

PRÉCIS
DE MICROBIE

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

APPAREILS DE VERRERIE. — LAVAGE. — PRÉPARATION.
STÉRILISATION.

I. — Lavage des appareils de verrerie.

Lavez d'abord l'appareil avec une solution de potasse; puis rincez à grande eau pour enlever l'excès de potasse.

Plongez alors dans un bain d'eau acidulée à un ou deux pour cent d'acide sulfurique; rincez à l'eau et faites égoutter soigneusement. A cet effet le mieux est de placer les objets humides dans l'étuve sèche que nous décrivons plus loin, étuve de Wiesnegg, et de les y laisser jusqu'à complète siccité.

Il est bon dans quelques cas, surtout quand

l'appareil a déjà été mis en usage plusieurs fois et a perdu de sa transparence, de commencer par un nettoyage avec du sable fin; on achève ensuite comme ci-dessus.

II. — Préparation des appareils de verrerie.

Nous ne mentionnons ici que les appareils d'un usage courant et général. Nous rejetons absolument une foule d'appareils d'une utilité ou contestable ou trop restreinte, qui ne servent qu'à encombrer les laboratoires et à surcharger les descriptions techniques.

Nous omettons, pour l'instant aussi, certains appareils dont il sera parlé plus utilement ailleurs, par exemple aux articles: *Milieux de culture*, *Technique des cultures*.

Nous allons décrire successivement et indiquer la façon de mettre en état :

1. Les appareils pour cultures dans les milieux liquides : *matras Pasteur*, *matras coniques*, *matras à long col*, *flacons d'Erlenmeyer*, etc.
2. Les appareils pour cultures en milieux solides : *tubes à essai*.
3. Les appareils pour cultures en plaques : *plaques de verre* et *boîte de Petri*.
4. Les *ballons-pipettes Chamberland*.
5. Les appareils pour cultures des microbes anaérobies.
6. Enfin des appareils divers d'utilité ou générale ou spéciale, tels que *ballons*, *vases à sérum*, *pipettes*, etc.

1. APPAREILS POUR LES CULTURES EN MILIEUX LIQUIDES.
— *Matras Pasteur*. — « C'est un petit ballon à fond plat en verre léger, fermé par un bouchon à l'émeri à recouvrement, qui lui-même n'est pas

plein, mais se termine par un tube de verre obturé par un tampon de coton » (Duclaux) (fig. 1).



Fig. 1. — Le matras Pasteur et son bouchon à l'émeri. Celui-ci porte le tampon d'ouate obturateur.

Lorsque le matras a été soigneusement lavé suivant la méthode que nous venons d'indiquer, lorsqu'il est bien sec, il faut garnir le bouchon de verre d'un tampon d'ouate. On procédera, en faisant pénétrer, sous légère pression, à l'aide d'une pointe mousse, un petit fragment d'ouate dans le tube étroit qui termine le bouchon à sa partie supérieure. Il ne reste plus alors qu'à stériliser le matras dans le four à flamber.

Matras conique. — Ce matras est bouché à l'émeri comme le matras Pasteur, dont il diffère par sa forme conique (voy. fig. 2). Sa préparation est de tous points semblable à celle du matras Pasteur.

Matras cylindrique à long col. — Il faut choisir des matras de la forme figurée ci-après (fig. 3) et de 65 centimètres cubes environ de capacité totale. L'appareil ayant été lavé et séché, garnissez l'extrémité ouverte d'un tampon d'ouate.

Pour préparer les *tampons d'ouate* qui doivent obturer les matras à long col, les ballons, les tubes à essai, les vases divers, etc., procédez



Fig. 2.

de la façon suivante : Prenez dans un paquet d'ouate un fragment de dimension variable, suivant le diamètre du tube qu'il faut boucher, mais de forme à peu près rectangulaire.

Pliez ce fragment en deux pour lui donner une plus grande épaisseur ; placez alors l'extrémité de votre index gauche au centre de la surface ainsi obtenue, et coiffez votre phalange avec l'ouate que vous ramènerez et presserez doucement autour de cette phalange ; retirez l'index : vous aurez ainsi un tampon d'ouate terminé par une surface lisse et bien arrondie : c'est là un point important que cette petite manœuvre bien simple permet d'atteindre facilement.

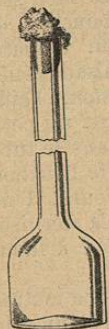


Fig. 3. — Matras à long col. La section est destinée à montrer une variante de ce matras dans laquelle le col est plus court.

Bouchez alors la tubulure du ballon, du matras, du tube à essai, etc., avec votre tampon, la partie arrondie, lisse, celle qui coiffait l'extrémité de l'index étant dirigée en bas. En règle absolue les bouchons d'ouate doivent être peu serrés et pénétrer dans les tubes qu'ils obturent sous légère pression.

L'appareil ainsi bouché est prêt pour la stérilisation.

En sectionnant à la lime le col du matras à col long, et en bordant à la flamme l'extrémité de la section, on obtient le petit *matras* ci-contre qui ne diffère du précédent que par la moindre longueur de son col. Cette variante est peut-être encore préférable.

Flacons d'Erlenmeyer. — On désigne sous ce nom des flacons de forme conique et de capacité variable : la figure 4 nous épargnera toute description.

Le flacon ayant été lavé et séché, bouchez à

l'ouate en procédant comme il est indiqué ci-dessus, et stérilisez ensuite.

2. APPAREILS POUR LES CULTURES EN MILIEUX SOLIDES.
— *Tubes à essai.* — Ces tubes doivent être choisis d'un diamètre d'un centimètre et demi à deux centimètres (fig. 5). Ils doivent se terminer à la partie supérieure par des bords droits ; il faut rejeter les tubes dont les bords circonscrivant l'ouverture se



Fig. 4.



Fig. 5.

renversent en dehors : cet évasement constitue une difficulté dans l'application des capuchons en papier-filtre dont nous parlerons plus loin.

Les tubes à essai seront lavés, séchés et bouchés à l'ouate. Nous avons ci-dessus décrit un procédé commode pour confectionner les tampons d'ouate : ce procédé trouve son application ici. Les tubes à essai lavés, séchés, bouchés, seront stérilisés dans le four à flamber.

3. APPAREILS POUR CULTURES EN PLAQUES. — *Plaques de verre* (méthode de Koch). — Prenez des plaques de verre rectangulaires de dimensions variables, 12/10 en moyenne, et d'épaisseur un peu supérieure à celle des porte-objets usités en micrographie. (Les plaques employées par les photographes et connues sous le nom de quarts de plaque seront

d'un bon usage.) Les plaques préalablement lavées et séchées seront placées pour subir la stérilisation au four dans une boîte en tôle de 0^m,14 de long sur

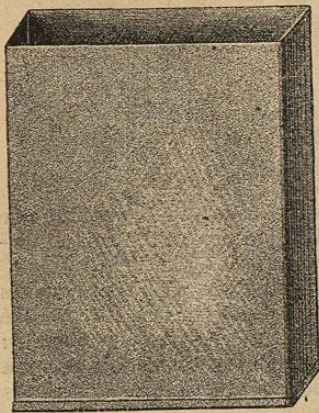
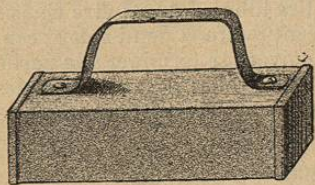


Fig. 6.

0^m,18 de haut : la figure représente cette boîte et son couvercle (fig. 6).
Boîtes de Pétri.
 — Ces boîtes, dont l'usage tend, au moins pour certains cas, à se substituer à celui des plaques de Koch, sont figurées ci-dessous (fig. 7 et 7 bis). Elles se composent essentiellement de deux plaques de verre circulaires à bords relevés : ces deux plaques sont disposées de telle façon que l'une d'elles, d'un diamètre supérieur, peut former couvercle pour l'autre. La boîte ayant été lavée et sé-

chée à l'étuve, il faut la stériliser. La stérilisation peut se faire au four. Il est mieux de la faire dans l'autoclave. A cet effet, enveloppez la boîte dans une feuille de papier-filtre. Assurez le tout par un lien, et portez à l'autoclave. La boîte ne sera retirée de son enveloppe de papier qu'au moment de l'usage.

PRÉPARATION DES APPAREILS DE VERRERIE. 7

4. BALLON-PIPETTE CHAMBERLAND. — Ce ballon, figuré ci-après (fig. 8), porte à sa partie supérieure un léger renflement qui se prolonge par un tube A incliné à 45°. Ce tube, ouvert à son extrémité supérieure, porte un ou deux étranglements des-

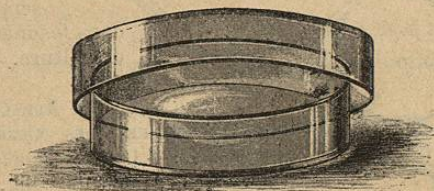


Fig. 7.



Fig. 7 bis.

La boîte de Pétri représentée figure 7 n'est pas la boîte originale, mais une modification qui donne de meilleurs résultats. — La figure 7 bis montre la coupe verticale d'une boîte de Pétri en place.

tinés à maintenir le tampon d'ouate : un seul étranglement est suffisant.

A la partie sphérique du ballon est soudé un tube B plus fin que le tube supérieur, doublement recourbé, qui se termine en s'amincissant. Ce tube est désigné sous le nom d'effilure latérale. On lave soigneusement le ballon-pipette ; on garnit le tube supérieur d'un tampon d'ouate qu'on pousse en forçant jusqu'à l'étranglement ; on scelle à la lampe l'extrémité de l'effilure latérale, et on porte le ballon ainsi préparé dans le four à flamber.

Ces ballons-pipettes sont destinés, ainsi que nous l'expliquerons plus longuement ailleurs, à conserver les liquides de culture stérilisés jusqu'au moment de leur



transvasement dans les matras de culture.

5. APPAREILS

POUR LA CULTURE DES MICROBES ANAÉROBES. — 1° *Tube double de Pasteur.* — Ce tube (fig. 9)

employé autrefois, par MM. Pasteur, Joubert et Chamberland, pour cultiver le vibron septique, « consiste dans un tube à deux branches auquel est soudé un tube de verre étranglé en A...; chacune des branches porte un petit tube effilé » (Roux). Pour le mettre en état de servir, lavez-le soigneusement, séchez-le, garnissez le tube supérieur d'un tampon d'ouate, que vous pousserez jusqu'à l'étranglement A, et fermez à la lampe les tubes effilés latéraux. Il ne restera plus qu'à stériliser l'appareil dans le four à flamber;

2° *Tube simple de Pasteur.* — C'est un tube simple surmonté d'une tubulure étranglée en un point A et garni latéralement d'un tube B recourbé et effilé.

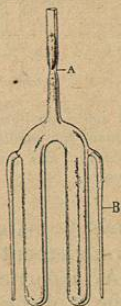


Fig. 9.

Lavez-le, séchez-le, poussez un tampon d'ouate en A, fermez le tube effilé latéral à la lampe et portez dans le four à flamber (fig. 10);

3° *Tubes pour la culture des anaérobies dans la gélatine.* — La figure ci-dessous (fig. 11) montre cet appareil. C'est un tube à essai surmonté d'une tubulure B à sa partie supérieure.

A la tubulure B est soudée une tubulure A. L'appareil sera lavé, on garnira d'un tampon de

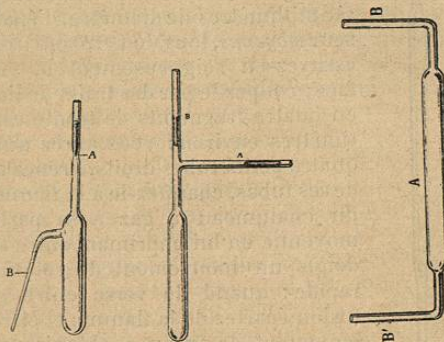


Fig. 10.

Fig. 11.

Fig. 12.

coton les extrémités de A et de B. Ainsi apprêté l'appareil sera porté dans le four à flamber;

4° *Tube pour la culture en plaque des anaérobies.* — Il consiste en un tube A, long de 25 à 30 centimètres environ, d'un diamètre de 3 centimètres, portant à chacune de ses extrémités un tube B, B', de petit diamètre. Ces tubes BB' se recourbent à angle droit, et sont fermés à leur extrémité par un tampon d'ouate (fig. 12).

L'appareil lavé ainsi préparé sera porté dans le four à flamber.

6. APPAREILS DIVERS. — *Pipettes Pasteur*. — La figure ci-contre (fig. 13) donne la représentation de ce petit instrument, qui est d'un usage journalier dans la pratique de la bactériologie. La préparation des *pipettes Pasteur* est d'une extrême simplicité; un court apprentissage donnera l'habileté manuelle nécessaire.

Prenez un tube de verre de cinq à six millimètres de diamètre, d'épaisseur moyenne, long de 1^m,20 environ; essuyez-en soigneusement la surface; coupez-le par des traits de lime en quatre fragments de trente centimètres environ: vous aurez ainsi quatre petits tubes droits. Prenez un de ces tubes, chauffez-le à la flamme du chalumeau à gaz à sa partie moyenne en lui imprimant entre les doigts un mouvement de rotation rapide: quand le verre entre en fusion écartez de la flamme et étirez lentement de façon à obtenir une longue effilure; séparez alors la partie effilée en son milieu. Vous aurez ainsi deux pipettes terminées par une extrémité capillaire que vous scellerez immédiatement à la flamme.

Bordez alors à la flamme les bords de la grosse extrémité non effilée, et garnissez cette extrémité en A d'un tampon d'ouate.

A cet effet prenez un petit morceau d'ouate, et à l'aide d'une pointe mousse enfoncez-le dans la pipette sous pression légère.



Fig. 13 et 13 bis.

Préparez de même chacun des autres petits tubes droits, faisant deux pipettes d'un même tube, et construisez dans la même séance le plus grand nombre possible de pipettes, car il est indispensable d'avoir toujours une certaine quantité de ces petits instruments à sa disposition.

Les pipettes terminées, on les placera, pour les stériliser, dans le four à flamber dont nous parlerons ci-dessous.

La figure ci-contre (fig. 13 bis) montre des pipettes d'une forme un peu différente des pipettes Pasteur. On les obtient en étranglant celles-ci à la flamme sur un point, en B.

La petite extrémité est scellée à la lampe; l'autre extrémité est rodée à la flamme et garnie d'un tampon d'ouate.

Ces pipettes servent à conserver à l'abri de l'air une petite provision de matière virulente (liquide de culture ou produit pathologique); nous en expliquerons le mode d'emploi en temps et lieu.

Les pipettes sont, après cette préparation, portées dans le four à flamber.

Vase à sérum. — Prenez un vase (fig. 14) d'une assez grande capacité, deux litres environ (celui que représente la figure ci-contre est d'un bon emploi), et faites choix pour le boucher d'un bouchon de liège dont le diamètre soit un peu inférieur au diamètre intérieur du col du vase.



Fig. 14.

Préparez d'autre part un tube de verre A que vous recourberez à angle droit à son extrémité supérieure, et que vous fermerez à courte distance de la courbure. La partie droite du tube A doit avoir une longueur suffisante pour plonger d'une part jusqu'au fond du vase et émerger d'autre part au-dessus du col.

Assemblez alors les deux parties, vase et tube de verre, de la façon suivante : enlevez sur la circonférence du bouchon un petit coin de liège qui donnera passage au tube de verre; puis, pour boucher l'intervalle qui doit, ainsi que nous l'avons dit, exister entre le bouchon et le col du vase, garnissez la circonférence du bouchon d'un anneau d'ouate; placez le bouchon traversé par le tube et garni d'ouate à son pourtour sur le col du vase. Donnez au tube de verre dans le vase une position telle que son extrémité inférieure soit d'une part à courte distance du fond du vase et affleure presque d'autre part la circonférence de celui-ci; vous éviterez, en faisant ainsi, les éclaboussures du sang tombant dans le récipient.

Le tube de verre étant en bonne place, faites, sur sa circonférence, près de son extrémité fermée, un trait au couteau à verre.

Enfin enveloppez la partie terminale du col du vase et l'émergence du tube A d'une couche épaisse et serrée d'ouate maintenue par quelques tours de fil. L'appareil ainsi monté est prêt pour la stérilisation.

Ballons et vases à conserve. — On doit avoir un certain nombre de ballons en verre de capacités variables : 125 à 1000 centimètres cubes, et un certain nombre de



Fig. 15.

vases de 1000 centimètres cubes environ (fig. 15).

Ballons et vases sont, après lavage, bouchés à l'ouate et portés dans le four à flamber.

III. — Stérilisation de la verrerie.

L'appareil le plus pratique pour la stérilisation

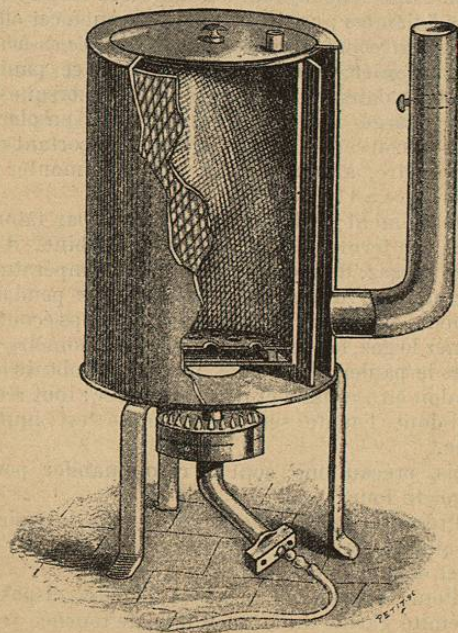


Fig. 16.

des instruments de verrerie est incontestablement le four Pasteur (voy. fig. 16). C'est un appareil

en tôle, à double paroi, à retour de flammes, avec brûleur à gaz à la partie inférieure et cheminée latérale.

Les dimensions en sont très variables. Ce four est formé à sa partie supérieure par un couvercle percé d'un trou dans lequel on fera pénétrer un bouchon traversé par un thermomètre.

Dans l'intérieur du four on disposera les instruments à flamber; ces instruments seront à cet effet placés, *l'extrémité qui porte l'ouate tournée en haut*, dans un panier en toile métallique, et ce panier sera porté dans la chambre du four. Lorsque le panier chargé des objets à flamber est en place, mettez le couvercle, placez le bouchon portant un thermomètre, allumez le gaz, et laissez monter la température à 170 ou 180°.

A ce moment réglez la température par tâtonnement en fermant et en ouvrant le robinet d'amenée du gaz, de façon à obtenir une température moyenne de 170° que vous maintiendrez pendant une heure et demie à deux heures. Ce temps écoulé, éteignez le gaz, laissez descendre le thermomètre et retirez le panier métallique. L'ouate qui obture les vases doit être roussie et non carbonisée; tout récipient dont l'ouate serait carbonisée est inutilisable.

Trois précautions sont à recommander pour l'usage du four :

- 1° Présentez l'allumette, le rat de cave, le papier, etc., allumés aux becs de gaz avant d'ouvrir le robinet d'amenée du gaz;
- 2° Pour les objets bouchés à l'ouate, disposez l'extrémité garnie du tampon d'ouate tournée vers le haut, et le plus éloigné qu'il sera possible du fond du four;
- 3° L'opération achevée, laissez les objets refroidir dans le four. En les retirant alors qu'ils sont

encore chauds, on risque de les briser, les exposant à un air froid.

Pour le **séchage des objets de verrerie**, l'étuve si connue de Wiesnegg à porte de verre et à un ou deux compartiments est excellente.

REMARQUE GÉNÉRALE.— Il faut toujours avoir à sa disposition un certain nombre des appareils que nous avons décrits dans ce chapitre. Ces appareils, après lavage, préparation et stérilisation, doivent être conservés dans une armoire fermée, à l'abri de la poussière, en attendant le moment où ils devront être mis en usage.