

CHAPITRE III

L'AUTOCLAVE. — LES ÉTUVES. — LES APPAREILS A FILTRATION.

I. — L'autoclave.

L'autoclave de Chamberland (fig. 23) est un précieux instrument de stérilisation, d'un fonctionnement parfait, remplissant également bien deux indications :

1° Il fonctionne *sans pression*, comme une étuve humide, où la température peut être portée à $+ 100^{\circ}$;

2° Il fonctionne *sous pression* et la *vapeur humide sous pression* peut y être portée à $1/2$, 1 , $1 1/2$ et 2 atmosphères avec les températures correspondantes (de 100° à 134°).

L'autoclave se compose d'une marmite cylindrique en cuivre pouvant être fermée hermétiquement par un couvercle en bronze portant sur une rondelle de caoutchouc, et maintenu par des boulons mobiles. Ce couvercle est muni d'un manomètre M indiquant la pression et la température, d'un robinet R ; d'une soupape de sûreté S.

La marmite est supportée par une sorte de boîte en tôle à la partie inférieure de laquelle se trouvent deux rampes à gaz circulaires G et g, de diamètres différents, et indépendantes l'une de

l'autre. Un panier en fil de fer P, d'un diamètre

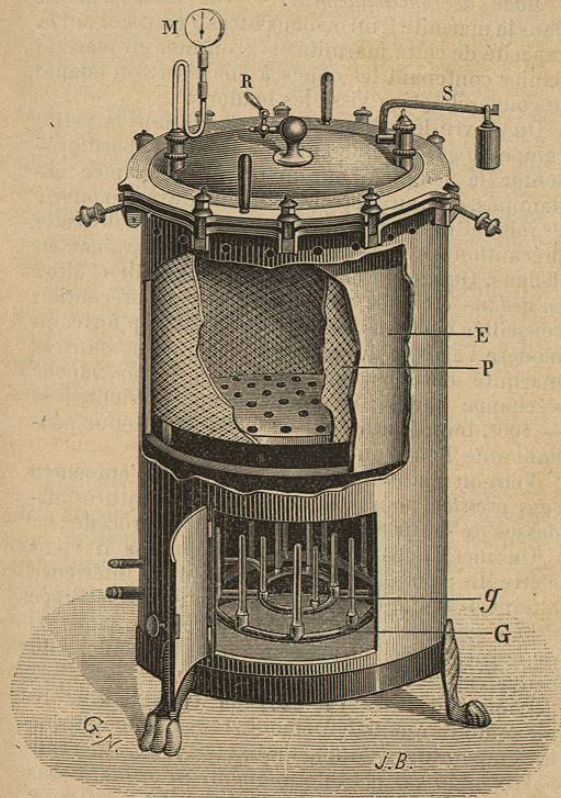


Fig. 23.

inférieur à celui de la marmite, est destiné à

recevoir les vases contenant les milieux à stériliser.

Mode de fonctionnement. — On verse d'abord dans la marmite E un ou deux litres d'eau, suivant la capacité de cette marmite (1) ; on met en place le panier contenant les objets à stériliser, on adapte le couvercle et on visse les boulons.

On ouvre le robinet R, et on allume la petite rampe de gaz *g*. Pour allumer il faut d'abord présenter la bougie, l'allumette, ou le papier enflammés, etc., aux becs de l'autoclave avant d'ouvrir le robinet de la conduite du gaz. Faute de cette précaution les becs de l'autoclave brûleraient en dedans. Quand un ou plusieurs becs brûlent ainsi *en dedans*, éteignez et rallumez avec la précaution conseillée ci-dessus. Si la pression est trop forte, on modère l'arrivée du gaz. L'eau contenue dans la marmite entre en ébullition ; un jet de vapeur s'échappe par R ; la température intérieure est + 100°, température qui peut être maintenue pendant une heure au moins.

Veut-on maintenant faire fonctionner l'autoclave *sous pression* pour atteindre les températures au-dessus de + 100° ? voici comment on procède :

On met l'appareil en marche comme il vient d'être dit ; puis, quand la température intérieure atteint + 100°, *c'est-à-dire quand la vapeur s'échappe depuis quelques instants violemment par le robinet R*, on ferme celui-ci et on serre à fond les boulons du couvercle.

L'appareil entre en pression, et l'aiguille du manomètre monte lentement. Lorsqu'elle marque la température voulue, 103°, 113°, etc., on règle l'arrivée du gaz par tâtonnement, en fermant plus ou moins le robinet de la conduite, et on obtient

(1) Il est de la plus haute importance de s'assurer toujours, avant de commencer une opération à l'autoclave, qu'il y a une couche d'eau suffisante dans l'appareil.

ainsi, pendant un quart d'heure, une demi-heure, la température fixe voulue pour la stérilisation (1).

Lorsqu'on juge la stérilisation suffisante, on éteint complètement le gaz, on attend que l'aiguille du manomètre descende à 0 ; on ouvre alors le robinet R : un léger sifflement indique la rentrée de l'air dans la marmite. On desserre les boulons, on enlève le couvercle et on retire les objets stérilisés. Il ne faut jamais attendre que l'appareil soit refroidi pour enlever le couvercle : l'adhérence serait en effet telle entre le caoutchouc et le couvercle qu'on n'arriverait qu'avec les plus grandes difficultés à soulever celui-ci.

Telle est la manœuvre, vraiment simple, de l'autoclave, qui remplace à lui seul toutes les étuves et tous les bains-marie plus ou moins compliqués dont s'est inutilement surchargée la technique bactériologique.

II. — Les étuves.

Étuves à incubation de Roux et de d'Arsonval. — Les étuves à incubation sont des appareils offrant aux milieux de culture qu'on y enferme les températures convenables au développement des germes que contiennent lesdits milieux.

Les deux modèles suivants répondront aux indications générales, aux besoins courants du laboratoire. Il sera bon de les posséder l'un et l'autre. Le premier, étuve de Roux, recevra la grande

(1) Il est bon, dans le fonctionnement de l'autoclave sous pression, de pratiquer une ou deux *détentes de vapeur*, comme cela se fait dans la manœuvre des appareils de désinfection par la vapeur humide sous pression du système Herscher ; pour cela, dès que l'aiguille du manomètre commence à monter, on ouvre le robinet R et on le referme après quelques instants : on répète cette manœuvre une ou deux fois.

majorité des cultures, celles qui sont traitées à la température d'usage 37-38 degrés.

L'étuve d'Arsonval sera plus spécialement destinée à recevoir des cultures pour lesquelles une température particulière, inférieure ou supérieure à 37-38°, est exigée.

Étuve de Roux. — Cette étuve, d'un excellent usage, n'est autre que l'ancienne étuve Pasteur, chauffée directement au gaz d'après le système préconisé par M. Schribaux et munie, c'est là le point intéressant, d'un régulateur des plus simples et des plus solides imaginé par M. Roux.

Notre figure 24 représente cette étuve dans son ensemble avec ses compartiments, sa rampe de gaz et son régulateur en place.

La figure 24 bis montre le régulateur, dont voici la description, que nous empruntons à M. Roux (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. V, p. 158) :

« Ce régulateur est formé de deux barres métalliques, l'une en acier, l'autre en zinc, soudées ensemble sur toute leur longueur, et recourbées ensuite en forme d'U.

» Le métal le plus dilatable, le zinc, étant en dehors, toute élévation dans la température tendra à rapprocher les branches, et tout abaissement les écartera l'une de l'autre. »

Fixer une des branches et ajuster « à l'autre une tige qui suivra ses mouvements et ira ouvrir ou obstruer l'arrivée du gaz » se rendant à l'étuve, tel est le principe du réglage.

Le régulateur est donc « placé verticalement près d'une paroi latérale, l'ouverture de l'U vers le haut. Une des branches A, la plus éloignée de la paroi, est fixée à l'étuve ; l'autre, qui seule peut se déplacer, porte une tige horizontale qui sort de l'étuve par une ouverture suffisante pour qu'elle puisse s'y mouvoir librement. A sa sortie de

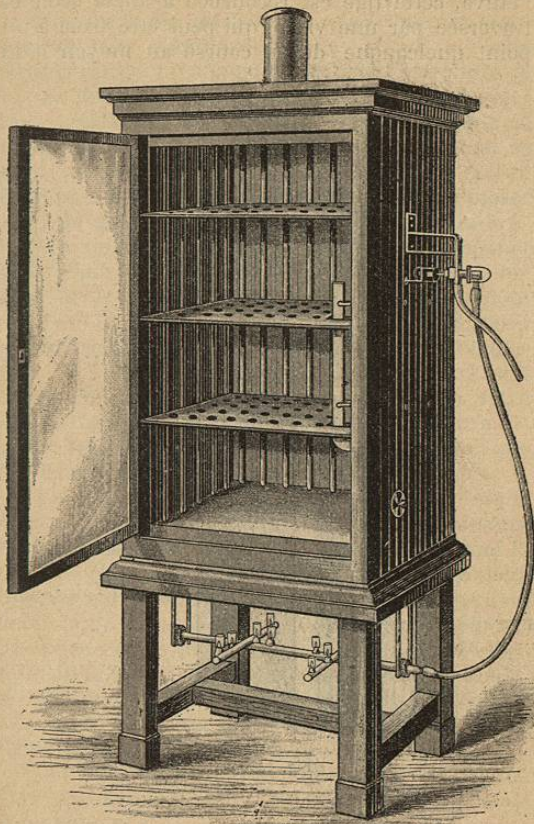


Fig. 24.

l'étuve, cette tige est recourbée à angle droit et traversée par une vis *p*, qui peut être fixée à un point quelconque de sa course au moyen d'un

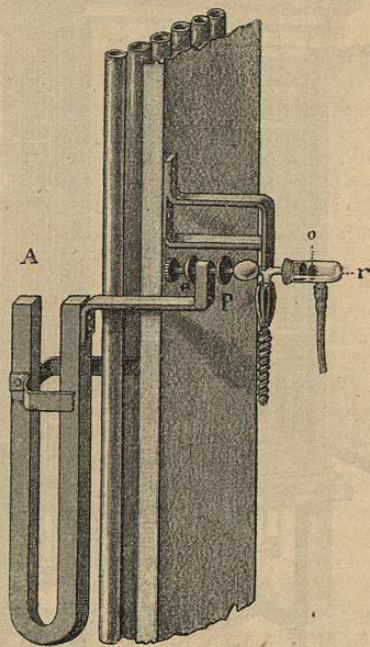


Fig. 24 bis.

écrou *e*. L'extrémité de cette vis peut être amenée au contact d'une petite soupape qui commande l'écoulement du gaz et qui complète l'appareil.

» Cette soupape *o* est formée par un obturateur

conique en laiton, fixé sur une tige qui traverse le tube d'arrivée du gaz. Un petit ressort placé dans ce tube même maintient l'orifice de sortie fermé tant qu'on n'appuie pas sur l'extrémité de la tige de l'obturateur, mais si celle-ci est légèrement repoussée le tube est ouvert, le gaz se répand dans la petite chambre en verre *r*, et se rend au brûleur par une tubulure. Une petite ouverture pratiquée dans l'obturateur laisse passer assez de gaz pour maintenir les flammes du brûleur en veilleuse quand la soupape est fermée. Cet obturateur joue donc le rôle d'un robinet sensible et facile à ouvrir au moyen d'un mouvement en ligne droite et peu étendu. Il est fixé à la paroi extérieure de l'étuve en face de la tige du régulateur, et à peu de distance d'elle, de façon qu'il soit actionné par elle quand on amène la vis à son contact. Un coup d'œil jeté sur la figure ci-contre fera mieux connaître le jeu de l'appareil que les détails que nous pourrions ajouter.

» Les choses étant ainsi disposées, pour régler l'étuve, on tourne la vis jusqu'à ce que, pressant sur l'extrémité de la tige, elle ouvre largement la soupape et on allume le brûleur. Lorsque le thermomètre placé dans l'étuve marque à moins d'un demi-degré la température que l'on veut atteindre, on tourne la vis jusqu'à ce qu'elle affleure l'extrémité de la tige. L'étuve est alors réglée : en effet, si elle se refroidit, les branches du régulateur s'écartent, et la vis appuyant de nouveau sur la tige, ouvre l'arrivée du gaz.

» Le fonctionnement est très régulier. Chaque étage de l'étuve a une température spéciale, mais constante. »

Étuve d'Arsonval. — L'appareil à double paroi (fig. 25) se compose d'un cylindre vertical terminé par deux cônes. L'étuve s'ouvre par une porte la-

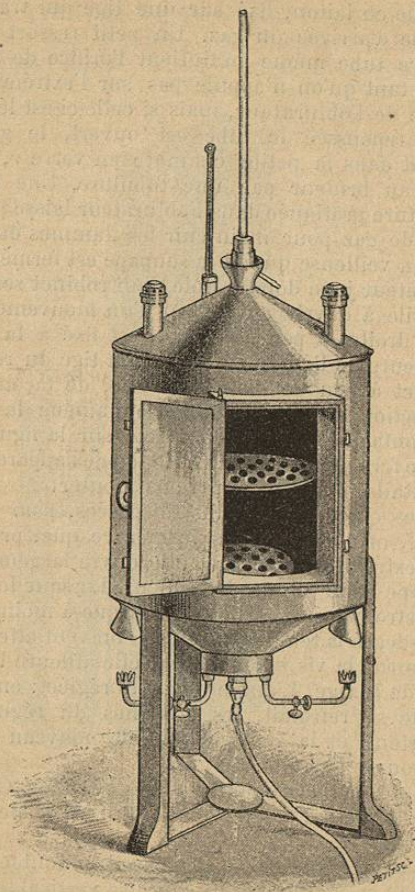


Fig. 25.

térale, et est divisée par une tablette en deux étages indépendants. Le cône inférieur porte le *régulateur* entièrement métallique et les deux brûleurs munis chacun d'un robinet d'arrêt. Le cône supérieur porte à son sommet la douille par laquelle se fait l'emplissage.

L'espace annulaire qui existe entre les deux corps de l'étuve est rempli d'eau.

Cette eau est chauffée par la flamme des brûleurs qui s'engage dans des tubes traversant le liquide, mode de chauffage analogue à celui d'une chaudière tubulaire.

Pour mettre l'appareil en marche, on verse par la douille centrale située au sommet du cône supérieur, de l'eau bouillie récemment, c'est-à-dire privée d'air. On allume les brûleurs.

Quand on veut fixer une température, il suffit, quand le thermomètre indicateur placé dans un orifice du cône supérieur marque cette température à un demi-degré près, de boucher la douille avec le bouchon qui porte un tube de verre vertical ; ce réglage est fait une fois pour toutes pour une température déterminée. Si on éteint l'étuve, elle retombera exactement au même point quand on la rallumera : l'appareil, par sa construction métallique, est indéréglable.

On se trouvera bien, croyons-nous, au lieu d'employer l'étuve d'Arsonval à régulateur métallique, trop souvent de construction défectueuse, d'employer l'étuve d'Arsonval que construit actuellement Wiesnegg. Le régulateur est l'ancien régulateur d'Arsonval à membrane de caoutchouc ; mais la forme primitive du corps de l'étuve a été modifiée, et se rapproche de celle figurée ci-dessus. Les manœuvres de remplissage, de réglage de ce modèle, sont de tous points celles que nous venons de décrire pour l'étuve d'Arsonval-Adnet.

Ces deux étuves peuvent répondre à tous les besoins. Un thermomètre doit être placé à chaque étage dans les premières opérations : un thermomètre placé à l'étage du milieu suffira plus tard, la différence de température entre les étages étant alors connue et restant constante. L'étuve de Roux réglée à 37°-38° recevra les cultures ordinaires. L'étuve d'Arsonval recevra celles pour lesquelles une température spéciale différente est nécessaire, à quelque titre que ce soit.

Il est cependant à noter que les objets placés dans des étuves (Roux, d'Arsonval, etc.) à air ne se mettent que très lentement en équilibre de température avec l'air ambiant. C'est un inconvénient grave, lorsqu'on veut préparer des vaccins, étudier l'influence d'une température donnée pendant un temps long sur tel ou tel microbe. Il faut alors ou employer des ballons séjournant depuis plusieurs jours à la température déterminée, ou, ce qui vaut mieux, les plonger à demi dans l'eau d'une étuve à eau munie d'un régulateur quelconque (Schlœsing, Roux, Chancel, etc.).

Cette étuve à eau peut se préparer extemporanément. Un récipient métallique quelconque, rempli d'eau à hauteur convenable et chauffé par un bec Bunsen ou Berthelot, relié au régulateur qui plonge dans l'eau, en fait parfaitement l'office.

Remarque générale. — Le bon fonctionnement d'une étuve quelle qu'elle soit exige un apport et une pression régulière de gaz.

Or, dans la pratique, cette condition fait le plus souvent défaut. On y remédiera en interposant sur le trajet du tube d'apport du gaz, un *régulateur Moitessier*.

III. — Filtration et appareils à filtrer.

En technique microbique, filtrer un liquide, c'est le priver de tout germe qu'il peut contenir, par filtration.

La filtration pourrait donc être employée pour préparer des milieux de culture stériles, et on réussit en effet par ce moyen à obtenir des bouillons clairs et purs. Mais, dans la pratique, la filtration s'applique presque exclusivement aux cultures liquides dont on veut enlever tous les germes de façon à disposer seulement du liquide de culture, et des produits élaborés par les microbes qui ont vécu et se sont multipliés dans ce liquide. Les microbes restent sur le filtre : le liquide et les produits solubles qu'il contient — produits de nature encore bien indéterminée — traversent le filtre et sont recueillis à la sortie.

Sans entrer largement dans cette grande question des produits sécrétés par les microbes pendant leur vie *in vitro*, nous pouvons dire qu'il existe trois procédés de *stériliser* une culture, c'est-à-dire d'en abstraire le microbe tout en conservant plus ou moins complètement toutes les substances qu'il y a élaborées pendant sa vie.

Le premier procédé est la *chaleur*. Mais « les produits microbiens sont souvent très altérables, et si quelques-uns supportent des températures élevées, il en est d'autres qui sont déjà modifiés à 50°, température impuissante à tuer sûrement les microbes ».

Le deuxième est la filtration au Chamberland : « Elle rend de grands services dans ces recherches, mais elle n'est pas toujours applicable ; elle retient sûrement les microbes, mais parfois elle arrête aussi certaines matières chimiques qui restent fixées à la terre poreuse. »

Le troisième procédé (Roux) « consiste à tuer les microbes par les essences. Celles-ci n'altèrent point les matières albuminoïdes ni les diastases, et elles ont un pouvoir antiseptique très énergique, ainsi que l'ont établi M. Koch, M. Chamberland et d'autres expérimentateurs. Les essences d'*ail* et de *moutarde*, par exemple, malgré leur faible solubilité dans les liquides, font promptement périr les microbes qui ne forment pas de germe. De plus, ces essences sont volatiles. Quand elles ont agi, on évapore le liquide dans le vide, et il reste un résidu qui n'a subi aucune réaction brutale et qui renferme les produits microbiens fixes. » (Roux, Congrès d'hyg. Londres, in *Annales Pasteur*, 1891, p. 519.)

L'appareil pratique par excellence pour la filtration des liquides chargés de microbes, c'est la *bougie Chamberland*.

La figure 26 représente en coupe et en aspect normal ce petit appareil si connu aujourd'hui, cette *bougie* en porcelaine dégourdie à 1200 degrés.

Toute bougie doit être *essayée* dans le laboratoire avant d'être mise en usage. L'opération est simple. Adaptez à l'extrémité conique de la bougie le tuyau d'une poire à air d'un pulvérisateur. Plongez la bougie dans l'eau, et soufflez en faisant fonctionner la poire. S'il se forme des bulles d'air dans le liquide, la bougie est fissurée, et doit être rejetée.

Toute bougie, après usage, doit être brossée à l'eau, soigneusement séchée à l'étuve, et passée dans une flamme de Bunsen ou soumise dans le four à flamber à 180° pendant deux heures, de façon à brûler la matière organique qui aurait obstrué ses pores.

Il existe divers appareils de filtration à l'aide de

la bougie Chamberland. Le meilleur nous paraît sans contredit être encore celui qu'a imaginé M. Chamberland et que montrent nos figures 27 et 27 bis.

L'appareil se compose de trois pièces qui se relient les unes aux autres pour le fonctionnement.

L'une de ces pièces est la pompe foulante P, mise en communication avec la pièce suivante R, par le tuyau métallique T.

La seconde pièce est le réservoir métallique R. Ce réservoir présente deux orifices : l'orifice supérieur O est large ; l'orifice inférieur o est de petite dimension : il conduit à une sorte de canal étroit c avec robinet H qui termine le réservoir à sa partie inférieure.

L'orifice O est obturé par une forte plaque de cuivre C ; l'obturation est assurée par des boulons se serrant à fond et une rondelle épaisse de caoutchouc entourant O. La plaque C vient appuyer fortement sur cette rondelle par le serrage des boulons.

La plaque C est percée de trois orifices qui communiquent ainsi avec la cavité de R.

L'un de ces orifices G est relié par un bouchon métallique creux au manomètre M ; le second, I, communique par un ajutage spécial avec le tuyau T de la pompe P ; un robinet Q ouvre ou ferme la communication de R avec T. Le troisième orifice,

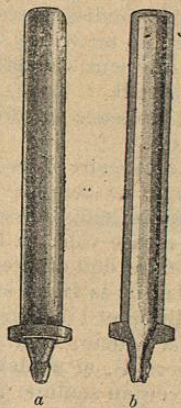


Fig. 26.

a, bougie Chamberland normale. — b, bougie Chamberland sectionnée verticalement.

enfin, K, est destiné à laisser passage au liquide à filtrer qu'on doit verser dans la cavité R. Un bouchon métallique à pas de vis, muni d'une rondelle de caoutchouc, obture cet orifice.

La dernière pièce de l'appareil est le cylindre métallique creux, V.

Ce cylindre représenté en coupe, figure 27 bis, présente un orifice supérieur L muni d'un pas de vis intérieur s'adaptant au pas de vis extérieur du robinet H.

Il présente un orifice inférieur largement ouvert N.

Le cylindre V reçoit la bougie filtrante. Cette bougie ne remplit pas exactement la cavité du cylindre, mais laisse en haut et à sa périphérie un espace vide. La bougie mise en place dans le cylindre doit obturer complètement l'orifice N et le fait de la façon suivante; les figures ci-jointes faciliteront l'intelligence :

La bougie, à sa partie terminale, présente un rebord U, et au-dessous de ce rebord une tétine percée au sommet d'un orifice E conduisant dans la cavité de la bougie.

Le rebord U vient appuyer par sa face supérieure sur le pourtour de l'orifice N; entre ce pourtour et U s'interpose une rondelle de caoutchouc *re*. L'application exacte du rebord de la bougie sur la rondelle de caoutchouc, et par conséquent sur le pourtour de l'orifice N, est assurée par le manchon métallique S qui, portant un pas de vis intérieur s'adaptant à un pas de vis extérieur que porte le cylindre V à sa partie terminale, vient, par le serrage, presser sur le rebord de la bougie et assurer ainsi l'obturation exacte de l'orifice N du cylindre V. Seule la tétine de la bougie émerge libre de l'orifice du manchon S. La bougie étant ainsi disposée, pas une goutte du liquide contenu

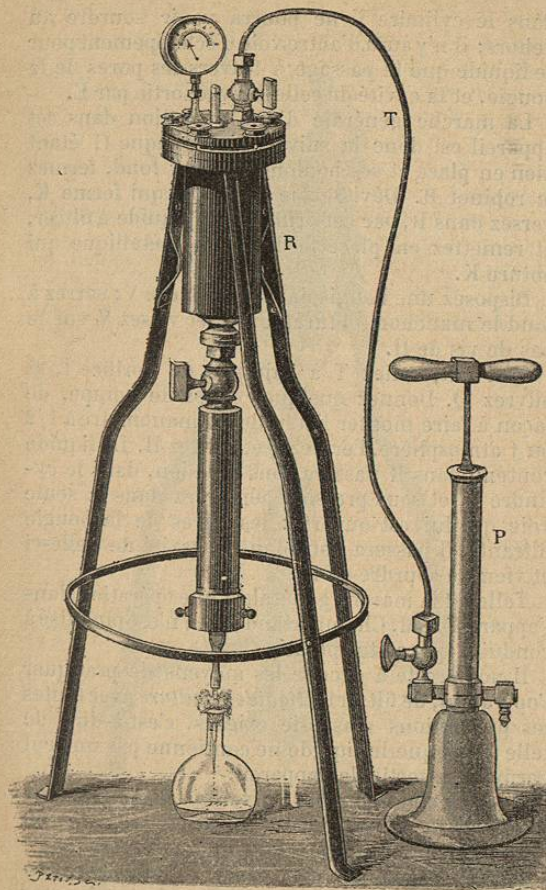


Fig. 27.

dans le cylindre V ne pourra venir sourdre au dehors; il n'y aura d'autre voie d'échappement pour ce liquide que le passage à travers les pores de la bougie, et la cavité de celle-ci avec sortie par E.

La marche générale d'une opération dans cet appareil est donc la suivante: la plaque C étant bien en place et ses boulons serrés à fond, fermez le robinet H. Dévissez le bouchon qui ferme K, versez dans R, par cet orifice K, le liquide à filtrer, et remettez en place le bouchon métallique qui obture K.

Disposez une bougie dans le cylindre V; serrez à fond le manchon obturateur S, et vissez V sur le pas de vis de H.

Ceci fait, reliez T à l'ajutage de l'orifice I, et ouvrez Q. Donnez quelques coups de pompe, de façon à faire monter l'aiguille du manomètre à 1/2 ou 1 atmosphère. Fermez Q et ouvrez H. Le liquide contenu dans R passera sous pression, dans le cylindre V, et sous pression pénétrera dans la seule voie qui lui est ouverte: les pores de la bougie filtrante. Il passera donc dans la cavité de celle-ci et viendra sourdre en E.

Telle est la marche générale d'une opération dans l'appareil de M. Chamberland; rien n'est plus aisé à conduire que cette opération.

Il nous reste à décrire les moyens de pratiquer l'opération, de filtrer un *liquide de culture* avec toutes les précautions d'asepsie exigées, c'est-à-dire de telle façon que le liquide ne contienne pas un seul germe à sa sortie de l'appareil.

Ces principes sont les suivants: filtrer sur une bougie stérile, stériliser toutes les voies de conduction du liquide filtré, et recevoir dans un vase stérile.

Prenez une bougie en bon état — nous connaissons les moyens d'éprouver les bougies — à pores libres, et parfaitement sèche.

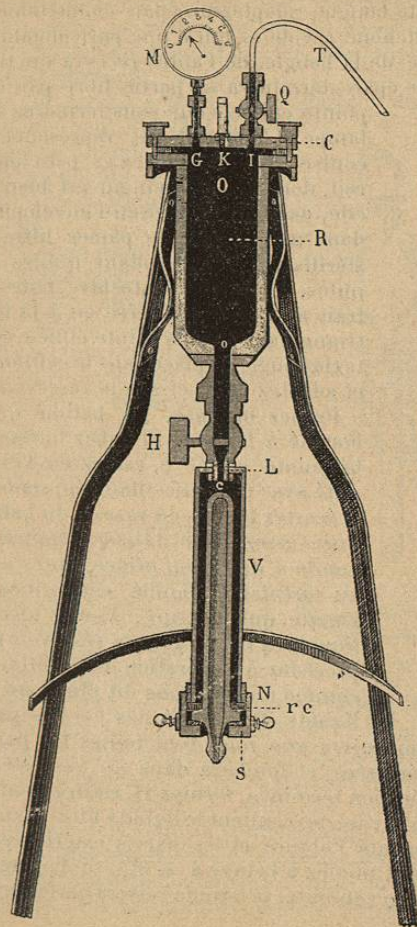


Fig. 27 bis.

A cette bougie, adaptez un épais caoutchouc — dit caoutchouc à vide — qui d'une part engainera la tétine de la bougie, de l'autre recevra un tube en verre épais, terminé à sa partie libre par une pointe effilée *e* que vous fermerez à la lampe. L'appareil est représenté ci-contre (fig. 28). Portez ce petit appareil, dont l'établissement est bien facile, dans l'autoclave en l'enveloppant dans une feuille de papier filtre, et stérilisez à 120° pendant quinze minutes. Retirez de l'autoclave, faites un trait au couteau à verre ou à la lime triangulaire, sur la pointe effilée, mettez la bougie en place dans le cylindre V et adaptez celui-ci sur le réservoir R.

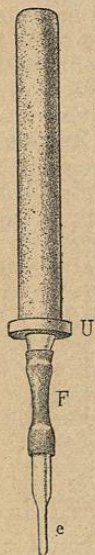


Fig. 28.

Prenez un vase, un ballon stérile bouché à l'ouate. Flambez fortement la pointe effilée *e*, cassez-en l'extrémité avec une pince flambée, soulevez et écartez l'ouate du vase ou du ballon, juste assez pour laisser pénétrer la pointe *e* dans son orifice, après avoir au préalable flambé cet orifice et l'ouate qui l'obture. Versez alors le liquide à filtrer dans le réservoir K et procédez à l'opération de la filtration, comme nous l'avons dit plus haut ; le liquide débarrassé des germes par la

filtration suivra une voie dont toutes les parties sont stérilisées, et tombera dans un vase stérile. L'opération terminée, fermez H, retirez avec précaution le vase qui contient le liquide filtré, flambez le coton qui l'obture et les parois extérieures de l'orifice et mettez à l'étuve à + 37°. Si l'opération a été bien conduite, le liquide restera parfaitement clair.

L'appareil Chamberland est d'un prix élevé, mais aucun autre ne donne autant de sécurité ; dans aucun autre l'opération ne se fait aussi rapidement et aussi sûrement,

B. La carafe à filtrer, de Kitasato, d'un prix modique, peut, à défaut de la pompe de Chamberland, rendre d'excellents services. En voici la description et le mode d'usage :

C'est une carafe (fig. 29) à parois épaisses, portant un large orifice supérieur et un petit orifice latéral muni d'une tubulure droite.

L'orifice supérieur recevra un bouchon en caoutchouc portant la bougie filtrante ; l'orifice latéral sera mis en communication avec la machine à vide.

La bougie filtrante est ici du modèle et de la dimension d'un tube à essai moyen, et, comme ce tube, ouverte à une extrémité, fermée à l'autre. On engage la bougie dans un bouchon en caoutchouc percé d'un trou, de telle façon qu'elle y pénètre à frottement. La partie ouverte de la bougie sera tournée en haut, son orifice affleurera l'orifice supérieur du bouchon. Ce petit appareil est alors engagé dans la carafe à vide. Le bouchon en caoutchouc doit obturer complètement et à frottement l'orifice supérieur de la carafe : la bougie se trouve ainsi partiellement libre dans la cavité de la carafe. Un entonnoir complète l'appareil. Cet

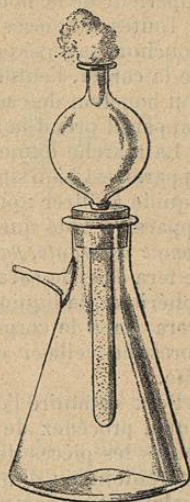


Fig. 29.

entonnoir est ordinairement de forme sphérique et muni à sa partie inférieure d'une courte tubulure. Cette tubulure pénètre dans un bouchon en caoutchouc percé, et ce bouchon est de telle dimension qu'il peut entrer à frottement dans l'orifice supérieur de la bougie filtrante.

Toutes les pièces de l'appareil étant en place, le bouchon traversé par la bougie et obturant l'orifice de la carafe, l'entonnoir adapté par le moyen de son bouchon de caoutchouc à la bougie filtrante, l'appareil prend la forme figurée ci-contre.

La marche d'une opération de filtration dans cet appareil est bien simple. Soit l'entonnoir rempli du liquide à filtrer : on relie la tubulure latérale à un appareil à vide quelconque — *trompe à eau, petite pompe aspirante, flacon aspirateur*, etc. ; — le vide se fera dans la carafe, et, sous la pression atmosphérique, le liquide placé dans l'entonnoir pénétrera dans le corps de la bougie, traversera les pores de celle-ci et viendra tomber dans la carafe.

Pour conduire l'opération d'une façon antiseptique, procédez de la façon suivante : Assemblez toutes les pièces de l'appareil, recouvrez l'orifice de l'entonnoir d'un tampon d'ouate, et disposez également un tampon d'ouate à l'orifice de la tubulure latérale. Portez alors dans l'autoclave à 120° pendant quinze minutes. L'appareil sera stérile en son entier, et prêt à l'usage. Pour y faire une filtration il n'y aura qu'à verser le liquide dans l'entonnoir, après avoir enlevé le tampon protecteur, et à relier la tubulure latérale débarrassée de son tampon d'ouate à la machine à vide.

La filtration par ce procédé est simple et l'appareil est peu coûteux, mais l'opération est longue. On devra toujours donner la préférence à l'appareil Chamberland.

C. On peut toujours avec une bougie du modèle ordinaire, une éprouvette, un vase à parois épaisses, un bouchon de caoutchouc à deux trous et deux tubes en caoutchouc, construire extemporanément un appareil de filtration parfaitement suffisant.

La figure ci-contre (fig. 30) montre le détail de

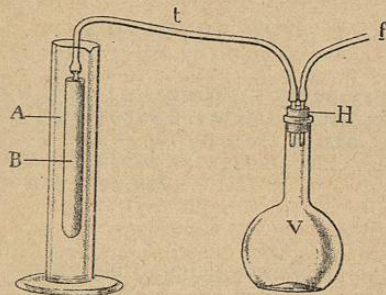


Fig. 30.

l'appareil, dont le mode de fonctionnement est des plus simples.

La bougie B plonge dans le liquide à filtrer contenu dans l'éprouvette A; la tétine de la bougie est tournée en haut. Par le tube t elle est reliée à l'un des tubes qui traversent le bouchon H, bouchon en caoutchouc à deux trous obturant à frottement le vase V. L'autre orifice du bouchon porte un tube f, relié à la machine à vide (trompe d'Alvergniat — petite pompe aspirante — flacon aspirateur, etc.).

Le fonctionnement est des plus simples. Le vide fait dans le flacon V appelle le liquide contenu en A. Ce liquide se rend en V, en filtrant sous la pression atmosphérique à travers la bougie B.

L'asepsie de l'opération s'obtient en stérilisant à

l'autoclave à 120° pendant quinze minutes l'appareil tout *monté*, filtre, tuyau de caoutchouc et vase V avec son bouchon à deux trous; le tube de verre libre, celui qui dans le fonctionnement portera le caoutchouc *f*, sera, pendant la stérilisation, fermé par un tampon d'ouate.

CHAPITRE IV

EXPIÉRIENCES SUR LES ANIMAUX. — INOCULATIONS. — RÉCOLTE DES PRODUITS PATHOLOGIQUES SUR LES SUJETS VIVANTS. — AUTOPSIE DES SUJETS. — CONSERVATION DE PIÈCES PATHOLOGIQUES. — DÉSINFECTION DES CADAVRES.

Les animaux sur lesquels porteront les expériences bactériologiques sont presque exclusivement le *cobaye*, le *lapin*, la *souris*, le *pigeon*, la *poule* et le *moineau*.

Le *chien*, d'un si grand emploi en physiologie, est réfractaire à la plupart des maladies bactériennes que nous passerons en revue : on n'aura donc que rarement l'occasion d'expérimenter sur lui.

Le *mouton* et le *porc* sont exceptionnellement employés à cause de leur valeur pécuniaire. Quant aux animaux de grande taille, ils sont beaucoup plus coûteux, par conséquent plus impropres encore aux expériences simples de laboratoire : nous n'en parlerons donc pas ici.

I. — Matériel général pour les expériences sur les animaux.

A. SERINGUES A INOCULATION. — Le modèle d'élection nous paraît être la seringue dite de Straus-