

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 *torulæ* 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 *Torulæ* 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 cerevisiæ* 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 affaiblis 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 ou 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 caléfaction 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 de champignons filamenteux d'une délicatesse exquisite. 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 cerevisiae* ou par d'autres organismes concomitants.

en disant que dix filaments côte à côte ne donnent encore que le diamètre d'un corpuscule rouge de sang humain. Il y avait de beaux exemples de conidies volumineuses ayant tous les caractères des cellules de *Torula ovalis* attachées aux plantes filamenteuses, il y avait d'autres plantes qui en certains endroits affectaient une minceur excessive, et qui ailleurs paraissaient composées de cellules de *Torula* allongées; il y avait enfin de nombreuses formes transitoires entre la torula et le fungus fibrillaire. Si nous comparons les formes de l'organisme observées dans les deux éprouvettes, dans le liquide de Pasteur l'élément cellulaire l'emportait sur l'élément fibrillaire, tandis que l'inverse avait lieu dans l'urine. Rares dans ce dernier liquide, les groupes toruloïdes étaient abondants dans le premier où les éléments filamenteux avaient également un caractère plus grossier et étaient invariablement petits, c'est-à-dire qu'ils n'arrivaient jamais à une aussi grande longueur que dans l'autre milieu. Dans le liquide de Pasteur, les cellules avaient des nucléoles et les fibres des granules plus marquées. Outre ce défaut relatif des éléments fibrillaires, le liquide de Pasteur était exempt encore de formes bactériennes. Il y avait, à la vérité, quelques bourgeons aussi déliés que les bactéries, et parfois ils flottaient par couples, mais ils n'offraient pas de mouvements caractéristiques. J'en fus embarrassé à l'époque de cette observation; mais je trouvai plus tard qu'il n'y avait pas là matière à surprise, et j'aurai dans la suite occasion de mentionner des cas de bactéries à formes et mouvements actifs ordinaires dans l'urine, qui, transplantées dans d'autres milieux, changent complètement d'aspect et deviennent immobiles.

Bien que les preuves déjà citées de l'identité de la torula

ovalis avec le champignon filamenteux puissent sembler suffisantes, j'ai été heureux, vu l'intérêt considérable qui s'attache à cet objet, de trouver une confirmation du fait pendant que je préparais cette communication pour la presse. Le 9 novembre 1873 je retirai de nouveau l'éprouvette à solution de Pasteur de son enveloppe d'ouate, afin de m'assurer des changements survenus. Je trouvai que la moitié environ du contenu original n'avait pas subi l'évaporation. Le liquide était toujours transparent mais avait pris une couleur jaune brun pâle, et le sédiment était coloré de même. Une incrustation fine tapissait l'intérieur de l'éprouvette, sans toutefois remonter jusqu'à la surface du liquide, et les globules gélatineux avaient disparu du champ desséché immédiatement au-dessus. Je soulevai le tube-couvercle avec bonnes précautions antiseptiques et, à l'aide d'une pipette « chauffée » je détachai un peu du revêtement qui encroûtait le verre et j'enlevai quelques gouttes du liquide; je m'en servis en partie pour inoculer un verre de solution de Pasteur, et j'examinai le reste au microscope. La partie solide était composée en majeure quantité de masses granuleuses qui paraissaient être des amas confus d'organismes dégénérés; mais le long des bords de ces masses partaient des filaments et des corpuscules dont l'apparence fraîche et translucide me firent espérer qu'ils étaient vivants encore. Les filaments ressemblaient étroitement à ceux que j'avais vus dans le même verre quinze mois auparavant, seulement ils étaient tous très-courts, et les corpuscules réunis parfois en groupes plus ou moins semblables à ceux de la torula originale, avaient souvent une forme plus allongée et étaient pourvus de nucléoles très-marqués. Pendant les cinq premiers jours