

sorte que nous avons ici un nouvel et clair exemple de fermentation à caractère putride déterminée dans l'urine par un autre organisme que la bactérie. Ces cellules avaient des vacuoles comme les premières, mais elles ne présentaient pas de noyaux ; quelques unes seulement montraient quelques points noirs peu marqués. Les cellules étaient étroitement serrées les unes contre les autres, ce qui correspondait à l'aspect qu'elles présentaient à l'œil nu, savoir celui d'une couche blanche et dense comme une couche de paraffine.

Le même jour (25 août), j'introduisis une petite portion de cette écume dans un autre verre d'urine qui avait été préparé en même temps que le précédent, savoir 10 jours auparavant, qui conservait sa transparence brillante et ne présentait d'altération d'aucune nature ; je fis la transmission à l'aide d'une mince baguette de verre « chauffée. » Les résultats de cette inoculation furent différents des premiers en ce qu'ici il n'y eut pas même d'apparence de végétation fibrillaire et que le développement des corpuscules marcha avec grande rapidité. Ainsi, huit heures après l'inoculation, la paroi du verre présentait déjà des trainées qui, vues à la loupe avaient un aspect granuleux, et un peu d'écume restée à la surface de l'urine avait pris une étendue quadruple et conservait le même caractère de coloration blanche et de densité que dans le verre précédent : l'aspect d'une couche de cire ou de paraffine. J'examinai un peu d'écume au microscope, et je constatai qu'elle se composait généralement de cellules libres ou disposées par paires, nées par pullulation. Mais je vis fréquemment aussi des cellules plus allongées qui paraissaient être le résultat de tentatives avortées pour la formation de filaments. Douze

heures plus tard, la paroi interne du verre était comme tapissée de sable blanc à gros grains, tandis que l'écume avait grandi rapidement au point d'avoir plus de huit fois l'étendue qu'elle possédait au précédent examen. Cette écume ne renfermait plus d'éléments allongés, la tendance aux productions fibrillaires ayant complètement disparu et les cellules constituantes étaient plus petites qu'auparavant. Un autre point intéressant c'est qu'en moins de 24 heures, cette urine qui offrait le bouquet d'urine fraîche au moment de l'inoculation, avait déjà une odeur désagréable, et qu'après 24 heures, quand l'écume recouvrait déjà presque toute la surface du liquide, l'odeur rance était très forte. On se rappellera que dans le premier verre il ne s'était pas développé d'odeur fétide durant les trois premiers jours, quoique les végétations fibrillaires fussent luxuriantes, et que ce ne fut qu'après quatre jours, alors que la forme filamenteuse avait fait place aux productions corpusculaires, quand l'écume avait fait apparition, que l'odeur rance fut perçue. Nous sommes induits à conclure de là que le même organisme peut différer dans son énergie fermentitielle suivant son état, la forme toruloïde, dans le cas présent, constituant un ferment beaucoup plus actif que la forme fibrillaire. Dix-sept jours plus tard, j'eus l'occasion de contrôler cette observation ; un autre verre d'urine inoculé à l'aide de la même écume, donna encore l'odeur rance en 24 heures.

Mais pour en revenir au verre que nous considérons, le 27 août, deux jours après son inoculation, il puait aussi fortement que le premier ; alors, examinant au microscope un peu d'écume, je fus surpris de trouver dans les cellules qui le constituaient, un changement des plus remarquables.

Celles-ci au lieu d'être des corpuscules ovales présentant des vacuoles et des granulations peu marquées, libres ou disposés par couples, étaient sphériques, dépourvues de vacuoles, fortement nucléées et disposées en groupes nombreux et irréguliers. L'écume de ce verre conserva les mêmes caractères, tout le temps que nous le tinmes en observation (15 jours); cet organisme avait donc bien complètement pris l'aspect d'une *Torula* sphérique.

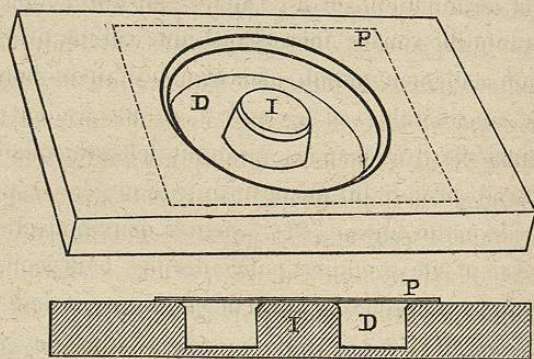
Mais, pourrait-on me demander, n'étais-je pas le jouet d'une illusion en pensant que la nouvelle forme toruloïde dans le second verre inoculé avait quelque rapport avec l'oïdium? N'était-ce pas que quelque espèce toute différente, accidentellement présente, comme l'oïdium, lui-même s'était trouvé par hasard dans le verre à levure? — Que toutes les cellules ovales eussent disparu en 24 heures et cédé la place à d'autres cellules produisant une écume exactement semblable à l'œil nu, c'était chose peu probable; mais, d'un autre côté, la différence des cellules était si prononcée que si nous étions en présence d'une simple modification du même organisme, il était désirable, si possible, de placer le fait hors de doute. Dans ce but, le 30 août, je mêlai un peu de cette écume, prise à l'aide d'une baguette de verre « chauffée » avec une goutte de solution de Pasteur (1) sur une lame de verre « chauffée » et je recouvris le mélange d'une mince lamelle couvre objet, « chauffée »; sur cette dernière, je plaçai une autre lamelle fine également « chauffée » mais grande au point de dépasser la précédente dans tous les sens et je la lutai par ses bords au porte-objet, à l'aide de paraffine fondue que j'appliquai avec une plume

(1) Cette solution de Pasteur renfermait 1/100 d'alcool pour des raisons dont je ne veux pas charger la mémoire du lecteur.

d'acier chaude. Le but de cette disposition était d'empêcher l'évaporation par le lut de paraffine tandis que les intervalles entre les deux minces lamelles devaient renfermer une petite provision d'air pour permettre la végétation de l'organisme. Je choisis alors comme point d'observation, un groupe de cellules rondes placé près des bords du liquide et, par conséquent, voisin de l'air enfermé entre les lamelles, et j'en pris le dessin de la camera lucida. C'était à 5-50 heures du soir; à 6-8 heures je notai dans les nucléoles des cellules un certain changement que j'ai souvent observé dans les spores avant la germination, et à 11 heures du soir (l'objet était resté tranquille sous le microscope) une cellule du groupe avait non-seulement grandi, mais avait produit un bourgeon allongé considérable, et les autres cellules avaient toutes leurs nucléoles très changés. A minuit, le bourgeon de cette cellule avait produit lui-même un autre bourgeon également ovale et le matin suivant à 7-45 heures deux nouvelles cellules avaient été produites par le dernier bourgeon. Plusieurs, sinon toutes les cellules de ce groupe avaient également germé. Il est à remarquer que ces produits des cellules de l'écume, n'étaient pas comme elles sphériques et nucléées, mais présentaient l'aspect ovale et vacuolé des cellules de la première écume, de sorte que l'identité d'espèce des deux formes de végétation n'était plus douteuse.

Je parvins dans la suite à démontrer ce point d'une façon plus évidente encore. Les bourgeons allongés que j'avais observés dans l'écume du second verre à urine, peu d'heures après l'inoculation, semblaient indiquer que le même liquide qui, altéré par la fermentation, occasionnait la transformation toruloïde de l'organisme, pouvait, à l'état frais, favoriser son retour à la forme fibrillaire. Je résolus donc de

surveiller, si j'y pouvais parvenir, la toute première végétation des cellules sphériques de l'écume dans de l'urine fraîche et pure. Je procédai d'après le même principe que précédemment; mais ayant appris par expérience que la petite couche d'air comprise entre les lamelles, se laissait épuiser en peu de temps, j'essayai un autre appareil destiné à me fournir plus d'air et voici la forme à laquelle je finis par m'arrêter. On prend une plaque de verre épaisse de $\frac{3}{8}$ de pouce environ et longue et large respectivement de $2\frac{1}{2}$ et $1\frac{1}{2}$ pouces. On y fait creuser par le lapidaire un fossé



circulaire D autour d'une île centrale I. Cette île a un diamètre de $\frac{3}{8}$ de pouce, le fossé ou chambre à air possède une largeur équivalente, et une profondeur telle que le permet l'épaisseur de la plaque de verre soit $\frac{1}{4}$ de pouce. Une lamelle couvre-objet P, mince et assez grande pour recouvrir l'île et le fossé circulaire, mais plus petite que la plaque de verre à laquelle elle doit pouvoir être collée à l'aide de paraffine, vient compléter le « jardin de verre » (1)

(1) Ces « jardins de verre » peuvent se trouver chez Sanderson lapidaire, 92, Princes street, Edensburgh.

que l'on garnit de la façon suivante : Il faut d'abord chauffer puis laisser refroidir les verres sans permettre l'entrée de poussière dans la chambre à air. La plaque de verre avec lamelle couvre-objet *in situ*, recouverte elle-même d'une lamelle un peu plus grande, est placée sur une large plaque de métal en position stable et l'on met au-dessus un couvercle de métal, par exemple, celui d'une boîte à biscuits en étain. Alors à l'aide d'un bec de Bunsen ou d'une grande lampe à alcool, on chauffe la plaque métallique jusqu'à ce que une goutte d'eau épanchée sur le couvercle d'étain, passe immédiatement à l'ébullition. On retire alors la lampe et l'on permet le refroidissement complet. La plaque et le couvercle métallique ont pour objet de répandre uniformément la chaleur et d'empêcher ainsi le verre épais et irrégulièrement creusé d'éclater. Le couvercle contribue à exclure la poussière durant le refroidissement, ce que font aussi la lamelle couvre-objet et la lamelle immédiatement supérieure plus grande. Cette dernière rend encore service dans le chargement du « jardin de verre »; à cet effet, on la soulève et on la renverse sur la table de manière à ce que celle de ses faces qui était inférieure pendant le refroidissement et qui, par suite, était exempte de poussière, devienne supérieure. Alors, à l'aide d'une pipette « chauffée », on y dépose quelques gouttes du liquide nouveau où l'on veut opérer la culture et l'on y ajoute un peu de la végétation à l'étude que l'on y disperse intimement en agitant avec une baguette de verre « chauffée ». En ce moment, on soulève la lamelle couvre-objet avec une pince « chauffée », en s'aidant d'une aiguille « chauffée », et l'on place à l'aide de la pipette une gouttelette du mélange de milieu liquide et d'organismes sur l'île centrale du jardin

de verre, et, pour assurer une atmosphère humide dans la chambre à air, on laisse tomber d'une pipette « chauffée » dans le fossé, une goutte d'eau bouillie puis refroidie à l'abri de la poussière aérienne (1). On remet ensuite soigneusement en place la lamelle couvre-objet que l'on a maintenue toujours dans la pince purifiée, et l'on en soude les bords à l'aide de paraffine. Celle-ci est aisément fondue dans une cuiller à café, et on l'applique à l'aide d'une plume d'acier passée de temps en temps dans la flamme de la lampe à alcool. La chose est délicate, exige une manipulation prompte et une vigilance constante; mais à ces conditions, on en tire les résultats les plus satisfaisants. Il m'est arrivé de suivre, durant plusieurs semaines, un seul et même organisme croissant sans mélange d'aucun autre, dans un tel jardin de verre que j'avais même emporté avec moi en voyage pendant les vacances d'automne.

Dès que le « jardin » est ensemencé, on le place au microscope, et l'on dessine à la camera lucida quelques spécimens d'organismes. — On fait également un dessin à grossissement plus faible afin de pouvoir retrouver aisément les objets dessinés.

Le 11 septembre, je chargeai un jardin semblable avec un peu d'écume empruntée au second verre à urine, mêlée

(1) L'ordre à suivre est le suivant : introduire d'abord la goutte d'eau dans la chambre à air, puis employer la même pipette propre pour le milieu à végétation. J'ai trouvé que la meilleure pipette pour ces recherches est une petite seringue dont le bout est réuni à l'aide d'un petit manchon de caoutchouc, à un tube de verre étroit et mince qui se laisse instantanément chauffer presque jusqu'au rouge en passant par une flamme et se refroidit avec une rapidité correspondante. Ce tube est fléchi à angle droit vers son milieu de sorte que ni la main, ni la seringue ne restent suspendus au-dessus du champ expérimental. D'un autre côté la nature élastique du caoutchouc permet de presser le petit tube de verre sans risque de bris, contre tout objet, par exemple la paroi d'un verre à vin dont on veut enlever des organismes.

d'urine pure prise à l'un des verres préparés le 10 août et dont le contenu avait conservé sa transparence et son bouquet initiaux. Les cellules ainsi introduites entre l'ile et la lamelle couvre-objet avaient toutes le caractère sphérique; j'en dessinai des groupes quelques minutes après le chargement à 7-20 du soir. A 9-50 h., les noyaux étaient devenus plus visibles et changés de place, mais les cellules n'avaient point changé de forme. Le lendemain de bonne heure, je trouvai que toutes les cellules en général bourgeonnaient; mais celles que j'avais dessinées, avaient un peu changé de place, de sorte que je ne pus plus les distinguer dans leur forme altérée de leurs voisines. Je choisis deux groupes pour observation ultérieure et je les dessinai respectivement à 1-30 et 1-35 h. de la nuit. Il est à remarquer qu'au temps où les premiers phénomènes de germination les avaient fait passer de la forme sphérique à la forme ovale, les cellules conservaient toujours leur caractère nucléolé. Cinq heures après, dans les deux groupes, la croissance avait avancé rapidement, les nucléoles avaient presque disparu et les bourgeons s'étaient beaucoup allongés. L'un de ces groupes comprenait d'abord trois cellules : l'une d'elles avait produit maintenant un filament assez court, une autre avait produit deux cellules ovales à vacuoles et la troisième après être devenue ovale procédait au développement d'un filament court.

Après 4 heures encore, j'eus la joie de voir l'expérience couronnée d'un plein succès. Les deux jets dont nous avons parlé, avaient acquis une longueur considérable, tandis que la progéniture de l'autre cellule était représentée par des paires de corpuscules ovales à vacuoles et dépourvus de nucléoles, exactement semblables aux éléments de la pre-

mière écume ou du dépôt granuleux qui accompagnait les touffes fibrillaires du premier verre à urine. Dans ce verre à une période initiale certains éléments affectaient la végétation filamenteuse, et d'autres la forme corpusculaire; il en était exactement de même pour les produits des trois cellules dont nous avons suivi le développement.

Tel fut l'effet de l'urine pure sur cet organisme. Dans la suite, toutefois, à mesure que sous l'influence zymique du champignon le milieu liquide s'altéra, la végétation filamenteuse qui s'était montrée d'abord, fit place à la forme corpusculaire, transformation que le jardin de verre me fournit l'opportunité de suivre avec la plus parfaite précision. A 5-50 du soir, le même jour, l'un des filaments que nous avons suivis et qui s'était considérablement allongé, montrait déjà une tendance à se diviser en segments, et ça et là, sur son trajet, il avait produit des corpuscules ovales. Dix heures plus tard encore, c'est-à-dire le 13 septembre à 3-50 h. du matin, le filament n'avait que peu gagné en longueur, mais son extrémité s'était rompue en segments et s'était disposée en zig-zag, et une foule de corpuscules s'étaient produits le long de son trajet, d'un côté, par bourgeons nés des segments, de l'autre par pullulation des corpuscules eux-mêmes dont beaucoup avaient déjà la forme sphérique. Les cellules sphériques, vues à un fort grossissement étaient nucléées comme celles de la dernière écume. Ça et là, je trouvai encore des plantes, que je suppose avoir été plus vigoureuses, chez lesquelles la végétation fibrillaire avait été poussée plus loin avant le développement des corpuscules, et qui offraient des rameaux cloisonnés exactement semblables à la forme fibrillaire originale de l'organisme. J'en vis entre autres un bel exemple dans une

plante qui présentait d'une part une fibrille cloisonnée excessivement fine, tandis que dans sa portion la plus épaisse, elle fournissait directement des cellules sphériques montées sur de petits pétioles.

Le jour après, je trouvai un spécimen bien fait pour mettre en lumière tout le sujet. Cette plante avait germé d'une spore située près des bords de l'île et avait grandi vers la chambre à air; arrivée là, elle avait continué à se répandre à la face inférieure de la lamelle couvre-objet qui formait le plafond de la chambre à air. La partie de cette plante la plus éloignée de la chambre à air avait pris la forme en zig-zag par suite de sa tendance à se diviser en segments et avait produit un nombre considérable de spores sphériques. Plus près de l'air, la plante conservait sa forme originale et avait peu de conidies, tandis que dans la chambre à air, il n'y avait plus qu'un fungus ramifié, fibrillaire, complètement dépourvu de productions conidiales, et cela dans une partie de cette même plante qui montrait ailleurs des articles presque détachés et des spores sphériques.

Mais comment fallait-il expliquer les différences que montrait la plante dans ses parties constituantes? Pourquoi la portion comprise dans la chambre à air conservait-elle sa forme purement fibrillaire et son caractère compact, tandis que la portion sise sur l'île, comme les autres plantes de la même région, se morcelait en fragments et produisait des conidies? Le développement conidial sur l'île ne pouvait résulter du défaut d'oxygène, car ce mode de végétation se manifestait avec la plus grande profusion dans l'écume du verre à urine librement exposé à un air continuellement renouvelé. Au fait, l'air du « jardin de verre » n'était pas près d'être épuisé à cette période; car, à un