

## CHAPITRE II

### STÉRILISATION

Le grand principe énoncé par PASTEUR, et qui domine toute la bactériologie, consiste dans l'isolement des microbes à étudier. Il faut obtenir des cultures pures de chaque microbe, pour pouvoir en définir les caractères botaniques et les effets pathogènes spéciaux. Or, l'air, l'eau contiennent des microbes divers; tous les objets, nos mains, même propres en apparence, sont recouverts de poussières microbiennes; l'asepsie ne suffira donc pas pour obtenir des cultures pures; il faudra faire une antiseptie rigoureuse. Les récipients, les milieux de culture qu'on ne peut recueillir aseptiquement (bouillons gélatine, gélose, etc.), les instruments, etc., devront être stérilisés avec le plus grand soin. L'étude des méthodes de stérilisation et du maniement des appareils stérilisateurs est donc indispensable à tout bactériologiste.

La stérilisation peut s'obtenir par différents procédés.

#### § 1. — STÉRILISATION PAR LA CHALEUR

La chaleur est le plus sûr des agents de stérilisation. Aucun être vivant ne peut résister à une température suffisamment élevée. La plupart des microbes sont tués en quelques minutes par un chauffage à une température inférieure à  $+ 100^{\circ}$ ; néanmoins, certaines spores nécessitent pour être détruites une chaleur supérieure à  $+ 100^{\circ}$ . Aussi les appareils destinés à stériliser par le chauffage sont-ils nombreux; ils répondent aux différents buts recherchés. Enfin, certains milieux cou-

ramment employés ne peuvent supporter assez longtemps une température de  $+ 100^{\circ}$  sans s'altérer profondément; la gélatine, ayant été soumise à une ébullition prolongée, ne se reprend plus en masse. D'autres milieux, tels que le sérum, ne peuvent même être chauffés à  $+ 70^{\circ}$  sans se modifier. On a, dans ces cas, recours à un artifice (chauffage discontinu).

#### A) CHAUFFAGE CONTINU A $+ 100^{\circ}$ OU AU-DESSUS

La stérilisation s'opère, en une seule séance, à  $+ 100^{\circ}$  ou au-dessus, les objets ou milieux à chauffer ne s'altérant pas à cette température maintenue pendant un temps suffisant.

La chaleur peut être employée sèche ou humide.

**1° Stérilisation par la chaleur sèche.** — La chaleur sèche est celle qui agit à l'abri de la vapeur d'eau.

a. *Flambage.* — Le procédé le plus courant est le flambage. On promène rapidement, trois ou quatre fois de suite, l'objet à stériliser dans l'extrémité supérieure de la flamme d'une lampe à alcool ou d'un bec Bunsen à flamme chauffante, bleue<sup>1</sup>. Cette méthode est applicable aux instruments métalliques même tranchants, aux doigts de l'expérimentateur, à la peau de l'animal à inoculer, aux pipettes en verre, au coton ou au papier qui bouche les tubes ou ballons, aux orifices des récipients qu'on est obligé de déboucher. Il a été démontré qu'on

<sup>1</sup> Le bec Bunsen date de 1855. BUNSEN a tiré parti des propriétés que possède le mélange d'air et de gaz comme agent de chauffage. L'appareil se compose d'un tube vertical de laiton fixé sur un pied de fonte; le gaz arrive par une tubulure horizontale et entre dans le tube de laiton; il brûle à l'orifice supérieur. Une ouverture est pratiquée en bas du tube. Une virole qu'on peut mouvoir à l'aide d'une molette enveloppe la base du tube; elle porte une ouverture superposable à celle du tube. Si on la place de façon à obturer l'orifice, la flamme est normalement éclairante, molle, fuligineuse; si on superpose les orifices, le courant de gaz entraîne de l'air, le mélange se fait et la flamme devient bleue et rapide: chauffante. Dans le brûleur Wiesnegg les mouvements de la virole sont solidaires de ceux du robinet à gaz. Il existe des becs à veilleuse (fig. 34) qui se rallument d'eux-mêmes.



peut porter à  $+ 300^{\circ}$  les couches superficielles de l'épiderme sans occasionner de sensation de brûlure; de même les instruments sont stérilisés avant que la chaleur les détrempe, les bistouris peuvent donc conserver leur tranchant après un flambage rapide mais suffisant. On peut, de même, flamber les tampons de coton un peu serrés, les capuchons de papier sans les enflammer. On aura toujours soin de laisser les objets se

refroidir avant de les employer, sous peine, par exemple, de stériliser la culture puisée dans une pipette encore chaude.

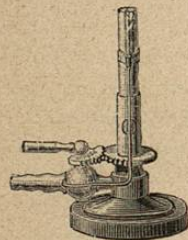


Fig. 34.  
Bec Bunsen à veilleuse.

Le bec Bunsen muni d'un long tube de caoutchouc servira à stériliser de haut en bas les goulots des flacons remplis de culture, qu'on ne voudra ou qu'on ne pourra pas pencher. En un mot, une lampe à alcool ou un bec Bunsen devront toujours être allumés à côté de l'opérateur qui examine, transpose ou inocule des cultures, qui fait une autopsie, etc.

b. *Chauffage au rouge*. — On peut porter au rouge, les aiguilles de platine (voy. p. 21). On attendra le refroidissement avant de s'en servir, surtout si le fil de platine est un peu gros. On chauffera également au rouge sur un bec Bunsen les bougies de porcelaine (voy. p. 36), qu'on désire « régénérer » après une filtration.

c. *Stérilisation à l'air chaud*. — On peut facilement porter à  $+ 150^{\circ}$  l'air d'un récipient métallique. Les appareils à air chaud servent à stériliser les objets en verre, la ouate, le papier, certaines seringues stérilisables, les instruments métalliques. Un séjour de vingt minutes à une heure suffit pour tuer tous les germes. Les récipients en verre seront bouchés avec un tampon de coton ou du papier à filtrer blanc (voy. p. 24). Les objets de verrerie tels que verres de montre, boîtes de Pétri, etc., seront enveloppés dans du papier à filtrer blanc pour pouvoir être retirés de l'appareil sans se contaminer au contact de l'air. Les plaques de verre de Koch seront contenues dans une boîte en cuivre spécialement construite

(voy. p. 30, fig. 26). La ouate à conserver stérile sera déposée dans un flacon à large ouverture, celle-ci bouchée par un tampon de ouate. Les instruments métalliques pourront être enveloppés de papier à filtrer. Tous les objets de verrerie seront soigneusement séchés pour éviter la possibilité du bris (voy. l'*Étuve à sécher* de Wiesnegg, p. 29).

La ouate non hydrophile et le papier à filtrer blanc changent de coloration de  $+ 140^{\circ}$  à  $+ 150^{\circ}$ ; ils deviennent *jaune clair*; cette teinte sera donc l'indice d'une bonne stérilisation. Un tampon resté blanc n'a pas été porté à  $+ 140^{\circ}$ ; un tampon trop roussi indique une température supérieure à  $+ 150^{\circ}$ . Il y a inconvénient à trop roussir les tampons de ouate qui perdent leur homogénéité et laissent échapper des produits huileux dans les flacons. Ces huiles sont antiseptiques et font aux récipients des taches très difficiles à enlever. Un objet ainsi souillé est devenu inservable. On pourra donc se servir d'un morceau de ouate pour apprécier la stérilisation d'objets ne comportant pas de tampons; on éteindra le gaz lorsque le morceau de ouate sera devenu jaune clair. La température de tous les appareils stérilisateurs à air chaud n'est pas la même dans toute la chambre à air; elle est beaucoup plus élevée vers le bas et le long des bords; on mettra donc la verrerie au fond et la ouate par-dessus: les tubes de verre bouchés au coton ou au papier seront en somme *placés verticalement*, l'orifice en haut. La source de chaleur éteinte, on laissera refroidir l'appareil avant de retirer les objets stérilisés qui seront placés dans une armoire fermée à l'abri de la poussière.

Le stérilisateur à air chaud le plus usité est le *Four Pasteur*. Il est bien entendu que son emploi ne peut s'appliquer qu'aux objets secs; aucun liquide, aucune substance évaporable ne doit y être introduite.

Le Four Pasteur (fig. 35) consiste essentiellement en un cylindre de tôle, à parois doubles, aussi bien latéralement qu'intérieurement. Une cheminée latérale sert au dégagement des gaz de la combustion. Un couvercle en tôle, muni d'un bouton, ferme l'ouverture supérieure. Ce couvercle est percé d'un orifice pour le passage du thermomètre qui sera fixé par un



bouchon en liège dans lequel il glissera à frottements. La chaleur est fournie par une couronne à gaz placée sous le fond. Un panier en toile métallique, exactement de la dimension du four, muni d'une anse, contiendra les objets à stériliser. Le tout en place (comme il a été dit plus haut), on allume le gaz

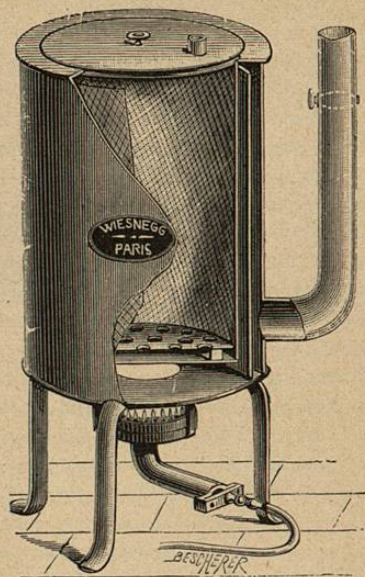


Fig. 35.  
Four PASTEUR.

(en ayant soin de présenter l'allumette enflammée avant d'ouvrir le robinet à gaz, pour éviter la formation d'un mélange détonant et une explosion pouvant être très dangereuse) et on laisse monter la température à  $+ 150^{\circ}$  ou  $+ 160^{\circ}$ . On règle alors par tâtonnement en ouvrant et fermant le robinet à gaz, pour obtenir une flamme qui chauffe à  $+ 150^{\circ}$  environ. Une demi-heure de chauffage à  $+ 150^{\circ}$  suffit en général à stériliser les objets contenus dans le four Pasteur. En pratique, on se

sert rarement du thermomètre; on ouvre le gaz à plein canal et on soulève de temps à autre le couvercle pour juger de la couleur de la ouate. On éteint dès que celle-ci commence à prendre la teinte jaune café au lait, en se rappelant que la chaleur est toujours plus intense au fond et le long des bords

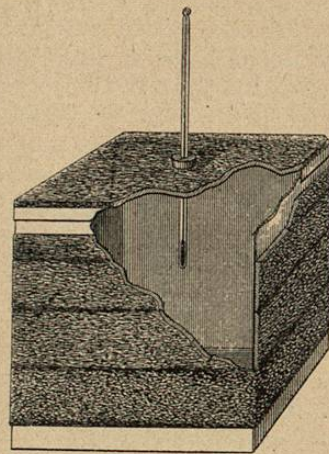


Fig. 36.  
Stérilisateur à air chaud de SALOMONSEN.

qu'au milieu du panier. Il faudra laisser refroidir la verrerie dans le four même: 1<sup>o</sup> pour éviter un brusque changement de température capable de briser les objets en verre: 2<sup>o</sup> pour que le rayonnement des parois, continuant pendant un certain temps, complète la stérilisation et roussisse la ouate du centre du panier.

SALOMONSEN fait remarquer qu'on peut construire soi-même une étuve à air chaud sans grand frais. L'étuve de Salomonsen (fig. 36) se compose d'une boîte à biscuits métallique (24 centimètres de hauteur, 22 centimètres de largeur, 24 centimètres de profondeur). Le couvercle est percé d'un orifice pour laisser passer un thermomètre gradué jusqu'à  $+ 200^{\circ}$ . Plusieurs



petits trous pratiqués dans les parois latérales près du fond et près du couvercle assurent la ventilation. Dans la boîte, on dispose une feuille de grillage en fer galvanisé, carrée et dont les côtés sont repliés en dessous, de façon à former une sorte de banc, distant du fond de 2 centimètres, pour que les objets à stériliser ne puissent toucher au fond. La boîte est recouverte de feutre, substance mauvaise conductrice de la chaleur, fixée par des tours de fil de fer. Le quart inférieur des parois latérales et la paroi inférieure sont libres de feutre pour éviter tout danger d'incendie. Les orifices à ventilation sont ménagés à la partie supérieure des parois latérales. On place la boîte sur un trépied en fer et on chauffe au gaz. Une lame de fer-blanc interposée empêche que le fond de la boîte soit détérioré par la flamme. Un petit fourneau à pétrole pourrait remplacer le gaz. On manie cette étuve comme le four Pasteur.

Le four Pasteur sera toujours préféré à l'étuve de Salomonsen dont le seul avantage est de pouvoir être construite partout et à peu de frais.

d. *Crémation*. — Tout laboratoire de bactériologie devrait posséder un *four crématoire* pour la destruction des animaux morts à la suite d'une inoculation virulente (voy. fig. 2, p. 5).

**2° Stérilisation par la chaleur humide.** — Le chauffage se fait dans un liquide ou dans la vapeur d'eau.

a. *Stérilisation dans l'eau ou l'huile bouillantes*. — On peut stériliser des instruments métalliques, des seringues, des objets de verrerie, en les maintenant dans un bain d'*eau bouillante*. On préférera un bain d'*huile* pour les instruments métalliques. Ce mode de stérilisation, quoique très parfait, a l'inconvénient de fournir des objets mouillés et se souillant au contact de l'air, au moment où on les retire du bain. La stérilisation par l'eau ou l'huile bouillantes sera continuellement employée par le bactériologiste pour un autre but : la stérilisation des cultures qu'on abandonne, des pipettes ayant servi à ensemençer, des instruments après l'autopsie, en un mot de tous les objets contaminés par des microbes pathogènes, qu'on

ne doit pas abandonner au hasard dans un laboratoire. Une grande marmite en fonte émaillée sera donc toujours prête à les recevoir, et sera tous les soirs remplie d'eau et portée à l'ébullition pendant une heure. On pourrait également stériliser ainsi de petits animaux morts d'affections contagieuses, en l'absence d'un four crématoire. Nous nous servons d'un grand récipient de 43 centimètres de hauteur sur 35 centimètres de diamètre transversal, en fer-blanc, muni d'un couvercle à manette et de deux fortes manettes latérales. Ces dimensions permettent de stériliser des objets volumineux.

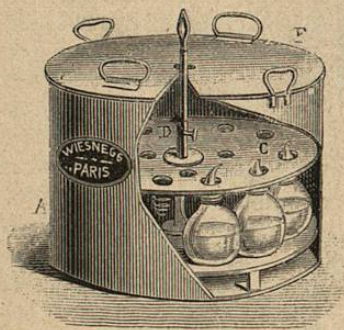


Fig. 37.

Bain-marie, à chlorure de calcium, de PASTEUR.

On peut obtenir des températures supérieures à  $+ 100^{\circ}$  avec des bains d'huile ou avec des *solutions salines*. PASTEUR avait fait construire un appareil à bain-marie à chlorure de calcium. Il s'agit d'une chaudière en cuivre rouge brasé, munie d'un support intérieur qui sert à fixer les ballons remplis de bouillon à stériliser et les empêche de se heurter pendant l'ébullition (fig. 37).

b. *Stérilisation par la vapeur sans pression*. — C'est le procédé de Koch. Les objets sont ainsi maintenus à  $+ 99^{\circ}$  ou  $+ 100^{\circ}$  (suivant l'altitude) dans la vapeur d'eau. Or, à température égale, la vapeur stérilise plus rapidement que l'air atmosphérique, et la chaleur humide pénètre plus complètement les



objets que la chaleur sèche. Ce mode de stérilisation est surtout applicable aux substances liquides ou évaporables.

Le stérilisateur à vapeur de Koch (fig. 38) est peu coûteux. Il

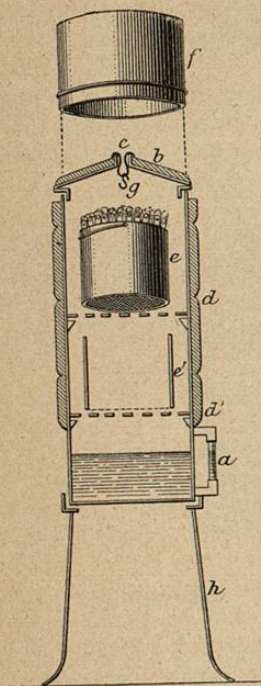


Fig. 38.  
Stérilisateur à vapeur de Koch (schématique).

consiste en un cylindre métallique dont les dimensions habituelles sont : hauteur, 50 centimètres ; diamètre, 17 centimètres. Le fond devant être rempli d'eau, le niveau de celle-ci est indiqué par un petit tube de verre extérieur (a) communiquant avec le réservoir intérieur. La lame inférieure, en fer blanc, devant être en contact avec la flamme, est plus épaisse que les lames latérales. Un couvercle conique (b) ferme l'orifice supérieur ; il est percé d'un trou (c) destiné au bouchon de liège qui entoure le thermomètre. Du feutre recouvre tout l'appareil jusqu'à 10 centimètres du fond. A l'intérieur du cylindre, à 14 et 30 centimètres du fond, sont des rebords saillants pour soutenir deux plateaux en fer-blanc percés de trous (d, d'). Des paniers métalliques mobiles (e, e'), de 12 centimètres de haut et de 14 centimètres de diamètre, dont le fond est constitué par un grillage à larges mailles en fer galvanisé, reposent sur ces plateaux. Les objets à stériliser sont placés dans ces paniers. Un cylindre métallique (f) peut s'interposer entre le cylindre et le couvercle, et augmenter la hauteur de l'appareil, pour stériliser des objets très longs. On peut encore suspendre ces derniers à un crochet surajouté (g) et supprimer les paniers et plateaux. Un robinet (qui n'est pas représenté dans la figure) sert à faire écouler l'eau ; il

n'est pas indispensable. L'ensemble de l'appareil sera placé sur un trépied solide (h).

Pour faire marcher l'appareil, on le remplit d'eau à une hauteur de 10 centimètres ; on met en place paniers, couvercle, thermomètre ; on allume le gaz jusqu'à ébullition de l'eau. Bientôt la vapeur s'échappe autour du couvercle et le thermomètre marque  $+ 100^{\circ}$ . A partir de ce moment, on laisse brûler le gaz pendant une ou trois heures, pour que la stérilisation soit complète, puis on éteint. On voit que l'opération demande du temps et du gaz.

Il est facile, comme l'indique SALOMONSEN, d'organiser un stérilisateur à vapeur avec un simple pot de cuisine. On adapte au-dessus de celui-ci un cylindre métallique avec couvercle et garniture en feutre. Un rebord à 2 centimètres du bord inférieur sert à maintenir le cylindre sur le pot ; deux anneaux peuvent se fixer aux oreilles du pot.

Les autoclaves que nous allons décrire peuvent fonctionner sans pression et remplacer l'appareil de Koch, lorsqu'on veut seulement une température de  $+ 100^{\circ}$ . Le poêle de Koch n'est donc pas indispensable à un laboratoire.

c. *Stérilisation par la vapeur sous pression.* — Les spores de certains microbes ne sont tuées que par un chauffage à  $+ 120^{\circ}$ . Seuls les appareils stérilisant par la vapeur sous pression sont capables de les détruire ; seuls ils sont absolument sûrs ; ils sont donc indispensables au bactériologiste. La chaleur sèche ne pouvant être employée pour stériliser les milieux liquides ou susceptibles d'évaporation, on soumettra ceux-ci au chauffage à  $+ 120^{\circ}$  dans les appareils à vapeur sous pression, à condition qu'ils ne s'altèrent pas à cette température (bouillon, pommes de terre, gélose, etc.). La gélatine, le sérum ne pourraient être ainsi stérilisés.

Tous les appareils servant à la stérilisation par la vapeur sous pression sont en définitive des *marmites de Papin* plus ou moins perfectionnées.

L'*autoclave de Chamberland* est l'appareil le plus commode et le plus répandu (fig. 39). Il se compose d'une marmite cylindrique en cuivre (A) qu'un couvercle en bronze (B) peut fer-



mer hermétiquement grâce à l'interposition d'une rondelle en caoutchouc. Le couvercle est muni d'un manomètre (C) qui indique la pression et par suite la température<sup>1</sup>, d'un robinet (D) et d'une soupape (E). Il est fixé par des bouchons mobiles

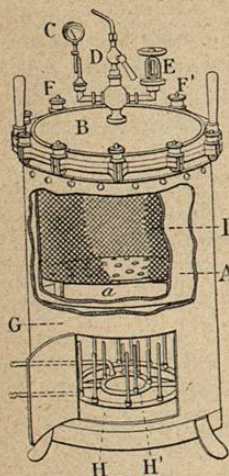


Fig. 39.  
Autoclave  
de CHAMBERLAND.

(F, F'); deux index gravés, l'un sur le couvercle, l'autre sur la marmite devant toujours être en regard l'un de l'autre. La marmite est supportée par une boîte en tôle (G) sous laquelle sont deux rampes à gaz circulaires (H et H') de diamètres différents, indépendantes l'une de l'autre. Un panier à fil de fer (I) recevra les objets à stériliser.

Pour faire fonctionner l'autoclave de Chamberland, on verse un ou deux litres d'eau dans la marmite, en *a* (il faut toujours une couche d'eau suffisante : 10 centimètres au moins); on place le panier; on visse le couvercle. On allume la petite rampe à gaz (H') (approcher l'allumette enflammée avant d'ouvrir le robinet à gaz<sup>2</sup>, voy. page 40) et on ouvre le robinet (D) jusqu'au moment où il s'en échappe un jet de vapeur. Ce robinet sert à purger l'autoclave d'air; sans cette précaution l'air se dilatant actionnerait l'aiguille du manomètre, concurremment à la vapeur d'eau, et la température donnée [indiquée ci-dessous d'après les tables de REGNAULT], calculée pour la vapeur seule, serait bien supérieure à la température réelle du mélange d'air et de vapeur de l'autoclave. Au moment où la vapeur s'échappe en jet du robinet, la température de l'autoclave atteint + 100°; on ferme alors le robinet (D) et on visse la sou-

<sup>1</sup> 0 atmosphères = 100°.

1 — = 120°.

2 — = 134°.

<sup>2</sup> Si un des becs brûle *en dedans*, il faut éteindre et rallumer.

pape (E). L'appareil entre en pression, et l'aiguille du manomètre monte. On pratique alors deux ou trois *détentes de vapeur*, c'est-à-dire qu'on ouvre le robinet (D) pendant quelques instants. Lorsque l'aiguille marque la pression qui correspond à la température cherchée (habituellement 1 atmosphère, c'est-à-dire + 120°), on règle l'arrivée du gaz par tâtonnement (flamme de un ou deux travers de doigt) et on dévisse la soupape (E) à la limite où elle retient le jet de vapeur, d'où le réglage de la pression qui ne peut monter plus haut. On ne compte le temps de la stérilisation qu'à partir du moment où l'aiguille du manomètre est immobile, indiquant que la température cherchée est fixe. Le temps voulu écoulé, on éteint le gaz, et on attend que la pression soit retombée à 0; on ouvre seulement alors le robinet (R)<sup>1</sup> : l'air rentre avec un léger sifflement. On dévisse le couvercle immédiatement; si on attendait le refroidissement, il y aurait adhérence assez difficile à vaincre entre le caoutchouc et le couvercle. Un changement toujours possible dans la pression du gaz (voir page 132 l'emploi du régulateur Moitessier) peut faire monter brusquement la pression de la vapeur d'eau et entraînerait une explosion si la soupape fonctionnait mal; il faut donc toujours surveiller son autoclave tant que la température n'est pas définitivement réglée.

L'autoclave de Chamberland, employé sous pression à + 115° ou + 120° stérilise, en vingt ou trente minutes, les milieux ou objets quelconques.

On peut l'employer *sans pression*, en ne fermant pas le robinet (D), et en ne vissant pas à fond les boulons du couvercle. L'autoclave peut donc fonctionner comme le poêle de Koch, stérilisant à la vapeur à + 100°.

On peut même stériliser la verrerie dans l'autoclave et se passer du four Pasteur. Le seul inconvénient est que les récipients et le coton contiennent un peu d'eau condensée après le refroidissement. Il faudrait alors sécher le coton. On voit en

<sup>1</sup> En ouvrant trop hâtivement on risquerait de faire sauter les bouchons de ouate des récipients trop pleins.



somme que l'autoclave peut suffire, à lui seul, à toutes les stérilisations nécessaires au bactériologiste.

#### B) CHAUFFAGE DISCONTINU A $+ 100^{\circ}$ OU AU-DESSOUS

Nous avons déjà dit que certaines spores microbiennes nécessitaient une température de  $+ 120^{\circ}$  pour être détruites<sup>1</sup>. Or, il est des milieux, employés couramment dans les laboratoires, qui ne peuvent supporter de pareilles températures. La gélatine, par exemple, ne peut être stérilisée à  $+ 120^{\circ}$ ; elle ne peut même être soumise trop longtemps à  $+ 100^{\circ}$ ; trop chauffée, elle ne se reprend plus en masse au refroidissement. Le sérum ne peut être porté à des températures dépassant  $+ 70^{\circ}$ , sans modifications qui rendent son emploi impossible. Il faut donc user d'artifices.

**1<sup>o</sup> Chauffage discontinu de Tyndall.** — TYNDALL a imaginé, en 1877, le *chauffage discontinu* pour stériliser l'infusion de foin sans appareils spéciaux. Celle-ci, contenant des spores de *B. subtilis*, ne pouvait être stérilisée par l'ébullition. TYNDALL eut l'idée de la chauffer plusieurs fois de suite à  $+ 100^{\circ}$ . Le premier chauffage tuait les bacilles et respectait les spores; celles-ci germaient ensuite et le second chauffage tuait les jeunes bacilles; au bout de deux ou trois chauffages toutes les spores avaient germé et tous les bacilles en provenant avaient été tués; l'infusion était stérile.

On se sert de ce procédé pour stériliser la *gélatine*. On lui impose deux séances de stérilisation, de vingt minutes chaque, dans la vapeur à  $+ 100^{\circ}$  (poêle de Koch, ou autoclave sans pression). La stérilisation est assurée, et la gélatine conserve ses propriétés.

**2<sup>o</sup> Stérilisation du sérum.** — KOCH a appliqué le principe de TYNDALL à la stérilisation du sérum.

On emploie aujourd'hui autant que possible du sérum

<sup>1</sup> Les spores du *Bacillus mesentericus vulgaris* peuvent même résister à  $+ 130^{\circ}$ .

recueilli aseptiquement (voy. page 74), et n'ayant donc pas besoin d'être stérilisé.

Lorsqu'on veut se servir comme milieu de culture du sérum provenant d'un sang puisé sans précautions, à l'abattoir par exemple, (voy. page 92, le modèle de cristalliseur pour recueillir le sérum à l'abattoir), il faut tuer les germes qu'il contient. Or, le sérum se coagule à  $+ 70^{\circ}$ ; on ne pourra donc atteindre cette température si on veut l'employer liquide.

Est-il destiné à être utilisé coagulé, le sérum ne peut cependant être exposé à des températures supérieures à  $+ 75^{\circ}$ , sous peine de devenir absolument opaque. Il faut donc stériliser le sérum liquide à  $+ 58^{\circ}$ - $60^{\circ}$  et le sérum solide à  $+ 70^{\circ}$ - $75^{\circ}$ . KOCH chauffe chaque jour son sérum, pendant une demi-heure, à ces températures, et cela cinq ou six jours de suite.

Nous nous étendons, au chapitre III, sur la technique du mode de préparation du sérum.

Ajoutons de suite cependant que cette stérilisation à  $+ 60^{\circ}$  ne serait pas applicable à d'autres milieux que le sérum; ce dernier n'est pas un bon milieu de culture pour la majorité des bactéries et sa stérilisation est plus aisée que celle du bouillon par exemple.

#### C) PASTEURISATION

On désigne actuellement sous le nom de *Pasteurisation* un mode de chauffage à une température inférieure à  $+ 100^{\circ}$ , capable d'arrêter pendant un certain temps la germination des microbes, sans toutefois aller jusqu'à la stérilisation absolue. Cette opération a l'avantage de ne pas altérer les propriétés des liquides chauffés. PASTEUR l'a appliquée à la guérison des maladies des vins. On l'emploie journellement pour le lait, qui peut ainsi être transporté au loin, la fermentation lactique étant retardée de quelques jours. La pasteurisation, n'est qu'une stérilisation incomplète, elle intéresse l'hygiéniste plus que le bactériologiste. Cette méthode ne peut stériliser que des substances difficilement contaminables, telles que le sérum (voir plus haut).



Nous répéterons au chapitre III, à propos de chaque milieu nutritif, la méthode de stérilisation qui lui convient le mieux.

## § 2. — STÉRILISATION PAR LES SUBSTANCES ANTISEPTIQUES

Les antiseptiques sont trop infidèles pour être couramment employés par le bactériologiste.

On aura cependant constamment sous la main une solution de sublimé à 1 ou 2 p. 1 000<sup>1</sup> qui servira au nettoyage des mains, des téguments des animaux à inoculer ou à opérer. On pulvérisera du sublimé dans les cages à désinfecter. On verra, au chapitre III, que le sublimé sert à la préparation des pommes de terre comme milieu de culture. Il est utilisé pour stériliser les capuchons de caoutchouc des tubes à essai contenant les milieux solides.

Les solutions phéniquées faibles et fortes auront également leur usage.

Différentes solutions (créoline, lysol, etc.) servaient jadis à stériliser les seringues à injections; aujourd'hui les pistons de cuir ayant disparu, toute seringue doit être stérilisable par la chaleur.

Les acides minéraux forts seront utilisés pour détruire les microbes des grands récipients, pour nettoyer les dalles en pierre, etc.

Enfin, l'avenir dira si les vapeurs antiseptiques (formol, etc.) auront leur emploi marqué dans la désinfection des laboratoires, étuves, cages, etc.

On se rappellera la loi formulée pour la première fois par CHAUVEAU et ARLOING : la puissance antiseptique d'un liquide augmente s'il est employé *chaud*.

E. ROUX (1891) a préconisé les essences. Celles-ci ont un pouvoir bactéricide très énergique et n'altèrent pas les substances

<sup>1</sup> Rappelons qu'il faut ajouter 100 parties d'alcool à un litre d'eau pour assurer la solubilité de 1 gramme de sublimé. Un peu de chlorure de sodium aura les mêmes effets. Enfin 0<sup>gr</sup>,50 d'acide acétique par litre éviteront les précipités.

albuminoïdes, ni les diastases. Les essences d'*ail* et de *moutarde* sont les meilleures. Comme elles sont volatiles, on peut s'en débarrasser ensuite, en évaporant dans le vide.

## § 3. — STÉRILISATION PAR LA FILTRATION

La chaleur ne peut être employée dans tous les cas. On a alors recours à la filtration. Lorsqu'un corps, liquide ou gazeux, traverse une couche d'une substance solide, il lui abandonne successivement les particules solides qu'il renferme; si les pores sont suffisamment fins, si la couche filtrante est assez épaisse, le gaz, le liquide, ainsi filtrés, ressortent privés de tous germes, ils sont stérilisés. La filtration joue un grand rôle dans l'hygiène naturelle. Si l'eau de source est parfois bactériologiquement pure, c'est qu'elle a filtré à travers une épaisseur convenable de terrain; l'eau de pluie, souillée de tous les germes atmosphériques et de tous ceux qu'elle a rencontrés à la surface de la terre, a fini par s'en débarrasser complètement, sauf cassure trop large faisant communiquer la source avec la surface. C'est sur le principe de la filtration que sont basés le système de l'épandage, la purification des eaux potables des villes, etc.; il suffit de quelques mètres de terrain, surtout s'il n'a pas été remanié depuis longtemps, pour retenir tous les germes de l'eau. En souvenir de tous ces faits, on a construit des appareils à filtration, destinés à stériliser les corps gazeux et liquides, dans les laboratoires de bactériologie.

**1<sup>o</sup> Filtration des gaz.** — La filtration de l'air s'opère à travers le *coton*. On bouche, avec un tampon de ouate moyennement serré, un tube de verre, un flacon de Mariotte, et on fait l'aspiration; le courant d'air, en traversant la ouate, abandonnera tous les germes qu'il contient. La filtration de l'air à travers le coton avait été instituée depuis longtemps par SCHWANN, DE SCHULTZE, DE SCHROEDER, VON DUSCH, etc., lorsque PASTEUR reprit ces expériences, et démontra péremptoirement l'arrêt des microbes dans le coton. Le coton est entré depuis lors dans la pratique journalière du laboratoire, et nous avons déjà vu, au



chapitre précédent, qu'un tampon de coton est l'intermédiaire le plus fréquent entre l'air atmosphérique et l'air stérile des récipients à cultures, avec ou sans aspiration. Le papier à filtrer, avons-nous dit également, suffit à intercepter les germes de l'air s'il n'y a pas d'aspiration (CHAUVEAU).

**2° Filtration des liquides.** — La filtration consiste en une séparation physique des liquides et des particules solides qu'ils contiennent.

a. *Substances filtrantes.* — On filtre à travers des substances poreuses diverses.

On pourrait instituer un filtre avec une simple couche de sable stérilisé. Le premier filtre, fabriqué sur les indications de PASTEUR, était en plâtre. Une importante modification fut apportée par A. GAUTIER qui construisit un filtre en *porcelaine de Sevres dégourdie, filtrant de dehors en dedans*, grâce à l'aspiration. Le nettoyage du filtre était ainsi facilité, puisque seule la surface extérieure était encrassée. Après le plâtre et la porcelaine, on a employé l'alumine, l'amiante, la terre d'infusoires, etc.

b. *Rétention et modifications des substances solubles par les filtres.* — Il semble, au premier abord, que la filtration devrait être un procédé de choix pour la stérilisation à froid de tous les milieux liquides, et devrait supplanter le chauffage. Il n'en est rien. Tout d'abord, la filtration de tous les liquides visqueux (sérums, bouillons glycélinés, etc.) est impossible. De plus, on sait aujourd'hui que les *filtres retiennent*, non seulement les particules solides, mais encore nombre de substances solubles, de telle sorte qu'un milieu, ayant traversé un filtre, peut se trouver profondément modifié dans sa composition. Outre cette rétention de nombre de substances, qui appauvrit le liquide filtré, on peut observer des altérations chimiques ou physiques de certains corps. HUGOUNENQ a publié à ce sujet, en 1893, un travail<sup>1</sup> dont voici les conclusions :

<sup>1</sup> HUGOUNENQ, *Recherches sur le passage des solutions de caséine à travers la porcelaine*, Annales de chimie et de physique, avril 1893.

« 1° Les filtres en porcelaine laissent passer très inégalement les substances albuminoïdes; la porcelaine d'amiante paraît traversée plus facilement que le biscuit des bougies Chamberland;

« 2° Quelques substances albuminoïdes abandonnent à la surface extérieure de certains filtres un résidu qui ne traverse jamais, sans être pour cela fixé dans les pores de la porcelaine;

« 3° Cependant, une petite quantité d'albumine reste fixée dans la pâte du septum et résiste aux eaux de lavage; le dosage des solutions, aussi bien que la pesée exacte des appareils filtrants, montre que la proportion, très variable d'ailleurs, peut atteindre 12 à 15 p. 100.

« 4° La filtration à travers la porcelaine de certaines substances albumineuses s'accompagne de modifications chimiques. Des gaz se dégagent, la proportion de caséine précipitable par l'acide acétique subit une diminution considérable et qui, dans certains cas, peut atteindre le tiers du poids total.

« Les filtres d'amiante ou de porcelaine ordinaire ne laissent passer la caséine précipitable que si l'alcalinité, mesurée en acide sulfurique, atteint 1<sup>er</sup>, 50 par litre. Encore, à ce degré, la quantité de caséine précipitable reste faible, et pour obtenir un rendement meilleur, il est nécessaire d'alcaliniser plus fortement les liqueurs.

« 5° On ne peut pas conclure de la composition chimique d'un milieu de culture contenant des matières albuminoïdes à la composition chimique de ce même milieu après stérilisation sur bougie. »

ARLOING<sup>1</sup> a montré que les bougies en porcelaine ou en amiante retiennent une très notable proportion des substances azotées ou hydrocarbonées contenues dans le suc, si toxique, des pulpes de betterave ensilée. Chaque bougie retient inégalement ces substances; une bougie qui a déjà servi retient

<sup>1</sup> ARLOING, *Influence des filtres minéraux sur les liquides contenant des substances d'origine microbienne*, Ac. des Sciences, 1892, p. 1455.