2° Helminthes. — Le rôle de l'eau comme agent de contamination n'est pas toujours direct. Les parasites passant quelquefois par des hôtes intermédiaires avant d'arriver jusqu'à l'homme, c'est ainsi que l'on peut faire, avec BLANCHARD, plusieurs catégories, suivant le mode de développement.

a. Les œufs pénètrent dans le tube digestif par l'eau. L'embrion est mis en liberté et se développe dans l'intestin (*Ascaris, Oxyuris, Tricocephalus*) ou bien s'enfonce dans les organes et y passe à l'état larvaire, sa dernière métamorphose ne s'accomplissant que si son hôte actuel devient la proie d'un autre animal (*Tænia*).

b. L'embryon éclot dans l'eau, mais ne peut poursuivre son évolution dans ce milieu (*Uncinaria, Rhabdonema*).

c. L'embryon éclot dans l'eau, où il peut nager grâce à des cils vibratils ; il est absorbé par un premier hôte où il ne dépasse pas l'état larvaire, il ne deviendra adulte que chez un nouvel hôte, soit que l'hôte intermédiaire soit mangé par un nouvel être (*Botriocephalus*) soit qu'une forme larvaire spéciale quitte spontanément l'hôte intermédiaire, nage librement dans l'eau et soit avalé par l'hôte définitif (*Distoma*).

d. On avait admis jusqu'ici que la filaire du sang était transmise par l'eau. Le moustique puisait dans le sang de l'homme l'embryon de la filaire et devenait son hôte intermédiaire, puis quand il mourait dans l'eau, les larves étaient mises en liberté, et pouvaient être reprises par l'homme. Les recherches de MANSON montrent que l'évolution de *filaria nocturna* se fait tout entière dans l'insecte.

e. Un certain nombre de vers peuvent être accidentellement absorbés avec l'eau et provoquer des désordres plus ou moins graves (gordiens, sansgsues.)

Il est intéressant pour l'hygiéniste de pouvoir reconnaître dans l'eau, ou mieux dans le dépôt laissé sur le filtre, les œufs des différents helminthes (fig. 12.)

Cestodes. — La coque est généralement sphérique ou ovalaire, ordinairement anhiste, quelquefois granuleuse. L'œuf du botriocephalus présente un clapet à l'un des pôles. Les embryons se

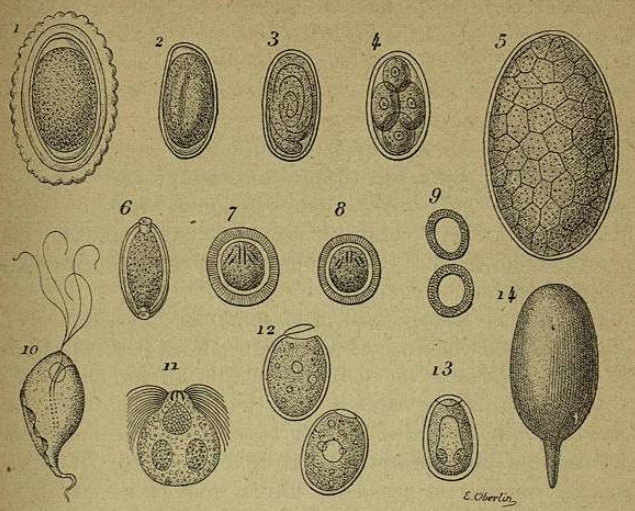

Fig. 11. — Œufs et embryons de parasites existant dans l'eau.

	GRAND DIAMÈTRE DES ŒUFS
1. Ascaris lumbricoïdes	75 μ
2. Oxyuris vermicularis	50 μ
3. — —	»
4. Uncinaria duodenalis	60
5. Fasciola hepatica	130
6. Tricocephalus trichiurus	55
7. Tœnia saginata	36
8. Tœnia solium	32
9. Tœnia echinococcus	30
10. Trichomonas vaginalis	15
11. Dicrocemium lanceolatum (embryon)	80
12. Botriocephalus latus	70
13. Dicrocemium lanceolatum	40
14. Schisostomum haematobium	160

Les noms indiqués dans cette légende, sont ceux qui ont été définitivement adoptés par les zoologistes depuis 1895. Il ne paraîtra pas inutile de donner quelques synonymes : Uncinaria-Ankylostoma ; Fasciola-Distomum hematomum ; Dicrocemium-distomum lanceolatum ; Schisostomum-Bilharzia.

reconnaissent à la présence de six crochets chitineux, d'où leur terme d'embryon héxacanthe.

Trémadodes. — OEufs à clapet semblables à ceux des botriocéphales, mais l'embryon est plus allongé, sans crochet et souvent pourvu de taches oculiformes.

Nématodes. — Simple ovule entouré d'une membrane vitelline sans clapet. Embryon vermiforme sans crochet.

Les parasites qui pénètrent dans l'organisme humain avec les aliments devant être étudiés à propos de l'alimentation, nous ne signalerons dans ce chapitre que ceux pris directement avec l'eau de boisson.

Schisostomum hæmatobium olim *Bilharzia hæmatobia.* — La bilharzie vit dans le sang; à l'état adulte elle est inoffensive, mais son embryon possède un éperon polaire qui lui permet de perforer les vaisseaux, provoquant ainsi des hémorragies mortelles surtout du côté des reins et de la vessie : hématurie d'Egypte. La Bilhariose est endémique en Afrique, elle frappe les populations qui ne boivent pas d'eau filtrée, mais on n'a pas encore pu saisir son mode d'évolution en dehors de l'organisme.

Fasciola hepatica olim *Distomum hepaticum.* La douve du foie se trouve dans les canaux biliaires du mouton, du bœuf, et de l'homme. L'œuf met en liberté un embryon cilié, qui prend pour hôte un gastéropode d'eau douce *Limnea truncatula.* Là, il donne naissance à une série d'êtres nouveaux, les cercaires ou rédies qui s'échappent de la limnée et nagent dans l'eau ou se fixent sur les herbes aquatiques; c'est à cet état, qu'elles peuvent être prises par l'homme.

Ascaris lumbricoïdes. — Le lombric est très fréquent, il se trouve parfois en quantité considérable : 600 évacués en un jour. L'œuf peut rester des années dans l'eau sans que l'embryon sorte, mais s'il est introduit dans le tube digestif, l'embryon perce sa coque et poursuit son développement complet chez l'homme ; il n'y a pas d'hôte intermédiaire.

Oxyuris vermicularis. — L'oxyure peut être introduit par l'eau de boisson, mais c'est surtout par contage direct avec les doigts et les linges qu'il est dégluti, les individus faisant de l'auto-infection.

Trichocephalus trichiurus olim *T. dispar.* — Parasite fréquent jadis à Paris et qui tend à disparaître avec l'emploi de l'eau filtrée. Son œuf présente une résistance remarquable à la sécheresse et à la gelée. L'embryon ne perce sa coque que lorsque l'œuf est arrivé dans l'estomac.

Uncinaria duodenalis olim *Ankylostoma duodenale.* — Les œufs de l'ankylostome expulsés avec les excréments se développent rapidement dans la terre humide ou dans l'eau vaseuse; il est absorbé, soit avec l'eau, soit par un objet (pain, pipe) introduit dans la bouche après avoir été déposé sur la boue. La larve, après des mues successives, atteint l'état adulte, et grâce à ses quatre dents, perfore la muqueuse intestinale et provoque des hémorragies capillaires qui, par leur étendue, amènent des anémies profondes, souvent mortelles et connues sous le nom d'anémie des mineurs. Cette maladie qui décimait les mineurs du Saint-Gothard a pu être enrayée par de simples mesures d'hygiène : eau filtrée, protection du sol, quand la cause en a été reconnue.

Filaria medinensis. — Le dragonneau qui peut atteindre un mètre de long s'élimine du corps humain en provoquant un abcès cutané. Le ver ainsi expulsé est rempli de milliers d'embryons qui supportent très bien la dessiccation; s'ils arrivent dans l'eau, ils reprennent leur mobilité et vont se fixer dans un petit crustacé copépode, un cyclops où ils passent à l'état larvaire. Le crustacé est avalé par l'homme avec l'eau de boisson et le parasite mis en liberté dans l'intestin. La femelle seule traverse l'intestin pour arriver à la peau, le mâle doit être évacué par l'intestin.

3° Annélides. — Les cas de Gordiens trouvés dans l'intestin de l'homme sont si rares qu'il est inutile d'en parler ici. Il n'en est pas de même des dangers que peut présenter la présence des annélides dans l'eau de boisson.

La sangsue de cheval (*Hirudo sanguisuya*) est très répandue dans le midi de l'Europe et le nord de l'Afrique. Avalée par mégarde, elle se fixe à l'intérieur de la bouche ou du pharynx et peut provoquer des accidents graves. On a observé par-

fois des sangsues introduites dans le vagin, l'urèthre ou le rectum.

§ 11. — Analyse des eaux potables

A) — Prélèvement des échantillons

1° Précautions locales préliminaires [1]. — Le but qu'il faut atteindre est de remettre au laboratoire dans lequel les analyses doivent être effectuées des échantillons de l'eau telle qu'elle est ou telle qu'elle doit être consommée. Il faut bien tenir compte que si l'analyse chimique est relativement peu sensible aux altérations accidentelles, l'examen bactériologique, au contraire, est un réactif d'une très grande sensibilité, et très impressionnable, suivant les conditions dans lesquelles sont effectués les prélèvements des échantillons destinés à cet examen.

Les prélèvements des échantillons doivent être précédés de dispositions préparatoires judicieuses dont on ne peut juger de l'opportunité que d'après la connaissance des lieux. D'une façon générale l'on peut dire qu'il faut avoir soin de :

Garantir l'eau plusieurs jours avant les prélèvements de toute contamination accidentelle ou volontaire (lavage de linge, abreuvage des animaux, dépôts ou projections d'immondices ou de matières fécales, baignade, etc., etc.);

Assurer l'écoulement et le renouvellement normal de l'eau;

Eviter toute introduction ou manipulations d'objets ou de matériaux dans l'eau qui doit être prélevée (échelle, seau, planches, etc., etc.).

S'il s'agit d'un puits, d'un puits instantané, d'un forage, pomper le plus longtemps possible, plusieurs jours avant, jusqu'au moment du prélèvement, afin de changer l'eau qui a pu être en contact avec des murs nouvellement maçonnés, des tuyaux d'aspiration et des matériaux de toutes sortes nécessités pour l'aménagement du puits. S'il s'agit d'une canalisation, y faire circuler l'eau, afin de ne pas prélever celle qui a séjourné dans les

[1] D'après les méthodes du laboratoire du comité consultatif d'hygiène publique.

tuyaux; s'il s'agit d'eaux superficielles, lacs, cours d'eau, bassins, réservoirs, tranchées, etc..., éviter de recueillir des eaux de la surface, qui sont toujours très chargées de corps étrangers, matières organiques, poussières atmosphériques; éviter également de mettre en suspension autant que possible les dépôts du fond ou des bords.

Au moment du prélèvement, empêcher autant que possible l'approche du lieu où l'eau doit être prélevée, afin d'éviter les éboulements de terre contaminée, la production des poussières, l'introduction des mains ou de corps étrangers non stérilisés, etc.

On effectue ensuite les prises des échantillons, en se conformant rigoureusement aux conditions suivantes ou à des conditions analogues répondant aux mêmes besoins et au même but, en commençant par les prélèvements des échantillons destinés à l'examen bactériologique et dans l'ordre suivant, afin d'éviter les contaminations accidentelles, même les plus insignifiantes, de l'eau qui doit être soumise aux analyses.

2° Prise d'échantillons pour l'analyse microbiologique. — Pour ce genre de recherches, on doit toujours prélever des échantillons de deux façons différentes, en usant rigoureusement des précautions suivantes :

a. *Tubes.* — On choisit un tube en verre vert, de 6 à 8 millimètres de diamètre et de 2 à 2,5 millimètres d'épaisseur, et on l'étire à la lampe d'émailleur en fragments de 20 centimètres de longueur, en prenant soin de donner à l'effilure de chaque extrémité une longueur de 5 centimètres et de la faire assez épaisse.

On ferme complètement une des extrémités près le tube et on laisse l'autre librement ouverte à l'air extérieur; on place le tube dans une gouttière en toile métallique (ou en clinquant) ayant la même longueur que ce tube, et on chauffe au rouge, sur toute la longueur en même temps, à l'aide d'une grille à gaz.

Lorsque tout le tube est ainsi chauffé au rouge sombre, on ferme au chalumeau l'effilure laissée ouverte et on abandonne

au refroidissement. On a ainsi obtenu un récipient partiellement vide d'air, en raison de la dilatation du gaz à la température à laquelle le tube a été porté, et absolument stérilisé.

Pour prélever l'échantillon, on trace un trait avec le couteau à verre ou une lame de bon acier aiguisée sur l'une des effilures, on la passe à plusieurs reprises dans la flamme d'une lampe à alcool, on la plonge dans l'eau à analyser à quelques centimètres au-dessous de la surface libre, et on brise la pointe à l'endroit du trait à l'aide d'une pince flambée dans la flamme de la lampe à alcool, avant de la plonger dans l'eau.

La pointe une fois brisée, l'eau se précipite dans le tube pour occuper le vide partiel ; et il ne reste plus qu'à retirer ce tube de l'eau avec précaution, et à fermer l'effilure ouverte en la faisant fondre dans la flamme de la lampe à alcool.

La lampe à alcool et l'appareil insufflateur du thermocautère de Paquelin, aujourd'hui si répandus, mais surtout la lampe à souder des plombiers, sont extrêmement commodes pour ce genre d'opérations ; ils constituent un chalumeau portatif.

b. *Flacons.* — Il y a deux procédés pour stériliser les fioles en verre blanc de 150 centimètres cubes de capacité, bouchant exactement à l'émeri, qui doivent servir à ces prélèvements. Le procédé de choix consiste à préparer ces flacons au laboratoire en les chauffant au four à flamber, pendant deux heures à 150 degrés. L'autre procédé applicable sur place ne doit être employé que dans le cas où la stérilisation par la chaleur est irréalisable.

Dans ce cas, les fioles sont lavées d'abord à l'acide sulfurique à 66° Baumé. Il faut avoir bien soin de mettre chaque point de la surface intérieure de la fiole en contact avec l'acide et de l'y laisser séjourner quelque temps pour être parfaitement sûr de la destruction complète de tout germe : 20 à 25 centimètres cubes d'acide sulfurique du commerce sont largement suffisants pour une fiole de la contenance indiquée.

Après quelques minutes de séjour de l'acide, on vide la fiole et on la rince au moins une dizaine de fois de suite avec l'eau dont il s'agit de prélever un échantillon, en ayant soin de ne pas mélanger l'acide, même dilué, à l'eau qui devra être prélevée pour l'analyse.

On remplit alors complètement la fiole avec l'eau à analyser, et on la bouche en ayant soin de passer au préalable, à plusieurs reprises, le bouchon à l'émeri dans la flamme d'une lampe à alcool. Lorsqu'on doit plonger le flacon dans l'eau pour le remplir, on se sert d'une longue pince à extrémités arrondies, de façon à serrer le goulot et à maintenir solidement la fiole le plus profondément possible sous l'eau. Bien entendu, on flambera la pince avant chaque opération.

Le bouchon sera fixé sur le flacon au moyen d'une peau ou de parchemin ficelé autour du goulot.

Il est nécessaire de prélever trois flacons et autant de tubes pour chaque eau à examiner.

Les tubes et les flacons doivent être ensuite soigneusement étiquetés de façon à ne pas commettre d'erreurs ; les trois tubes enroulés de papier sont introduits dans un mince étui en fer blanc, de même chaque flacon ; les étuis seront placés, au milieu de sciure de bois, dans une caisse à doubles parois dont l'intervalle des parois sera rempli d'un mélange de glace concassée (au moins 10 kilos) et de sciure.

Dans ces conditions la température ne s'abaissera jamais assez pour congeler l'eau, ce qui amènerait la rupture du récipient.

Un emballage soigneusement exécuté permet d'envoyer à de très grandes distances des échantillons d'eau qui peuvent alors être soumis à l'analyse bactériologique dans des conditions presque semblables à celles que pourrait réaliser leur mise en œuvre sur le lieu même du prélèvement.

Dans tous les cas, l'envoi devra se faire par grande vitesse et dans le plus bref délai possible après la prise d'échantillons.

Il est préférable d'effectuer la préparation des récipients stérilisés dans les laboratoires chargés d'effectuer les analyses. Ce matériel s'expédie facilement.

C'est ainsi que procède le laboratoire du Comité consultatif d'hygiène publique de France, qui tient à la disposition des municipalités dans lesquelles on ne pourrait trouver une personne suffisamment exercée aux manipulations indiquées des tubes et des flacons stérilisés à l'avance et qu'il ne reste plus

qu'à remplir en suivant strictement les précautions relatées précédemment.

3° Du transport des échantillons. — La cause d'erreur la plus grave qui peut fausser le dosage quantitatif des bactéries est le pullulement de ces êtres dans l'échantillon pendant le laps de temps qui s'écoule entre la prise et l'examen bactériologique. L'idéal serait de faire immédiatement l'ensemencement, mais il est souvent impossible d'agir ainsi.

En trois heures, le nombre des bactéries s'accroît quelquefois suivant une progression géométrique ayant 2 pour raison, ainsi que le montrent les chiffres suivants empruntés à MIQUEL.

	TEMPÉRATURE DE L'EAU	BACTÉRIES PAR CENT. CUBE
A midi.	16°,6	67
A 1 h. 30	19 ,5	143
A 3 heures	20 ,9	456

Quand il s'agit de jours, les chiffres deviennent fantastiques.

	TEMPÉRATURE DE L'EAU	BACTÉRIES PAR CENT. CUBE
Immédiatement	15°,9	48
2 heures après	20 ,6	125
1 jour après	21 ,0	38.000
2 jours après.	20 ,5	125.000
3 jours après.	22 ,3	590.000

Durant les premières heures, l'expérimentateur constate dans l'eau de la Vanne une richesse microbienne voisine de celle des eaux de source. Au bout de vingt-quatre heures, à ne considérer que les résultats numériques, il croirait avoir affaire à de l'eau de la Seine puisée entre les ponts d'Austerlitz et de l'Alma ; deux jours plus tard à de l'eau de la Seine puisée en amont du collecteur à Clichy ; trois jours après, à de l'eau de la Seine prélevée en aval de ce même collecteur, c'est-à-dire souillée d'eau d'égout.

Bien que l'élévation de température ne doive pas être seule incriminée dans cette multiplication des bactéries, elle est certainement un des facteurs les plus puissants et aussi celui sur lequel il est le plus facile d'agir.

MIQUEL différent très peu de celui cité précédemment pour faire voyager les échantillons :

L'échantillon, étant bouché et cacheté à la cire d'Espagne, puis enveloppé de papier, est introduit à frottement doux dans une boîte métallique de forme cylindrique où il reste pendant le voyage à l'abri des ballottements et des chocs.

Cette première boîte est placée dans une seconde plus large de quelques centimètres dans toutes les dimensions, et l'espace vide est rempli de sciure de bois. Ce système bien fermé est ensuite déposé dans une boîte métallique beaucoup plus vaste qu'on remplit de glace concassée en gros morceaux. En été, pour les trajets qui durent trente-six heures, ainsi qu'on a pu s'en assurer par les envois qui ont été faits des points de la France les plus éloignés de Paris, il faut employer de 3 kilogrammes à 4 kilogrammes de glace ; enfin, cette troisième et dernière boîte, bien exactement fermée, est enfouie dans une caisse de bois pleine de sciure, munie d'un couvercle à charnières et d'une poignée.

Même avec ces précautions, il est rare que l'eau arrive à une température inférieure à 5°.

4° Prise d'échantillon pour l'analyse chimique. — L'eau doit être recueillie dans des récipients incapables de faire subir une altération quelconque à la nature, et à la quantité des éléments chimiques pendant le séjour nécessaire aux analyses.

Il faut se servir de bouteilles de verre de un ou deux litres, bouchant exactement à l'émeri ou à l'aide d'un bon bouchon de liège neuf.

Il faudra rejeter absolument, pour prendre les échantillons, tout vase ou bouteille dont le verre ne serait pas tout à fait limpide et dont on ne pourrait pas constater *de visu* l'état de parfaite propreté.

On ne doit se servir que de bons bouchons neufs et bien lavés dans l'eau où l'on a puisé l'échantillon.

On remplit d'abord complètement la bouteille avec l'eau, on

la vide, on la rince une ou deux fois avec cette eau, on la remplit enfin jusque près du bouchon et on la bouche solidement.

Il est nécessaire de prélever dix litres d'eau pour l'analyse chimique et de ne pas réunir ces dix litres en un seul vase ; le mieux est de remplir dix bouteilles d'un litre.

5° Observations complémentaires et renseignements. — On prend la température de l'eau et la température extérieure, on observe si cette eau dégage des gaz à son libre contact avec l'air et l'on juge approximativement, par l'odorat ou par d'autres moyens appropriés, la nature de ces gaz (acide carbonique, hydrogène sulfuré, méthane, etc.), si elle abandonne des dépôts ferrugineux, crétacés, séléniteux.

Dans une enquête approfondie sur la pollution d'une eau par des communications souterraines, telles que la pollution des sources dites « vauclusiennes » par des eaux superficielles contaminées, des charniers, des fosses d'aisances, des puisards, des lavoirs, des purins, des liquides résiduaires de toutes sortes, on fera usage quelquefois avec succès de la solution sodique de fluorescéine qui, projeté dans l'endroit suspect, pourra colorer, au bout d'un certain temps dépendant des facilités des communications, l'eau qui fait l'objet de l'enquête.

On relève les différentes observations que l'on peut faire sur place, et dont certaines rentrent dans le cadre du questionnaire destiné à instruire les projets d'amenée d'eau, et faisant partie de la circulaire ministérielle du 23 juillet 1892.

Les rapports étroits 1° de la géologie avec la constitution chimique d'une eau, 2° de la salubrité du lieu ou des environs du lieu où elle se trouve située avec la valeur hygiénique de cette eau, 3° de la qualité des eaux avec l'état sanitaire des agglomérations qu'elles alimentent, font aisément comprendre l'utilité de ces renseignements.

B) — ANALYSE CHIMIQUE

1° Marche de l'analyse. — Nous renvoyons aux traités spéciaux ou aux instructions du laboratoire du comité consultatif pour tout ce qui concerne la technique de l'analyse chimique.

Ces recherches, en effet sont presque toujours poursuivies dans des laboratoires spécialement installés.

Nous nous contenterons d'indiquer la marche de l'analyse telle qu'elle est suivie au laboratoire du comité d'hygiène.

Matière organique :
- Oxygène dissous.
- Ammoniaque et sels ammoniacaux.
- Azote organique.
- Nitrites.
- Nitrates.

On recherche et dose ensuite les produits fixes :
- Résidu à 110 degrés.
- Résidu après calcination.
- Résidu après calcination et reprise par le carbonate d'ammoniaque.

On en déduit la perte au rouge.

On dose par pesée ou volumétriquement, suivant les cas :
- Silice.
- Oxyde de fer et alumine.
- Chaux.
- Magnésie.
- Acide sulfurique.
- Chlore.
- Acide carbonique.
- Acide phosphorique.

Et finalement on détermine :
- Degré hydrotimétrique total.
- Degré hydrotimétrique permanent.
- Degré alcalimétrique direct.

Quelquefois l'on est conduit à doser la potasse et la soude.

2° Titrages hydrotimétriques. — Malgré les critiques fondées qui ont été faites sur les titrages hydrotimétriques, nous indiquerons cependant les procédés employés pour faire ces déterminations. Elles peuvent en effet être faites avec un matériel très simple et sans qu'il soit nécessaire d'être rompu aux analyses chimiques.

a. *Liqueur titrée de savon.* — (Formule de Courtonne) On saponifie 30 centimètres cubes d'huile d'amandes douces par 10 centimètres cubes de lessive de soude à 36 degrés, en présence de 10 centimètres cubes d'alcool à 95 degrés en chauffant au bain-marie et agitant la masse : lorsque la réaction est terminée, on complète à 1 litre avec de l'alcool à 60 degrés en remuant constamment. On filtre.

b. *Titrage.* — Le titrage de la liqueur s'effectue au moyen d'une solution de chlorure de baryum à $0^{gr},55$ de $BaCl^2\ 2H^2O$ par litre, titre qu'il est facile de vérifier par un dosage pondéral de sulfate de baryte.

On mesure exactement 40 centimètres cubes de cette solution titrée de chlorure de baryum : on les introduit dans un flacon de 100 centimètres cubes bouchant à l'émeri, et l'on fait tomber la liqueur de savon contenue dans la burette spéciale jusqu'à ce que l'on obtienne par l'agitation une mousse qui doit occuper tout l'espace libre du flacon au début et persister avec une épaisseur d'un centimètre au moins, tout en imprimant des mouvements de rotation à l'eau du flacon, pendant quatre ou cinq minutes. Dans ces conditions, on doit obtenir 22 degrés, sinon on corrige la liqueur titrée de savon en y ajoutant soit de l'huile, soit de l'eau, suivant que le titre est supérieur ou inférieur. Il est encore préférable de noter le titre trouvé et d'en tenir compte dans l'évaluation des degrés hydrotimétriques.

c. *Degré hydrotimétrique total ou degré de dureté.* — C'est ainsi que l'on détermine le degré hydrotimétrique de l'eau telle que, sans dilution, lorsque le degré ne dépasse pas 26, soit sur des fractions de 20, 15, 10, 5 centimètres cubes, de l'eau à essayer, en complétant chaque fois à 40 centimètres cubes avec de l'eau distillée fraîchement bouillie, suivant que cette eau accuse un degré de plus en plus élevé. On tient compte, bien entendu, de la liqueur de savon employée par le volume d'eau distillée ajoutée.

d. *Degré hydrotimétrique permanent.* — C'est celui de l'eau, après ébullition, privée théoriquement des gaz dissous et du carbonate de chaux dissous à la faveur de l'acide carbonique. En réalité, le précipité se compose de carbonate de chaux, carbonate de magnésie, sulfate de chaux, suivant la teneur des eaux en ces différents produits.

Cent centimètres cubes de l'eau sont portés à l'ébullition pendant dix minutes : on refroidit, complète à 100 centimètres cubes avec de l'eau distillée bouillie, agite et filtre. On prend le degré hydrotimétrique dit *permanent* du liquide filtré. Un degré hydrotimétrique équivaut pour un litre d'eau à :

Chaux en CaO.	$5^{mill.},7$		
Carbonate de chaux en $CaCO^3$ . . .	10	3	
Sulfate de chaux en $CaSO^4$	14	0	
Magnésie en MgO	3	6	(Courtonne)
Carbonate de magnésie en $MgCO^3$. .	7	6	—
Sulfate de magnésie en $MgSO^4$ . . .	10	8	—
Nitrate de chaux en $(AzO^3)^2Ca$ . . .	17	0	(Dimitri)

Le degré hydrotimétrique total, sans donner d'indications rigoureuses, permet cependant de juger grossièrement de la teneur en sels alcalins d'une eau. Mais il faut se garder d'aller plus loin et d'en déduire les poids de chaux, de magnésie, d'acide sulfurique, etc., comme on a voulu le faire quelquefois.

D'après Boutron et Boudet qui ont jadis préconisé la méthode hydrotimétrique, on peut classer les eaux en trois groupes suivant leur degré de dureté : 1° de 0° à 30°, bonnes pour la cuisson des légumes, la boisson et le blanchissage; 2° de 30° à 60°, impropre aux usages domestiques, peuvent à peine servir à l'alimentation des chaudières; 3° au-dessus de 60°, impropre à tout usage. Une bonne eau potable correspond à 22°, au-dessous de 15 elle est trop peu minéralisée.

c) — ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE

1° Analyses quantitatives. — Plusieurs méthodes sont employées pour faire l'analyse quantitative de l'eau.

On ne trouvera dans ce précis que des indications générales, la technique très détaillée devant être étudiée dans les traités spéciaux.

A. Analyses par cultures en milieux liquides. (Pasteur et Joubert, Chauveau-Arloing, Miquel).

Procédé de Chauveau-Arloing. — On se sert d'une pipette graduée, fermée à une extrémité par un bouchon d'ouate et un tube de caoutchouc, à l'autre par le tube étiré en une pointe assez fine, pour qu'au point de brisure, le diamètre soit tel que les gouttes représentent un centième au plus de centimètres cubes. La pipette stérilisée est remplie directement dans l'eau suspecte, en brisant la pointe effilée dans l'eau. On scelle de nouveau la pointe et il suffit en brisant la pointe à l'endroit le plus rétréci de faire tomber une goutte de liquide dans chaque tube ou ballon de culture. Il est indispensable pour faire tomber les gouttes à travers le tube capillaire de souffler légèrement par le tube de caoutchouc. Un certain nombre de ballons sont ensemencés et mis à l'étuve.

Supposons que la goutte soit de $\frac{1}{120}$ cc, que 40 tubes sur 120 soient troubles, l'équation suivante donne le nombre de microbes par centimètres cubes.

$$\frac{x}{120} = \frac{40}{120} = 40$$

Procédé de Miquel. — Miquel dilue l'eau à analyser avec 1000 parties par exemple d'eau distillée. Puis il ensemence des cultures peptonisées avec une ou deux gouttes de la dilution et attend 15 jours après la mise à l'étuve.

Si plus de 30 p. 100 des ballons sont troubles, on ne peut tirer aucune conclusion, la dilution n'était pas assez forte.

Le nombre des bactéries est donné par la formule suivante. $\frac{N}{\varphi} \times T = x$ microbes par cc, dans laquelle N = le nombre des ballons troubles, T le titre de la solution, φ le quotient $\frac{\text{nombre de gouttes}}{25}$ (pour une pipette donnant 25 gouttes au centimètre cubes).

B. Analyses par cultures sur milieux solides. — Les milieux solides ont un grand inconvénient ; un certain nombre d'espèces bactériennes qui se développent en milieux liquides poussent mal ou pas sur gélatine. Par contre, chaque microbe donnant lieu à une colonie séparée, l'énumération est relativement facile.

C. Cultures sur plaques de gélatine. — La gélatine liquéfiée, ou mieux la gélatine-gélose pour éviter la liquéfaction par les bactéries liquéfiantes, est agitée avec une petite quantité d'eau à analyser, puis on laisse refroidir dans des boîtes de Pietri.

Et l'on porte à l'étuve et on note chaque jour les colonies qui apparaissent

Procédé au papier nutritif de Miquel. — Cette méthode repose sur la faculté que possède la gelée de lichen d'absorber promptement un volume d'eau considérable, après qu'elle a été desséchée en lames minces sur une feuille de papier. Ce terrain, infertile à l'état sec, récupère ses facultés nutritives et peut, après avoir été convenablement humecté, nourrir des bactéries qui se développent sur les deux faces du papier.

Le papier nutritif, taillé en rectangle, muni d'un fil suspenseur en platine est enveloppé de papier joseph, introduit dans un autoclave et chauffé une heure à 110° ; le papier sort de l'appareil sec et purgé de tout germe.

Au moment de l'analyse, on le pend par son fil suspenseur en platine dans une éprouvette bouchée à l'émeri, on le tare et on le plonge dans l'eau à doser ; les couches nutritives gonflent rapidement, et au bout de cinq minutes l'opération est terminée. Il reste à connaître le poids de l'eau absorbée, ce que donne une seconde pesée, et à placer le tout à l'étuve sous une cloche dont l'air est lui-même saturé d'humidité.

Les colonies ne tardent pas à se développer en taches diversement colorées sur le papier nutritif : tantôt elles sont très confluentes, si l'eau est impure, tantôt elles sont rares, quand l'eau est pauvre en bactéries et en mucédinées. Au bout de huit ou quinze jours lorsqu'on s'est assuré que le nombre des taches n'augmente pas, le papier est retiré du vase incubateur et porté à l'étuve à air à 45°. Quand le papier est sec on colore ainsi :

a. Le papier est plongé pendant quelques minutes dans une solution aqueuse d'alun, puis dans l'eau ordinaire : cette opération a pour double but d'insolubiliser légèrement la gelée et de mordancer les surfaces à colorer.

b. La bande de papier, bien lavée, est alors immergée pen-

dant vingt à trente secondes dans une solution de sulfate d'indigo titrant 2 grammes d'indigotine pure par litre. Ce bain se fait de la façon suivante : 2 grammes d'indigotine cristallisée sont mis à digérer pendant vingt-quatre heures avec 40 grammes à 50 grammes d'acide sulfurique fumant de Saxe, et le mélange qui en résulte. devenu soluble, est jeté dans un litre d'eau ; on neutralise la liqueur très acide.

Au contact de la liqueur sulfindigotique, le papier et les bactéries se colorent promptement ; on pousse au noir la teinte des colonies et des moisissures, qui se détachent très visiblement sur la teinte moins foncée acquise par la gelée.

c. Il s'agit maintenant de remplacer le fond bleu clair de la gelée par un fond blanc ; on y arrive en introduisant après un lavage soigné, la feuille dans un bain de permanganate de potasse à 1 pour 1.000 ; la gelée bleu clair passe au violet, ensuite au rose ; on lave une troisième fois et l'opération est terminée. Il importe de suivre attentivement cette dernière manipulation, qui dure environ une demi-minute : l'action trop prolongée du permanganate affaiblirait la teinte des colonies ; si l'expérimentateur commettait cette faute, le mal serait aisément réparable, il suffirait de replonger le papier dans l'indigo.

d. Pour donner plus de blancheur aux épreuves et arrêter l'action décolorante du permanganate en excès, on peut laisser séjourner une minute la bande de papier dans un bain d'acide oxalique à 40 p. 100, puis on lave à grande eau.

Les bactéries et les moisissures apparaissent alors en beau bleu sur fond blanc.

2° Analyse qualitative. — La détermination des espèces des microorganismes que l'on rencontre dans une eau suspecte est certainement la partie la plus utile de l'examen bactériologique ; il faut ajouter qu'elle est aussi la plus délicate et qu'à l'heure actuelle, malgré les progrès réalisés, elle est souvent impossible à réaliser.

En laissant de côté la différenciation des microbes indifférents dont l'étude présente surtout un caractère scientifique, il va de soi qu'on ne peut songer à isoler que les microbes pathogènes aujourd'hui bien connus, et la liste n'en est pas encore très longue :

Bacille du choléra ;
— du tétanos ;
— du charbon ;
— de la fièvre typhoïde.

Cette observation, bien que banale, mérite d'être faite, car souvent on demande aux bactériologistes de rechercher dans une eau les microbes des oreillons ou de la scarlatine. alors que ceux-ci ne sont pas encore isolés.

Pour faire une analyse qualitative, il faut combiner une série de méthodes.

Il est bien difficile, sinon impossible de reconnaître par l'examen microscopique un bacille au milieu d'autres microorganismes développés avec lui, dans les cultures soit en milieu liquide, soit même sur plaques. Il importe, avant tout, d'isoler et de faire proliférer le bacille recherché.

Plusieurs procédés sont ici appliquables suivant le micro-organisme recherché.

Tel bacille a une température optimum ; en portant les tubes ensemencés à cette température, on hâte son développement en diminuant au contraire l'activité des autres microorganismes.

Ou bien en ajoutant telles ou telles substances chimiques dans le milieu de culture en proportion déterminée. Exemple : acide phénique pour le bacille typhique.

Les cultures ainsi obtenues doivent être soumises à un certain nombre d'épreuves.

La diagnose tirée de la morphologie du microbe est certainement, étant donné le polymorphisme de la plupart des bactéries, une épreuve insuffisante.

Il en est, à quelques exceptions près, de même des réactions qu'elles présentent avec les différentes méthodes de coloration.

Examen des propriétés biochimiques. — Un certain nombre de microorganismes, par suite des diastases qu'ils forment, donnent lieu dans des milieux de culture appropriés à des réactions en quelque sorte spécifiques, tels le ferment lactique, le ferment butyrique. C'est ainsi que l'on peut employer un procédé de

différenciation du bacille typhique avec le *bacterium coli commune* en utilisant les actions différentes de ces deux microbes sur certains sucres. La formation d'acide étant facilement décelée, en cultivant sur milieu coloré avec le tournesol ou un autre réactif sensible.

Un dernier procédé de confirmation réside dans les inoculations aux animaux soit des cultures virulentes elles-mêmes, soit des produits solubles filtrés. Ici encore, il faut choisir l'animal de choix, qui est susceptible de réagir aux différents microbes.

Nous résumerons rapidement les méthodes différentes pour les bactéries les mieux connues.

A. Bacille du choléra. — La recherche du bacille cholérique dans l'eau était autrefois très difficile. Koch, Frækel, et Lubarsch étaient seuls, en 1893, à avoir vu, chacun une fois, le *komma bacillus* dans l'eau naturelle : Koch lui-même reconnaît qu'il est peu nombreux dans l'eau la plus suspecte et qu'il résiste mal aux autres microorganismes. Le procédé de Dunham permet sa recherche avec plus de facilité : le komma bacille se multiplie avec rapidité dans une solution stérilisée de peptone à 1 p. 100 et de sel marin à 0,05 p. 100. On ensemence les cultures avec quelques gouttes incriminées, et, en dix ou douze heures, à 37°, les bacilles se multiplient et forment un voile à la surface. Un fragment du voile est porté dans une seconde culture peptonée, et par des passages successifs, on obtient une culture pure de bacilles cholériques.

Les cultures sur plaques de gélatine donnent toujours (Koch) des résultats caractéristiques. Chaque colonie forme un petit disque entouré de deux cercles, l'un granuleux, l'autre clair. Les bacilles sont plus petits que dans les cultures sur agar-agar : ils sont recourbés et souvent se présentent sous l'aspect de spirilles ou de longs filaments ondulés.

Koch donne également une importance considérable à la réaction du *rouge du choléra, choleraroth :* si l'on verse 5 à 10 gouttes d'acide chlorhydrique dans une culture, on observe, au bout de quelques minutes, une coloration rouge foncé dont l'intensité croit pendant une demi-heure. Cette réaction qui est celle de

l'indol n'est d'ailleurs pas caractéristique du bacille cholérique d'après Sanarelli.

Chantemesse utilise pour cultiver et isoler le bacille du choléra, son procédé de culture du bacille typhique (1902, voy. page 97). Au lieu de sérum typhique, il emploie du sérum anticholérique (réaction agglutinante de Pfeiffer) et il ensemence sur gélatine simple.

L'inoculation aux animaux ne donne des résultats que si l'on alcalinise leur estomac et immobilise les intestins avec l'opium. A l'autopsie on trouve un intestin distendu par un liquide diarrhéique riche en bacilles virgules.

Quant aux caractères différentiels donnés pour diagnostiquer le bacille du choléra asiatique, du bacille du choléra nostras (?), bacille de Finkler et de Prior, ils sont trop hypothétiques pour nous arrêter.

B. Bacille du tétanos. — Maintenir à l'eau suspecte à la température de 70° pendant une heure, et ensemencer dans de la gélose peptonisée additionnée de 2 p. 100 de sucre, placée dans des flacons de Friedreich privés d'oxygène [1]. Le bacille du tétanos étant anaérobie.

Si dans les colonies qui se développent on découvre des bacilles terminés par une spore (en forme d'épingle courte), on les cultive par piqûres dans de la gélatine à l'abri de l'air. La piqûre dans la gélatine donne lieu à la production d'une sorte de culture en écouvillon, ressemblant beaucoup à celle du rouget de porc ; mais les bacilles de ces premières cultures sont toujours munis d'une spore terminale plus volumineuse que le bâtonnet.

Une goutte de bouillon, envahie par le bacille de Nicolaïer, inoculée aux souris, les tue en deux ou trois jours ; 10 gouttes ou un demi-centimètre cube du même bouillon donnent

[1] On arrive à obtenir des milieux de culture privés d'air en les recouvrant avant leur stérilisation d'une forte couche d'un mélange de paraffine et de vaseline.

Vaseline	98
Paraffine	2