un peu plus que Pasteur. Ma solution était donc composée de la manière suivante : eau distillée 5,000 grains pain de sucre 250 gr., tartrate d'ammoniaque cristall. 50 gr., cendres sèches de levure 5 gr.; en tout un peu plus qu'une demi pinte de liquide. J'introduisis ce liquide au moyen d'un entonnoir « chauffé » dans une bouteille de Florence « chauffée » munie d'un couvercle de verre; je fis bouillir et laissai refroidir, la bouteille étant couverte. Un meilleur procédé sera décrit plus tard.

fés » furent mis sous globe dans une chambre dont la température variait de 60° à 70° F (15° à 20 cent.). Je dois établir d'abord qu'avant de lever l'éprouvette renversée qui servait de couvercle au tube renfermant l'urine, j'en avais nettoyé les bords avec un linge imbibé d'une forte solution aqueuse d'acide phénique; sans cette précaution, quelque grain de poussière ou brin d'ouate adhérent au tube-couvercle, aurait pu contaminer le tube à urine (1). L'urine était toujours transparente, et en examinant au microscope le résidu de la pipette après inoculation, je n'y trouvai que la *Torula ovalis*, sans mélange d'éléments étrangers.

Trente-six heures après l'inoculation, je trouvai la paroi interne du verre qui renfermait la solution de Pasteur parsemée, de haut en bas, d'un dépôt granuleux fin qui, à la loupe, ressemblait à du sable blanc, et le tiers environ de la surface du liquide était occupé par une écume dense et blanche laquelle se composait, je le constatai au microscope le lendemain, de cellules ovales de *Torula*, entièrement semblables à celles de l'urine qui avait servi à l'inoculation. Le 3 janvier 1872 j'ensemenciai un second verre « chauffé » et couvert, renfermant du liquide de Pasteur de la même provision, à l'aide d'une goutte du premier verre, et après 24 heures, je pus à nouveau voir sous le microscope des cellules de *Torula ovalis* empruntées à un

(1) L'efficacité d'une forte solution phéniquée pour assurer la destruction des organismes inférieurs m'était connue par l'expérience chirurgicale; la méthode même décrite plus haut pour obtenir l'urine pure en est un exemple et une confirmation. Le fait possède une grande utilité expérimentale; il nous permet de purifier des portions d'appareil qu'il serait difficile ou impossible de soumettre à la chaleur. L'expérience étendue que ces recherches m'ont procurée, me permet d'affirmer qu'une lotion d'eau phéniquée 1/20 purifie aussi certainement le verre que la calcéfaction au rouge par la flamme.

dépôt blanc qui s'était déjà formé sur la paroi du verre. Le jour suivant, sur le point de retourner à Edimbourg, je transvasai un peu du contenu du deuxième verre à liquide de Pasteur, dans une éprouvette « chauffée » munie en guise de couvercle d'une autre éprouvette renversée, et j'emballai cette éprouvette avec celle qui renfermait l'urine, dans une même boîte à ouate. Bien que onze jours se fussent passés depuis que l'urine avait été introduite dans l'éprouvette au moment d'entreprendre mon voyage au midi, ce liquide demeurait toujours transparent et ne montrait pas d'apparence d'organisme autre que la *Torula*; nous pouvons donc admettre que les fungi filamenteux présents dans le verre original, avaient été évités par la décantation, et que la *Torula ovalis* existait dans l'éprouvette à l'exclusion de tout autre organisme.

Occupé ailleurs, je laissai passer huit mois avant d'examiner de nouveau ces tubes qui étaient demeurés tranquillement emballés dans leur enveloppe d'ouate. Cette disposition se trouva être excellente : la forme allongée des vaisseaux et des couvercles, et la masse d'ouate environnante avaient si bien limité l'évaporation, qu'il restait dans les éprouvettes une quantité considérable de liquide. En les examinant de plus près le 6 août 1872, je vis que toutes deux, au niveau de la bande-circulaire que l'évaporation lente avait mise à sec, étaient tapissés d'une foule de petits corpuscules blanchâtres d'aspect gélatineux, plus petits que des têtes d'épingles, que je supposai être quelque champignon parent de la *torula*, conjecture que je contrôlai aussitôt par l'examen du tube à urine. Je soulevai l'éprouvette couvercle après en avoir lavé la partie inférieure avec de l'eau phéniquée 1/20, puis, à l'aide d'une

aiguille montée (dont le manche de bois avait été lavé à l'eau phéniquée et dont la pointe avait été soumise à la flamme), je parvins à emporter une partie d'un de ces petits corps que je mis au microscope. C'était un assemblage de champignons filamenteux d'une délicatesse exquise. Les filaments se bifurquaient et supportaient des corpuscules ovales bien plus gros qu'eux et que l'on devait considérer comme des spores (conidies). Des conidies libres pullulaient dans le champ du microscope disposées par paires ou plus rarement par groupes plus nombreux lesquels, en réalité, constituaient une *Torula* qui ne se pouvait distinguer de la *Torula ovalis* originale. Mais tandis que certains bourgeons nés des filaments, offraient ainsi les caractères de conidies toruloïdes, et différaient des branches ordinaires non-seulement par leur forme mais aussi par leur aspect plus compact et plus épais, on voyait plus communément des rameaux d'une ténuité excessive, et de petits corpuscules également minces et libres se montraient souvent par couples. (Il y avait aussi des variétés intermédiaires). Ces corps plus minces semblaient n'être ni plus ni moins que des bactéries, comme le prouvaient non-seulement leur forme, mais les mouvements actifs et parfaitement caractéristiques de certains d'entre eux. Il y avait aussi beaucoup de corpuscules immobiles que ma précédente expérience me permettait de reconnaître pour de jeunes bactéries se multipliant par segmentation tandis qu'ils ressemblaient identiquement en épaisseur à certains corpuscules germés des filaments. L'identité de nature des bactéries et des filaments était indiquée encore par la parfaite similitude des marques transversales des premières avec les marques des filaments jeunes.

Les bactéries naîtraient d'un champignon filamenteux, c'était une idée toute contraire aux notions préconçues que je suivais au moment d'entreprendre cet examen; car, d'accord avec les autorités dont les observations me semblaient avoir le plus grand poids en la matière, j'avais toujours considéré les bactéries comme un groupe séparé et complètement distinct. Je fus forcé d'admettre la conclusion inverse non-seulement par l'observation que je mentionne ici, mais par d'autres que je dirai plus tard. J'ai à peine besoin de dire que ce point, s'il est vrai, est du plus haut intérêt.

Dans le cas actuel, il est certain que les bactéries qui s'agitaient dans le liquide, étaient morphologiquement identiques* aux bourgeons du champignon; et ce fait acquiert plus de poids par cette circonstance que le verre était resté huit mois tranquille après avoir été jusque là sûrement garanti contre l'introduction d'organismes extérieurs; et même si des bactéries étaient entrées comme telles, accidentellement, à la dernière exposition de l'éprouvette, il n'est pas du tout probable qu'elles seraient restées si longtemps actives. Si donc nous écartons l'hypothèse de la génération spontanée (et je compte que le lecteur nous y croira autorisés avant la fin de cette publication), il est difficile de concevoir comment ces bactéries se seraient produites autrement que par une altération graduelle des caractères de l'organisme original sous l'influence des changements progressifs du milieu qu'il habitait. A la vérité il est concevable qu'une bactérie incapable de germer dans l'urine fraîche, soit restée pour ainsi dire dormante dans le liquide jusqu'à ce que celui-ci eût subi, par l'influence des torules, des altérations qui en eussent fait un milieu con-

venable pour la bactérie. Quoiqu'il en soit, l'identité morphologique de cette bactérie avec les bourgeons d'un champignon fibrillaire doit être prise pour ce qu'elle vaut.

Je procédai ensuite à l'examen du liquide de Pasteur. Cette solution demeurée transparente et incolore formait un contraste frappant avec la couleur noir de jais que j'avais vu déterminée souvent, après un laps de temps bien plus court, par l'action de la levure introduite dans un liquide de même nature (1). Il y avait toutefois assez de dépôt blanc soit sous forme de sédiment libre et détaché, soit comme incrustation fine des parois du tube, et quelques débris en étaient flottants, sans doute à cause des mouvements imprimés au vaisseau. Il y avait aussi un peu d'écume à la surface du liquide dont 1/6 environ s'était évaporé, et, comme nous l'avons déjà dit, la partie du verre qui avait été mise à sec était tapissée de petits corps gélatineux, blancs, semblables à ceux du tube à urine. Comme ce tube était plus long que le précédent, je ne pus amener un de ces petits corps à l'aide d'une aiguille. Je dus ainsi me contenter d'examiner une goutte prise à la surface du liquide, à l'aide d'une pipette « chauffée », goutte qui renfermait des particules blanches flottantes. Celles-ci me donnèrent quand même tout ce que je pouvais désirer; elles étaient constituées précisément par le même organisme que j'avais trouvé dans l'urine, et je le vis d'autant mieux qu'il n'avait pas été endommagé par une aiguille. J'en vis des plantes entières parmi lesquelles il y en avait d'aussi déliées que celles de l'urine; je puis donner une idée de leur ténuité extrême

(1) Je ne saurais dire encore si la couleur noire que j'ai vue résulter invariablement de l'action de la levure sur la solution de Pasteur est causée par la *Torula cerevisiæ* ou par d'autres organismes concomitants.