

pérature doit être supérieure à celle de l'air, pour assurer l'absence d'air dissous dont le dégagement pourrait donner des bulles. Supposons maintenant que voici (W) le liquide que nous désirons introduire dans la bouteille (X). Nous plaçons dans le liquide une branche du syphon, nous ouvrons ensuite le robinet et nous laissons couler assez longtemps pour être assurés de la sortie de toute l'eau du syphon; nous refermons alors le robinet et nous procédons de la manière qui a été décrite pour l'entonnoir. Après avoir lavé la branche (T) à l'eau phéniquée forte, on enroule un linge phéniqué autour de son extrémité inférieure, et l'on applique celle-ci à la grande bouche de la bouteille au moment où cette dernière est dégarnie de sa pelotte d'ouate; on pousse alors régulièrement le tube (T) jusqu'au fond de la bouteille, à travers le linge phéniqué (Y), on rouvre le robinet et le liquide d'expérience arrive dans la bouteille sans être accompagné de la moindre bulle d'air. Quand il y a assez de liquide introduit, on ferme encore le robinet, on retire le syphon à travers le linge antiseptique, et l'on noue sur la bouche de la bouteille une nouvelle pelotte d'ouate phéniquée, au moment où l'on enlève le linge antiseptique.

J'ai dit déjà qu'avant de m'être aperçu de la faute que je commettais par l'usage de l'entonnoir, je n'avais jamais pu faire avec le lait une expérience réussie. Depuis que j'emploie le syphon, j'ai chargé de lait plusieurs bouteilles et je n'ai jamais échoué. Voici une bouteille de lait bouilli (ou plutôt de lait exposé à une température de 210° F.), préparée le 7 août, qui reste, nous pouvons l'affirmer sans crainte, aussi pure qu'elle l'était alors. Vous remarquez que son contenu est toujours parfaitement liquide et d'aspect inaltéré. Maintenant je me permets de faire remarquer que

mes premiers échecs et leur correction sont instructifs en ce qu'ils nous montrent comment le développement d'organismes, en des circonstances où tout d'abord nous ne pouvons pas nous expliquer leur présence, peut être réellement dû à une faute de notre part, à un défaut de nos manipulations.

Voilà ce que j'avais à dire de la méthode; j'aborde maintenant le sujet général de cette communication. J'ai choisi la fermentation lactique comme particulièrement favorable aux recherches : premièrement, parce que les effets qu'elle produit sur le lait sont extrêmement frappants et faciles à reconnaître — la solidification qui s'y produit saute aux yeux, et l'acidification, dévoilée par le papier réactif, est aussi un changement très visible; en second lieu, parce que le ferment qui détermine ces altérations est un ferment très rare dans la généralité des endroits; et s'il est rare, il n'est pas probable que nos fautes de manipulation provoquent son introduction accidentelle.

Il peut sembler étrange que le ferment qui mène à l'acidification du lait soit rare, mais tel est le fait; dans les laiteries sa diffusion paraît être générale, mais au dehors, dans le monde, il est peu répandu. Si vous chargez de lait bouilli une série de verres à liqueur purifiés, et si vous soulevez leurs capsules protectrices de manière à exposer chacun d'eux à l'air pendant une demi-heure, à différentes heures de la journée ou à des places différentes pour chaque verre, vous verrez sûrement, dans tous les verres, du développement d'organismes du genre des fungi filamenteux ou des bactéries; vous verrez aussi des changements fermenticieux suivre ce développement; mais, pour aussi loin que s'étend mon expérience, vous ne verrez pas la coagu-

lation et l'acidification de la fermentation lactique, et vous ne trouverez pas au microscope l'organisme spécial auquel j'ai donné le nom de *Bacterium lactis*, celui qui est représenté ici (pl. XX, fig. 9), tel qu'il se montre dans le lait caillé ordinaire, et que vous pouvez voir sous l'un de ces microscopes, dans du lait traité d'hier.

Cet organisme est une bactérie immobile, c'est-à-dire, n'offrant d'autre mouvement qu'une légère oscillation, se montrant le plus souvent en couples, mais fréquemment aussi en chaînes de trois, quatre individus ou plus; chaque segment est quelque peu arrondi et plus ou moins ovale, le grand diamètre étant dirigé dans le sens de la longueur de la chaîne, et lorsqu'elles sont soigneusement amenées au foyer microscopique, elles se montrent souvent croisées en leur milieu par une ligne, indice de segmentation transversale. Les éléments ont un diamètre variable, comme j'aurai occasion de le répéter, et les individus pleinement développés mesurent environ  $\frac{1}{20000}$  de pouce (1). Vous les trouverez toujours, que je sache, dans le lait aigri provenant d'une laiterie, et la pointe d'une aiguille trempée dans ce lait aigri, provoquera par son contact, dans un verre de lait bouilli, le développement très rapide de ces mêmes organismes accompagné de la coagulation et de l'acidification caractéristiques, preuve que le lait bouilli est tout disposé à subir la fermentation lactique dès qu'il a reçu le ferment approprié, tandis que ce ferment, comme nous l'avons établi déjà, ne se montrera pas par la simple exposition du lait à l'air d'un cabinet d'étude ou de tout autre lieu en général.

(1) En citant ces particularités comme les caractères de *Bacterium lactis*, je ne désire pas faire entendre qu'il soit toujours possible de reconnaître cet organisme par les seuls caractères morphologiques.

Les tubes que voici (représentés en miniature fig. 7), démontrent le même fait pour le lait non bouilli. Ces

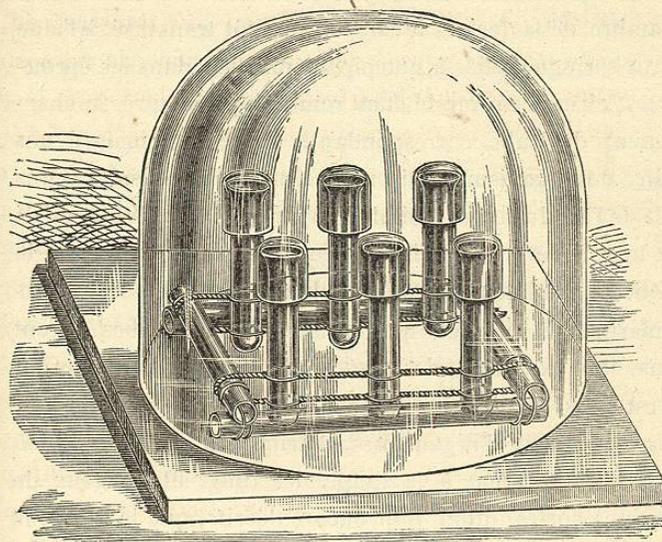


FIG. 7.

tubes ne sont autres que de petites éprouvettes, munies chacune d'un couvercle formé du fond d'une autre éprouvette plus grande, fixées, au nombre de six, dans un support composé de tubes de verre et de fort fil d'argent, et placées sur une plaque de verre, sous une cloche commune. Quatre telles séries de tubes, en tout vingt-quatre éprouvettes, furent purifiées par la chaleur dans la boîte métallique, avec les plaques et cloches correspondantes. Un autre verre, pourvu d'une capsule-couvercle en verre et purifié également par la chaleur, reçut directement le lait d'une vache traitée dans un petit verger appartenant à une ferme et à moins de deux mètres de la laiterie elle-même; le

couvercle soulevé immédiatement avant qu'on commençât à traire, fut remis aussitôt que le verre eut reçu une quantité de lait équivalente à deux onces environ. Alors, dans une chambre de la ferme, le lait fut aussitôt transvasé, à l'aide d'une seringue reliée à une pipette purifiée, dans les éprouvettes, chaque couvercle étant remis en place après le chargement du tube correspondant. Toutefois, malgré nos soins, des organismes doivent être entrés, organismes venus soit de l'air du verger, soit de l'appartement, peut-être aussi du trayon de la vache (bien qu'on l'eût lavé en trayant la vache immédiatement avant le chargement du verre); vous remarquerez, en effet, que ces vingt-quatre tubes offrent tous, sans exception, des signes manifestes d'altération, et il est hors de doute que ces changements sont dus au développement d'organismes. Parmi eux, il en est bien sept qui montrent à la loupe des fungi filamenteux de diverses sortes, fungi non encore décrits, que je sache, et dont aucun, assurément, n'est de ceux que l'on rencontre communément dans le lait (1).

Deux des verres renfermant des champignons filamenteux, sont représentés en grandeur naturelle dans les esquisses reproduites par les figures 1 et 2, pl. XX. Les autres verres offrent des aspects que les membres de la Société trouveront très extraordinaires, s'ils veulent bien les examiner. Il n'en est point deux semblables : les uns ont une apparence jaune d'or (fig. 8), d'autres une teinte verte (fig. 7), plusieurs sont marqués de points rouges bril-

(1) Les fungi filamenteux que l'on rencontre le plus ordinairement dans le lait conservé pendant un temps considérable, sont l'*Oidium lactis*, la moisissure bleue commune, *Penicillium glaucum*, la moisissure verte commune du fromage, *Aspergillus glaucus*, et deux formes de *Mucor*, *M. mucedo* et *M. racemosus*.

lants (fig. 3, 4, 5, 6), seuls ou associés à d'autres couleurs, et les contenus des différents verres présentent à leur partie inférieure des nuances variées de transparence ou d'ombre qui impliquent des altérations zymiques différentes. Mais il n'est point de raison pour supposer chez aucun d'entre eux la présence de *Bacterium lactis* ou la fermentation lactique. Je n'ai pas eu le temps d'examiner les contenus de ces verres au microscope, mais dans une autre expérience faite quelques jours avant celle-ci avec douze verres semblables, j'en trouvai quelques-uns, comme ici, envahis par des fungi fibrillaires, tandis que la majorité présentait diverses altérations de couleur, entre autres des points limités de teinte orangée, plus ou moins foncée, qui grandirent de manière à former des taches de plus en plus grandes, comme font les points rouges de la série présente. J'examinai au microscope les contenus de chacun de ces douze verres, et je vis que les taches orangées étaient composées de petits organismes sphériques, groupés d'une façon spéciale et que j'ai décrits ailleurs sous le nom de *Granuligera* (1); d'autres verres, porteurs de taches moins nettes et moins éclatantes offraient des bactéries d'aspect variable, mais dans aucun d'eux je ne trouvai *Bacterium lactis*.

Je fis aussi d'autres expériences d'un caractère très simple qui démontrent également bien la rareté du ferment lactique dans l'air, fût-ce même l'air d'une ferme. Le trayon de la vache ainsi que les mains de la laitière ayant été purifiés par un lavage à l'eau phéniquée forte, le lait fut reçu directement dans une bouteille purifiée (dont la forme a été décrite page 498) et douze verres à liqueur également purifiés en furent chargés dans mon cabinet

(1) Voir page 317.

d'étude; la durée de toute l'opération fut d'une demi-heure environ. Eh bien, tous ces verres subirent des fermentations et me firent voir des organismes au microscope, mais aucun d'eux ne montra la fermentation lactique ou le *Bacterium lactis*.

Quelle est la cause des aspects étranges et peut-être sans précédent qu'offre le lait des éprouvettes soumises à la Société? Sans aucun doute, l'explication n'en doit pas être cherchée dans la présence d'organismes extraordinairement rares, mais dans l'occasion exceptionnelle que des organismes, très communs peut-être dans d'autres milieux, eurent de se développer dans le lait, grâce à l'exclusion des ferments lactique, butyrique, etc., lesquels, lorsqu'ils existent dans le lait, comme c'est l'ordinaire, l'emportent sur les autres organismes et altèrent le liquide au point d'en faire un pabulum défavorable pour la multitude des autres espèces.

Voici une nouvelle série de douze éprouvettes, avec lesquelles, deux jours plus tard, je fis une expérience identique, sauf que je pris des précautions encore plus soigneuses contre l'entrée des organismes de l'air et du trayon. Ici encore, bien que les phénomènes soient moins apparents que dans la série de 24, un examen attentif démontre que, dans dix éprouvettes sur douze, des organismes d'une ou d'autre sorte ont pénétré; mais les deux autres sont restées inaltérées pendant les six semaines écoulées depuis l'expérience. J'ai examiné le contenu de l'une de ces dernières et j'ai trouvé ce contenu fluide, naturel de goût et de réaction et exempt de tout organisme visible au microscope. C'est ainsi que j'atteignis enfin l'objet de ces expériences faites au moyen des éprouvettes,

savoir, la preuve que le lait non bouilli, tel qu'il provient d'une vache saine, tout comme l'urine d'une vessie saine ne renferme, en réalité, aucune matière capable de donner naissance à un changement fermenticel ou à une espèce organisée que nous puissions découvrir.

Le ferment lactique est aussi rare dans l'eau ordinaire que dans l'air. Si je prépare à la façon déjà décrite une série de verres chargés de lait bouilli, et si j'ajoute à chacun d'eux une goutte d'eau de pompe, je trouve que tous me présentent des transformations zymotiques telles que les altérations putride ou butyrique, mais qu'aucun ne me donne l'acidification et la coagulation du lait des laiteries. Une expérience extrêmement instructive consiste à inoculer toute une série de verres, dix par exemple, à l'aide d'une fraction de goutte très petite et égale pour chaque verre. Ce partage se fait aisément à l'aide de la seringue que voici (fig. 8), dont le piston (*b*) est parcouru par un pas-de-vis fin, le long duquel se meut un écrou gradué (*a*). Chaque degré de l'écrou correspond à 1/100 de goutte, de sorte que l'on

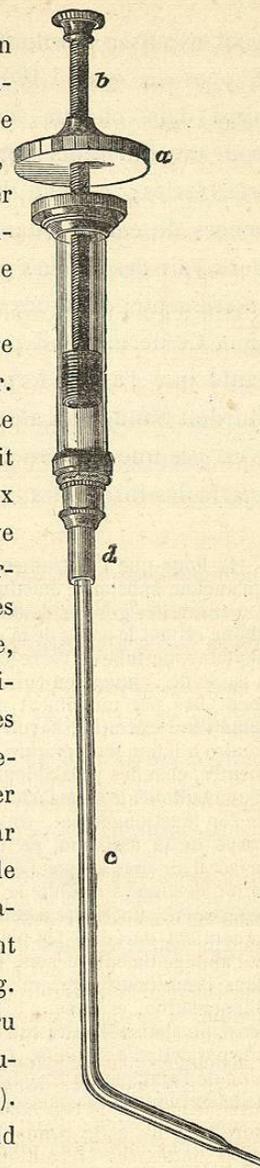


FIG. 8.

peut expulser à volonté 1/100, 1/50, 1/200 de goutte (1). Supposons que 1/100 de goutte d'eau soit introduit ainsi dans chaque verre, il en résultera probablement pour les différents verres des changements fermenticiels très variés, comme le montreront de frappantes différences de couleur dans le lait et des différences d'odeur dans l'air des cloches protectrices; et, chose extrêmement intéressante, quelques verres échapperont à toute altération. Ce dernier fait prouve du coup cette vérité importante que l'agent fermenticiel de l'eau, dont le docteur Burdon Sanderson a depuis longtemps signalé l'existence, n'est pas une matière dissoute dans l'eau, mais consiste en particules insolubles d'une ou d'autre sorte qui y demeurent

(1) Pour que l'instrument fonctionne avec précision, il est essentiel qu'aucune substance élastique n'entre dans sa composition, sinon il fournirait des gouttes de dimension variable. Une jointure de caoutchouc reliant le corps de la seringue au tube terminal serait donc inacceptable. Le tube de verre (c) peut se visser sur le corps de la seringue à l'aide de l'ajutage en cuivre (d) auquel ce tube lui-même est sûrement fixé par un ciment que sa résistance à l'action de l'eau bouillante rend très utile, savoir : du copal en poudre fine que l'on fait fondre à haute température et que l'on applique alors aux objets à cimenter, chauffés préalablement à une température égale. La présence d'une bulle d'air dans l'eau de la seringue altérerait aussi la précision de son fonctionnement. On s'en débarrasse, pour ce qui concerne le corps de la seringue, en le remplissant d'abord exactement d'eau privée d'air dissous par l'ébullition. On élève également l'eau d'inoculation destinée à remplir le mince tube de verre à une température légèrement supérieure à celle de l'appartement, en plaçant le vase qui la contient devant le feu pendant quelques minutes. Le tube de verre et l'ajutage de cuivre sont purifiés par un séjour d'une demi-heure dans l'eau bouillante, puis on plonge l'extrémité effilée dans l'eau d'inoculation, et lorsque le tube est rempli jusqu'au delà de sa courbure, on abaisse l'autre extrémité pour que le conduit achève de s'emplier par action de siphon. Quand une goutte d'eau fait saillie à l'extrémité de l'ajutage, on l'applique contre la goutte qui fait saillie au bout de la seringue et la coalescence des deux gouttes empêche l'entrée de la moindre parcelle d'air pendant que l'on visse l'ajutage à la seringue. Par toutes ces précautions réunies, l'on est sûr d'obtenir des gouttelettes équivalentes.

rent suspendues. Car si le ferment était dissous dans l'eau, chaque goutte de grandeur constante donnerait un effet égal. Mais le fait est, comme nous l'avons déjà dit, que lorsqu'on emploie des gouttes d'une telle ténuité, quelques-uns des verres inoculés échappent à toute altération, et que ceux qui s'altèrent montrent des genres différents de fermentation, et nous apprenons ainsi, par cette simple expérience, non-seulement que la matière fermenticielle est formée de particules insolubles, mais encore que chaque goutte d'eau ordinaire renferme plusieurs espèces de ferments, lesquelles, bien que généralement confondues par leur mélange intime, développent leurs propriétés individuelles lorsqu'elles sont isolées par notre méthode de séparation.

J'ai trouvé que ces changements zymotiques divers étaient invariablement liés à la présence de bactéries; les organismes des différents verres se différenciaient parfois d'une manière évidente au microscope, quoique souvent on ne put les distinguer que par leurs effets. Ainsi, une fois, dans un verre muni d'une couche de crème particulièrement épaisse, un point vermillon brillant se montra après quelques jours au lieu d'inoculation et se répandit graduellement à la surface du lait; examinant au microscope une portion de cette tache rouge vif prise à l'aide d'une aiguille purifiée, je vis qu'elle fourmillait de bactéries, tandis qu'une portion de la crème incolore voisine ne montrait que les globules de lait ordinaires. Ici donc un changement remarquable allait *pari passu* avec le développement des bactéries, changement causé par elles sans doute, et cependant les bactéries avaient la forme ordinaire de dou-

bles batonnets et une grandeur moyenne (1). Mais quelque divers que fussent les changements déterminés par l'inoculation d'eau, il n'en résulta pas, dans le cours de plusieurs expériences semblables, un seul exemple de fermentation lactique.

Nous voyons donc, par les faits que j'ai produits, que l'acidification du lait, au lieu d'être une propriété inhérente au liquide — comme on pourrait le supposer tout naturellement *a priori* en la voyant se produire constamment en tout lait venu d'une laiterie — est un changement qui, pour le lait bouilli ou non bouilli, réclame l'introduction de quelque chose du dehors, et que ce quelque chose est un article rare, dans l'air comme dans l'eau, sauf dans les laiteries. Au fait, même dans une laiterie, bien que cet article soit présent dans le lait de toutes les terrines, il n'en résulte pas nécessairement qu'il soit le ferment le plus abondant de l'air. Je portai un jour dans une laiterie un verre chargé de lait bouilli pur et, l'ayant posé près d'une terrine, je soulevai sa cloche et sa capsule de verre et je le laissai découvert durant un quart d'heure, croyant qu'il en résulterait probablement de la fermentation lactique. Mais il n'en fut pas ainsi. Par suite de cette exposition, un fungus fibrillaire fit son apparition, ainsi qu'une bactérie, mais une bactérie associée à une altération très extraordinaire, savoir un degré de viscosité extrême qui me rappela celle du liquide glutineux dont l'araignée perle sa toile. En introduisant la pointe d'une aiguille dans le liquide et en l'élevant ensuite dans l'air, j'en tirai un fil à peine visible qui ne se rompit qu'après avoir atteint un

(1) Ces expériences furent faites au commencement de 1875 et il en fut parlé brièvement dans le *Lancet* de cette année. (Voir p. 596).

mètre de longueur. Telle fut la fermentation spéciale qui résulta cette fois de l'exposition de lait à l'air d'une laiterie même; il arriva que, s'il y avait bien réellement des particules de ferment lactique flottantes dans l'air, du moins aucune d'elles ne tomba dans le verre.

C'est pourquoi la fermentation lactique, par l'évidence de ses effets et la rareté du ferment dans les circonstances ordinaires, me parut être particulièrement favorable aux investigations.

Maintenant, avant d'aller plus loin, je désire rectifier une erreur dans laquelle je tombai, il y a quelques années, en étudiant cette même fermentation; car ce que l'homme peut faire de mieux, à mon avis, après la divulgation d'une vérité nouvelle, c'est la rétractation d'une erreur publiée. En 1873, je publiai dans le *Microscopical Journal* un rapport sur la manière dont se comportait, à ce que je croyais, le *Bacterium lactis* en présence de différents liquides (1). J'y disais qu'ayant pris du lait aigri venu d'une laiterie, j'avais inoculé avec une petite goutte de ce lait un verre d'urine pure et non bouillie, et qu'il en était résulté dans ce dernier liquide le développement d'organismes très différents des bactéries que j'avais vues dans le lait aigri. Ces dernières avaient les caractères déjà décrits de *Bacterium lactis* (planche XX, fig. 9), c'est-à-dire qu'elles formaient des couples ou des chaînes de petits corps ovales, avec des lignes de segmentation transversale. Les organismes de l'urine, d'autre part, étaient larges et extrêmement longs, souvent enroulés comme les spirillum, mais immobiles comme *Bacterium lactis*. Il y avait toutefois des individus qui avaient certainement l'air d'être des formes

(1) Voir *Quarterly Journal of Microscopical Science*, oct. 1875.

transitoires entre les deux. De cette urine j'inoculai un autre verre du même liquide et il y eut reproduction du même organisme, grand et semblable au spirillum. Ensuite j'inoculai du second verre d'urine un verre chargé de liquide de Pasteur ; cette fois il y eut une apparition toute différente des précédentes : au lieu des chaînes immobiles de *Bacterium lactis* du lait ou du spirillum de l'urine, j'eus des petites bactéries doubles et automobiles. Mais en introduisant une petite goutte du liquide de Pasteur ainsi peuplé dans un troisième verre d'urine, je retrouvai de grands organismes spiroïdes semblables à ceux des premiers verres d'urine, sauf que les derniers offraient des mouvements languissants. Toutefois, l'introduction d'une petite goutte de ce troisième verre d'urine dans un verre de lait bouilli pur, fut suivie d'acidification et de coagulation tout comme si l'inoculation avait été faite avec du lait aigri venu d'une laiterie. Les formes apparemment transitoires du premier verre à urine me firent supposer que le spirillum était le *Bacterium lactis* modifié par un nouveau milieu. J'examinai aussi au microscope, dans un verre à culture, une goutte prise à un mélange d'urine fraîche avec une petite quantité du liquide de Pasteur contenant les bactéries mobiles, et je vis les petits organismes que j'avais aperçus d'abord faire place à des individus plus grands à motilité languissante, et je crus avoir vu ainsi le passage d'une forme à l'autre. Enfin le pouvoir d'agir comme ferment lactique exhibé par le contenu du troisième verre d'urine, malgré les diverses formes prises dans des milieux divers, me confirmèrent dans la croyance que je n'observais qu'un seul et même organisme dans tous les verres. Si tel était réellement le cas, et si nous considérons combien

l'organisme devait avoir été lavé par ces différents milieux de toute substance chimique qu'on aurait pu lui croire originalement associée dans le lait — particulièrement si nous considérons que la fermentation lactique n'apparaît ni dans l'urine ni dans la solution de Pasteur — cette chaîne de faits semblait confirmer puissamment l'opinion, que la bactérie en question était bien la cause de la fermentation lactique. Il y a quelques mois je citai ces faits à un physiologiste éminent, partisan de l'opinion que les bactéries pouvaient, après tout, n'être que les compagnes accidentelles des changements fermentiels ; et quand j'eus fini mon histoire, il me dit : « bien, je suis convaincu ». Je me dis alors : « si par ces faits j'ai pu convaincre cet éminent professeur, ces faits méritent une démonstration plus rigoureuse ; je pourrai disposer de quelque temps entre la clôture de mon cours de chirurgie à Edimbourg, et l'ouverture de mon cours à Londres, ce temps je le consacrerai à répéter mes expériences ; mais cette fois je veux faire au microscope des observations continues, et tracer sur le fait, si je le puis, le processus de transformation de l'organisme ». Conséquemment je me procurai à la même laiterie, du lait en train de s'aigrir, et de ce lait j'inoculai d'abord un verre d'urine incontaminée, non bouillie, puis un verre de pure solution de Pasteur. Pour l'urine le résultat fut que, au lieu d'obtenir un grand spirillum immobile comme dans l'expérience correspondante antérieure à celle-ci de quatre années, je trouvai une bactérie double, de taille modérée et automobile. D'autre part, dans la solution de Pasteur, au lieu de la petite bactérie très mobile de la première expérience, je n'obtins que des bactéries immobiles et de grandeur variable.