

après l'inoculation, il n'y eût point dans le nouveau verre à liquide de Pasteur, de signes de végétation perceptibles à l'œil nu. Mais à la fin du cinquième jour, il me sembla qu'un petit flocon d'écume fine qui y avait toujours été, avait légèrement grandi; j'en mis une partie au microscope et la trouvai composée de cellules qui paraissaient être de formation récente et dont quelques-unes présentaient des formes de transition entre les corps allongés si communs dans l'éprouvette et les éléments de la *Torula ovalis*. La végétation se poursuivit dans la suite à la fois sous forme d'écume fine et de dépôt blanc délicat, mais en affectant toujours une marche lente; les produits en étaient généralement plus petits que la *Torula ovalis* originale, et ressemblaient plutôt aux éléments de l'éprouvette.

Tout autre fut l'évolution de l'organisme dans l'urine inaltérée. Deux jours après l'inoculation de la solution de Pasteur, j'introduisis une demi goutte du contenu de l'éprouvette dans un verre « chauffé », muni d'un couvercle et renfermant de l'urine non bouillie. Cette urine provenait d'une bouteille qui avait été remplie au commencement de mars, mais qui retenait ses caractères originaux inaltérés quoiqu'elle eût déjà fourni la matière première pour plusieurs expériences (1). Durant deux jours, nulle apparence de végétation; mais au troisième jour, un petit placard d'écume qui était résulté de l'inoculation avait considérablement grandi et avait pris un aspect plus grossier, et différents petits flocons détachés de même aspect flottaient à la surface. Les parois du verre étaient

(1) La manière dont cette bouteille avait été préparée et le mode de décantation employé pour charger les verres à expérience seront décrits plus loin.

tapissées aussi de particules semblables à des grains de sable blanc, disposées souvent en stries verticales, et des granules semblables étaient déposés au fond du vase; le liquide retenait sa transparence parfaite. Bref, les phénomènes visibles à l'œil nu étaient la reproduction exacte de ceux qui, deux ans auparavant, avaient suivi l'introduction des gouttes de pluie dans la première urine; je mis au microscope un peu d'écume recueillie à l'aide d'une pipette « chauffée » et je fus heureux de la trouver composée exclusivement de *Torula ovalis* dans toute sa beauté originale. Les cellules pullulaient réunies en groupes nombreux, semblables aux groupes cellulaires de la levure en pleine activité. Dans quelques cas je trouvai des cellules d'une grandeur spéciale, et parfois aussi une cellule était plus allongée que les autres, précisément ce que l'on voit dans *Torula cerevisiæ* mais il n'y avait pas d'apparence de végétation fibrillaire. C'était une *Torula* pure et sans mélange; de plus son identité avec la *Torula ovalis* en même temps que sa différenciation d'avec le champignon de la levûre, étaient établies non-seulement par la forme et l'aspect des cellules, mais plus encore par ce fait que, exactement comme le spécimen original, elle grandissait librement, dans une urine non sucrée, milieu dans lequel la *Torula cerevisiæ* ne se développe qu'avec une difficulté extrême.

Cet organisme qui, après plusieurs mois de végétation lente sous forme fibrillaire dans la solution de Pasteur altérée, avait recouvré son aspect purement toruloïde et luxuriant dans le milieu où tout d'abord il avait présenté ces caractères, conserva ces qualités quand je le transplantai dans la solution de Pasteur pure. En effet, je pris un peu de cette écume qui grandissait rapidement sur l'urine, à

l'aide d'une pipette « chauffée, » et je l'introduisis dans un second verre à solution de Pasteur que j'avais rempli en même temps que le premier, six jours auparavant, mais qui était resté depuis inaltéré; je trouvai qu'après 14 heures ce flocon d'écume avait atteint quatre fois son diamètre original, et le jour suivant il recouvrait presque complètement la surface du liquide, tandis que la paroi du verre était parsemée de petites taches granuleuses blanches qui, après un jour encore étaient disposées en stries verticales; c'était là précisément ce qui était arrivé dans un verre de liquide de Pasteur, inoculé deux ans auparavant à l'aide de l'urine originale. Au microscope je trouvai aussi que cette écume se composait de la *Torula ovalis* sans mélange d'aucun élément fibrillaire.

Ceux qui ont la patience de me suivre dans ces menus détails inséparables d'un si menu sujet, reconnaîtront l'importance d'une démonstration claire de ce fait : qu'un organisme qui, durant des semaines et dans des milieux différents s'était montré *Torula* sans mélange, n'était en réalité que la production conidiale d'un champignon filamenteux. Un seul exemple de cette espèce, rigoureusement démontré, nous induit à soupçonner que la même chose a lieu probablement pour tout le groupe des *Torules*; et quoique *Berkeley* paraisse s'être trompé lorsqu'il a voulu tracer une liaison directe entre *Torula cerevisia* et *Penicillium glaucum* (1), du moins son opinion que la cellule de levure dérive d'un champignon filamenteux, sera trouvée exacte lorsqu'à ce cas particulier on aura appliqué la méthode d'investigation que je viens de décrire. Sans cette méthode qui nous a permis d'étudier un organisme, sans

(1) V. DE BARY. *Morph. u. Physiol. der Pilze*, 1866, p. 184.

mélange d'êtres étrangers, durant un espace de temps prolongé, dans des milieux différents ou dans un même milieu altéré par l'influence zymique de cet organisme, les vraies affinités de la *Torula ovalis* seraient demeurées aussi obscures que celles de la *Torula cerevisia* le sont encore aujourd'hui. — En outre sans examiner ici toute la portée de cette observation, nous pouvons faire remarquer que le fait d'un organisme placé si bas qu'une *torula*, qui conserve pendant deux années, malgré l'influence de conditions modificatrices variées, ses caractères spécifiques tant morphologiques que physiologiques, est certes profondément instructif.

Je déballai ensuite et examinai l'éprouvette à urine. Tout le liquide s'était évaporé, sauf deux gouttes environ qui flottaient encore au-dessus d'une masse cristalline considérable. La section du tube, haute d'un pouce environ, que l'évaporation avait ainsi mise à découvert, était garnie comme autrefois de globules gélatineux dont ceux de la moitié supérieure, les plus volumineux, avaient un diamètre de $\frac{1}{50}$ de pouce environ. Je rompis le tube avec des précautions antiseptiques, et j'examinai au microscope un de ces petits corpuscules transparents. Il se composait presque exclusivement de champignon fibrillaire; l'élément conidiale était comme auparavant, beaucoup moins marqué dans ce tube que dans l'éprouvette à solution de Pasteur. La proportion de conidies était un peu plus forte dans le résidu liquide, quoique celui-ci fût épaissi par l'abondance des fibrilles; mais il n'y avait plus la moindre apparence de bactéries. J'introduisis une portion de corpuscule gélatineux dans un verre d'urine pure (que j'avais chargé neuf jours auparavant avec celui qui avait été inoculé de l'éprouvette à

liquide de Pasteur); mais comme onze jours après cette inoculation aucune végétation ne s'était produite encore, j'en conclus que l'organisme avait fini par mourir dans l'urine altérée et fortement concentrée. Néanmoins l'examen de l'éprouvette à urine ne fut pas sans offrir de l'intérêt. Quoique les bactéries que nous y avions observées lors de l'avant dernier examen eussent bien la forme ordinaire de batonnets, et ne différassent point de celles que l'on remarque communément dans l'urine en putréfaction, le liquide de notre éprouvette n'offrait point d'odeur ammoniacale, mais un bouquet particulier plus semblable à l'odeur du fromage moisi qu'à celle de l'urine, et il se montra fortement acide au papier réactif, même après addition de plusieurs fois son volume d'eau. Nous avons donc ici un exemple d'une vérité que nous verrons amplement démontrée dans la suite, savoir : que des bactéries à caractères morphologiques semblables peuvent se différencier complètement par les changements zymiques qu'elles occasionnent, et sont, comme les torules, aussi spécifiquement distinctes que les fungi dont quelques-unes d'entre elles au moins, à ce qu'il paraît, tirent leur origine.

Les observations sur lesquelles je désire maintenant attirer l'attention du lecteur, eurent pour objet un champignon fibrillaire que je me laissai entraîner à étudier, dans l'espoir d'y trouver le père de la *Torula cerevisiae*, vu qu'il s'était montré à moi dans des circonstances analogues à celles dans lesquelles j'avais rencontré la forme filamenteuse de la *Torula ovalis*. J'avais mis dans un verre « chauffé » et couvert qui renfermait de la solution de Pasteur, un fragment de levure allemande, ce qui provoqua le dégagement gazeux habituel qui accompagne la fermentation

alcoolique, suivi de l'établissement graduel de la couleur noire dont nous avons parlé. Quelques petits champignons fibrillaires qui s'étaient montrés pendant les premiers jours semblaient avoir cessé de grandir, et il ne se montra ni penicillium ni aucun autre champignon commun; mais deux mois après, je remarquai à la surface du liquide et sur la zone de verre mise à nu par l'évaporation, une moisissure courte et blanche qui, au microscope, se montra composée de fils ramifiés et cloisonnés et de filaments fructifères, ces derniers affectant parfois une forme irrégulière mais constituant le plus souvent des chaînes terminales et moniliformes de spores; le champignon, bien qu'il parût trop insignifiant pour avoir attiré l'attention des mycologistes, pouvait se rattacher au genre *oidium*. Les spores les plus grandes ressemblaient assez à celles de la levure; de plus, je vis d'autres spores semblables disposées en groupes toruloïdes dans l'écume qui occupait la surface du liquide. J'eus l'espoir d'avoir trouvé la forme fibrillaire de la *Torula cerevisiae*, et j'étais désireux d'examiner plus complètement cette moisissure; mais j'avais épuisé toute la petite végétation pour l'examen et je mis le verre de côté pour en permettre la reproduction et diverses circonstances m'empêchèrent de l'examiner de nouveau avant quatre mois écoulés. Je trouvai alors le liquide acide plus noir que jamais et diminué encore par évaporation; le seul autre changement perceptible à l'œil nu c'était la reproduction de la même moisissure blanche et courte qui avait grandi en petite quantité au bord du verre. Lui trouvant toujours les mêmes caractères microscopiques, j'espérais qu'en la transportant dans une solution sucrée, je pourrais lui faire reproduire la *Torula cerevisiae* précisément comme j'avais

obtenu la *Torula ovalis* en plaçant sa forme filamenteuse dans l'urine fraîche. Je pris donc un peu de la moisissure à l'aide d'un scalpel « chauffé » et j'en introduisis une partie dans un verre « chauffé » et recouvert qui renfermait du liquide de Pasteur fraîchement préparé, et je mis le reste avec une goutte d'eau entre des lamelles de verre pour un nouvel examen microscopique. Il y avait des filaments en fructification; l'un d'eux, que je prends pour type, comprenait des articles qui, ici, formaient une chaîne moniliforme de spores, et qui, ailleurs, montraient des lignes transversales, indices de division tompare : un des éléments avait produit un bourgeon conidiale, chose relativement rare au début de l'examen. Mais quinze heures après, en examinant le même spécimen que j'avais conservé dans une chambre humide pour empêcher l'évaporation, je trouvai des spores libres en quantité considérable autour du filament en question, et ce filament lui-même était garni de bourgeons conidiaux nouveaux et nombreux; le premier bourgeon était détaché. Le développement de conidies se faisait très-rapidement sous l'influence de l'eau, car deux heures après tous les bourgeons étaient ou grandis ou détachés, et plusieurs nouveaux s'étaient montrés.

Cette formation abondante de conidies dans un milieu nouveau augmenta encore mon espoir de retrouver la *Torula cerevisiae* dans un liquide sucré. Cet espoir fut toutefois déçu. Loin d'affecter dans la solution de Pasteur un développement toruloïde, l'organisme y prit au contraire une forme de végétation fibrillaire où toute formation conidiale était un événement rare. La séparation de ce champignon d'avec la levure reçut ensuite une démonstration physiologique complète par ce fait qu'il grandit avec une lenteur extrême dans un liquide sucré et n'y produisit

point de dégagement gazeux, quoique soumis à une observation de deux mois. Je fus conduit ainsi à conclure que cet oïdium n'avait été que le compagnon accidentel de la levure, issu peut-être d'une des plantes fibrillaires qui s'étaient montrées dans le verre durant les premiers jours et qui avait survécu aux changements chimiques du liquide auxquels la *Torula cerevisiae* avait elle-même succombé.

Bien que désappointé quant aux résultats que j'avais espéré obtenir de l'étude de cet oïdium, je fis sur lui quelques observations intéressantes. Le développement conidique remarquable qu'il avait fourni dans l'eau, me parut être un cas si frappant de changement d'habitus amené chez une plante par un milieu nouveau, que je me donnai la peine d'essayer aussi sur lui l'effet de divers autres liquides, entre autres de l'urine non bouillie et pure. Le 21 août 1872, j'introduisis dans une série de verres « chauffés », couverts et chargés d'urine que je m'étais préparés le 10 du même mois et qui ne montraient point d'altération, une petite portion de l'organisme de la solution fraîche de Pasteur où, comme nous l'avons dit, cet organisme végétait lentement sous forme fibrillaire. Les fils délicats se rompirent pendant l'opération et se diffusèrent sous forme invisible dans l'urine. En même temps, pour comparer, j'inoculai de la même source un nouveau verre à solution de Pasteur et d'autres liquides dont il est inutile de parler ici. Dans le nouveau verre à liquide de Pasteur, la végétation se continua comme dans le précédent, sous forme de filaments ramifiés et cloisonnés; après deux jours, l'œil nu pouvait découvrir des taches blanches sur la paroi du verre, taches qui, à la loupe, étaient semblables à de petites touffes de laine. Sur ces entrefaites, le verre d'urine s'était égale-

ment tapissé de taches blanches, mais à la loupe quelques unes seulement paraissaient filamenteuses comme dans la solution de Pasteur ; les autres avaient un aspect granuleux.

Pour examiner ces végétations au microscope ; je me servis d'un petit appareil que j'ai souvent trouvé avantageux. Au moment de l'inoculation, j'avais introduit dans l'urine une petite lamelle de verre aux extrémités de laquelle s'attachaient de minces fils d'argent recourbés en crochets qui, fixés au bord du verre, tenaient la lamelle suspendue horizontalement dans le liquide ; celle-ci pouvait donc arrêter dans leur chute quelques organismes qui y seraient disséminés. Naturellement, le petit appareil avait été au préalable purifié par la chaleur. Si l'on enlève à l'aide d'une pince « chauffée » et avec précaution un petit appareil de cette sorte, lorsque les végétations sont arrivées au point désiré et si on la recouvre alors d'une lamelle mince, on peut examiner tous les végétaux qui s'y sont produits, dans un état relativement peu bouleversé. Ainsi, dans le cas qui nous occupe, j'ai pu voir *in situ* au microscope, les plantes que la loupe avait découvertes. A un faible grossissement c'étaient ou des végétations fibrillaires ou des amas granuleux ou un mélange des deux. A un fort grossissement les amas granuleux étaient composés, soit de groupes de cellules ovales, pullulentes, libres et généralement disposées par paires, soit de plantes imparfaites formées de cellules semblables aux précédentes libres, ou un peu plus allongées, mais réunies bout à bout et donnant fréquemment naissance à des bourgeons conidiaux.

Le lendemain, la différence entre les deux verres était plus marquée encore. Les plantes fibrillaires avaient beaucoup grandi dans la solution de Pasteur, mais celles de

l'urine étaient presque toutes tombées au fond du vase et leur place était prise par d'abondantes taches ou trainées d'aspect granuleux, et le peu de plantes qui restaient encore adhérentes au bord, avaient perdu leur apparence purement fibrillaire et avaient pris un aspect granuleux. Il y avait aussi quelques flocons d'écume à la surface de l'urine tandis que la surface du liquide de Pasteur ne présentait que quelques végétaux filamenteux flottants. Je pris un peu d'écume à l'aide d'une pipette « chauffée » et je la mis au microscope. Elle consistait uniquement en cellules ovales libres semblables à celles que nous avons vues le jour précédent dans les taches granuleuses. Pendant les 24 heures qui suivirent, toute apparence de végétation fibrillaire disparut, mais tandis que l'urine, dont je constatai alors, pour la première fois l'odeur légèrement fétide, était devenue impropre à ce mode de développement de l'organisme elle avait imprimé à la forme corpusculaire une stimulation remarquable, car l'écume avait augmenté en quantité d'une manière surprenante. Ainsi, depuis le 24 août à 8 heures du soir, jusqu'au 25 août à 5-30 heures du matin, l'écume passa d'une tache d'un demi pouce de diamètre, à une couche dense recouvrant presque toute la surface du liquide, et huit heures plus tard, le développement de cellules avait été si actif que l'écume remontait le long des parois du verre à une hauteur de 1/4 pouce, tandis que l'urine était devenue nébuleuse par dépôt de cellules détachées. Dans le cours de l'après-midi, tout le liquide était devenu complètement trouble, et tout l'air compris sous le globe de protection plus franchement fétide ; au microscope néanmoins le seul organisme visible c'étaient les cellules disposées par couples que nous avons décrites, de

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.