

B. Voy. p. 691, les procédés de différenciation de ces vibrions.

Nota. — Il va sans dire que la technique de l'analyse de l'eau s'applique à l'analyse de tous les liquides, comme celle de l'analyse de la terre à tous les solides et celle de l'analyse de l'air à tous les gaz.

CHAPITRE XV

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE L'AIR

L'air contient beaucoup de microbes, mais est moins dangereux que l'eau comme propagateur des épidémies; son analyse bactériologique a moins d'importance.

§ 1. — GÉNÉRALITÉS

Résumons d'abord rapidement ce que l'on sait sur les microbes qui peuplent l'air. Énumérons les espèces qu'on en a isolées.

1° Découverte des microbes de l'atmosphère. — L'opinion qui fait de l'air le réceptacle de germes causant des épidémies, remonte à HIPPOCRATE. Pendant la grande épidémie de choléra qui désola l'Europe en 1847-48, un grand nombre de médecins accusèrent l'air de propager la maladie. Pendant l'épidémie de 1853-54, THOMPSON et OSBORNE remarquaient qu'un flacon d'eau distillée placé dans une chambre de cholériques se peuplait de nombreux microbes. Mais il faut arriver à PASTEUR¹ pour trouver les premières expériences probantes sur l'existence des germes de l'air; c'était au cours de la mémorable campagne qu'il soutint contre les partisans de la génération spontanée.

La connaissance des germes de l'atmosphère a une grande

¹ PASTEUR, *Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère*, 1861.

importance en hygiène ; nous n'avons pas besoin de rappeler qu'elle a conduit aux découvertes de l'antisepsie et de l'asepsie en chirurgie.

2° Nombre et topographie des microbes de l'atmosphère. — Les microbes de l'atmosphère sont très nombreux ; il suffit de laisser débouchés, dans un laboratoire, des récipients à milieux de culture pour voir ceux-ci se peupler rapidement. Dans la vie journalière, tous les liquides organiques se putréfient s'ils ne sont pas stérilisés et mis à l'abri du contact de l'air.

Le nombre des germes d'un mètre cube d'air est excessivement variable. On peut dire d'une façon générale que les microbes sont d'autant plus nombreux qu'on analyse un air plus rapproché d'une agglomération civilisée. MIQUEL¹ s'est attaché à cette question. Voici quelques-uns de ses chiffres :

Air de la rue de Rivoli.	5 500 microbes par mètre cube.		
— du parc de Montsouris.	760	—	—
— de la mairie du IV ^e arrondissement.	462	—	—
— du Panthéon (74 mètres).	28	—	—

Dès qu'on pénètre dans une maison, dans une salle d'hôpital, le nombre des germes augmente dans la proportion de 4 à 8 ou à 12 : dès qu'on s'élève en l'air, le nombre diminue très rapidement. On peut même dire qu'à tout prendre une très petite partie de l'atmosphère, celle qui enveloppe immédiatement la surface peuplée de la terre, contient des microbes en proportion notable. Une cour de l'Hôtel-Dieu de Lyon contenait 1884 microbes et 833 moisissures par mètre cube par une température de 5° (Rossi)². Au contraire voici des chiffres provenant de lieux élevés et dus à DE FREUDENREICH :

¹ MIQUEL, *Organismes vivants de l'atmosphère*, Paris, 1883 ; *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, passim.

² Rossi, *Sur quelques numérations des bactéries de l'air dans les hôpitaux de Lyon*, Th. Lyon, 1890.

NOMBRE DES BACTÉRIES DANS 10 MÈTRES CUBES (10 000 LITRES).

Alpes bernoises (2 à 4 000 mètres)	0
Col du Théodule (3 350 mètres)	3,3
Lac de Thoune (560 mètres)	8
Hôtel de Bellevue (560 mètres)	25
Glacier d'Aletsch (3 000 mètres)	10

L'air de la mer, loin des côtes, est aussi pur que celui des hauts sommets. De 1884 à 1886, MOREAU et MIQUEL ont analysé 112 855 litres d'air marin, près ou loin des côtes, et n'ont trouvé que 102 microbes, soit 1 par mètre cube ; il n'y avait pas un seul microbe dans 9 980 litres filtrés en pleine mer. L'air est donc aseptique, dès qu'on s'éloigne des endroits habités. Cela est facile à comprendre, puisque les microbes tombent à terre, comme toute particule pesante, et que l'évaporation (même d'infusions putrides — MIQUEL) n'en entraîne aucun.

Il va sans dire que tous les chiffres précédents varient avec une foule de conditions. Les saisons ont une grosse influence. D'après MIQUEL, c'est en automne que l'atmosphère est le plus riche en germes (121 par mètre cube à Montsouris) et en hiver qu'il est le plus pourvu (53 par mètre cube). Les fortes chaleurs ensoleillées font beaucoup diminuer le nombre des germes de l'atmosphère. Le vent dissémine les germes ; soufflant d'une région chaude et humide, très peuplée, il apporte beaucoup de germes. MIQUEL a calculé qu'une masse d'air qui traverserait Paris, à raison de 4 mètres par minute, entraînerait 40 milliards de microbes par jour.

Dans les appartements l'agitation des poussières pollue l'air dans des proportions formidables. MIQUEL a vu que 1 gramme de poussière de son laboratoire contenait 750 000 germes, et 1 gramme de celle d'un appartement de la rue Monge 2 100 000. Le précepte est donc sage qui substitue le lavage au balayage.

3° Espèces microbiennes rencontrées dans l'air. — En principe, toutes les espèces microbiennes peuvent se rencontrer dans l'air, puisqu'il suffit d'agiter les poussières du sol pour infecter l'air ambiant. On trouvera dans l'ouvrage de MIQUEL

l'énumération des principales espèces rencontrées dans l'air : *M. tetragenus*, *M. prodigiosus*, *Mycoderma aceti*, *B. subtilis*, *B. amylobacter*, etc. On a trouvé dans les salles d'hôpital le *Staphylococcus pyogène*, le *Streptocoque pyogène* et autres microbes de la suppuration, le *B. tuberculeux* de Koch, le *Vibron septique*, le *Microbe de la septicémie de Davaine*, le *Microbacterium agile*, le *Pneumocoque*, etc.

Malgré la grande richesse de l'air en microbes plus ou moins dangereux, la propagation des maladies par l'air est beaucoup moins à redouter que la propagation par l'eau, par les aliments, en raison des appareils protecteurs de nos voies respiratoires, et de la grande dilution des germes. Cependant MIQUEL a vu que les crues bactériennes observées à Montsouris coïncidaient avec un accroissement de la mortalité à Paris ou plutôt le précédaient ; de même, dans les pays chauds, le minimum de mortalité est en été, au moment où le nombre des germes diminue. Il est vrai que cet accroissement microbien de l'air pourrait être parallèle à celui des maladies infectieuses sans en être la cause, les mêmes influences cosmiques agissant sur les microbes de l'air et sur ceux de l'organisme humain.

Le danger des poussières et par conséquent de l'air dépend de la résistance de chaque microbe à la dessiccation, à la lumière, etc. Citons un exemple : le *B. tuberculeux* résiste au moins cent cinquante jours (CADEAC et MALET), et probablement beaucoup plus, à la dessiccation dans les poussières.

§ 2. — ANALYSE QUANTITATIVE

PASTEUR a eu le premier l'idée de faire développer, dans du bouillon, les microbes d'un volume d'air déterminé filtré à travers du coton. MIQUEL, dès 1887, a obtenu une numération en fractionnant le bouillon ensemencé, comme il l'avait fait pour l'analyse quantitative de l'eau (page 397).

1^o Méthode du fractionnement en bouillon. Procédé de Miquel. — On fait barboter un volume d'air connu à l'aide d'un

aspirateur¹ dans une masse de bouillon contenue dans un ballon à trois tubulures (fig. 218). Le tube d'entrée de l'air plonge jusqu'au fond du bouillon ; le tube de sortie est garni d'un tampon d'ouate. L'opération terminée, on repousse le tampon de ouate dans le bouillon avec un fil de platine flambé. On agite le flacon et on répartit le bouillon en un nombre de petits ballons assez grand pour qu'une bonne

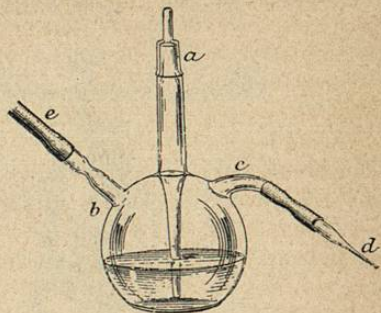


Fig. 218.

Matras barboteur de Miquel.

moitié ne se trouble pas. On porte les ballons à l'étuve, on compte les ballons troubles, et on calcule d'après le nombre des litres d'air qui ont barboté.

¹ On fera l'aspiration à l'aide d'une trompe quelconque (p. 31) ou avec deux flacons aspirateurs comme ceux représentés figure 219. La rapidité de l'écoulement est réglée par une pince de Bohème (c). Le volume d'eau écoulée étant connu, on saura le volume d'air aspiré. Lorsque le premier flacon (A) s'est vidé dans le flacon (B) on peut changer les flacons de position et noter simplement le nombre de changements des flacons opéré pendant un temps donné.

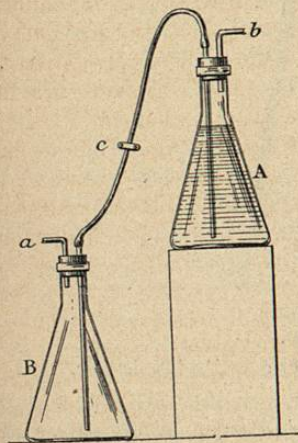


Fig. 219.

Dispositif pour l'aspiration de l'air.

Le premier *aéroscope* employé fut celui de POUCHET, en 1859. Le plus pratique est l'*aéroscope à girouette* de MIQUEL.

2° **Méthode du passage de l'air sur gélatine solide.** — Cette méthode s'emploie de deux façons différentes :

a. *Procédé de Koch.* — Koch (1881) a appliqué sa méthode de

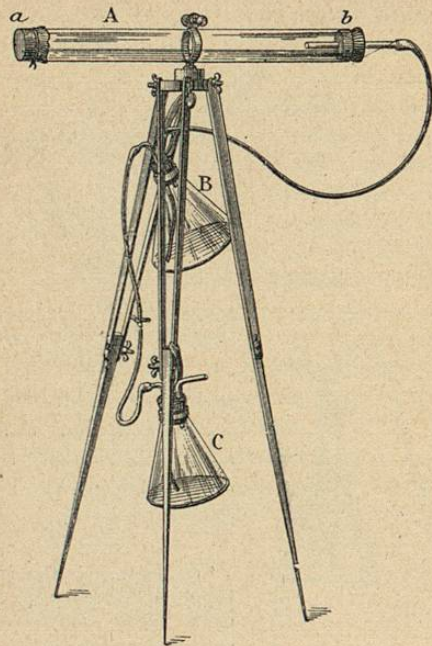


Fig. 220.

Appareil de Hesse pour cultiver les microbes de l'air.

cultures sur plaques à l'analyse de l'air en faisant passer un courant d'air sur une plaque de gélatine.

b. *Procédé de Hesse.* — Hesse¹ a perfectionné cette méthode (1884). Son appareil (fig. 220) consiste en un grand tube de

¹ HESSE, *Über quantitative Bestimmung der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen*, Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte, II, p. 182.

verre (A) ouvert aux deux bouts, long de 70 centimètres, large de 3^{cm}, 5. Une extrémité (a) est fermée par un capuchon de caoutchouc bien tendu percé d'un trou rond de 1 centimètre de diamètre ; l'autre est fermée par un bouchon de caoutchouc (b) laissant passer un tube de verre muni de deux tampons de ouate. On introduit 50 centimètres cubes de gélatine fondue dans le tube et on bouche l'extrémité (a) avec un capuchon plein ; le tout est stérilisé à l'autoclave sous pression. Au refroidissement, on tourne le tube d'après la méthode d'Esmarch pour enrouler la gélatine en couche mince sur tout le pourtour. On met alors le tube horizontalement sur un pied, on enlève le second capuchon de caoutchouc, et on adapte un aspirateur (B, C) au tube (b). Il ne faut pas faire passer plus d'un litre d'air par trois minutes. L'expérience finie, on met le tube à + 22°, et on compte les colonies au bout de quelques jours.

Cet appareil est encombrant et la gélatine se dessèche vite.

c. *Procédé de Miquel* (1895). — Un vase conique, à deux tubulures (t) et (t') (fig. 221) contient de la gélatine solidifiée. Une pointe de verre capillaire (A) traverse la gélatine ; elle est enlevée au commencement de l'expérience. On aspire par (t) un volume d'air connu, qui traverse ainsi le petit tunnel de gélatine, et y abandonne ses germes. On ferme alors (t') avec un bouchon de liège flambé. On fond doucement la gélatine. On a ainsi, une plaque, comme en boîte de Petri.

3° **Méthode de l'ensemencement en gélatine fondue.** — Plusieurs procédés peuvent être utilisés :

a. *Procédé de Frankland.* — FRANKLAND¹ fait passer un

¹ FRANKLAND, *The distribution of microorganisms in air*, Proceedings of the royal Society. London, 1886.

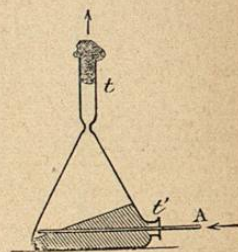


Fig. 221.

Flacon à gélatine de Miquel.

volume d'air connu à travers un tube de verre (A, C) muni de deux bourres de soie de verre (B et B') (fig. 222). Puis, chaque bourre est introduite dans un flacon contenant de la gélatine fondue; on agite et on étale d'après la méthode d'Esmarch. La dissociation de la soie de verre est très difficile.



Fig. 222.

Appareil de Frankland pour la captation des microbes de l'air.

L'air suit le trajet A, B', B, C.

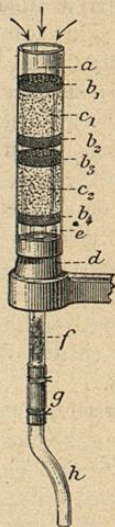


Fig. 223.

Appareil de Petri pour la captation des microbes de l'air.

L'air suit le trajet a, b, c, e, d, f, g, h.

b. *Procédé de Petri*. — PETRI¹ filtre sur du sable blanc très fin. Dans un tube de verre de 9 centimètres de long sur 1^{cm},5 à 1^{cm},8 de large, il dispose au moyen de culots en toile métallique

¹ PETRI, *Eine neue Method Bacterien und Pilzsporen in der Luft nachzuweisen und zu zählen*, Zeitsch. für Hygiene, 1887. Historique très complet de la question.

(b¹, b², b³, b⁴) deux amas de sable fin de 3 centimètres de longueur chacun (c¹ c²) (fig. 223). Les deux extrémités sont

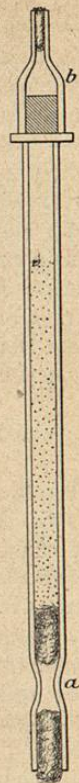


Fig. 224.

Tube de Miquel pour l'analyse bactériologique de l'air.



Fig. 225.

Tube de Salomonsen pour l'analyse bactériologique de l'air.

bouchées avec un tampon d'ouate et l'appareil est stérilisé. Pour s'en servir, on enlève les deux tampons et on met en communication avec un aspirateur puissant (d, f, g, h). On mêle ensuite

le sable à la gélatine fondue et on enroule celle-ci en tubes d'Esmarch. L'inconvénient de ce procédé réside surtout dans la résistance du sable au passage de l'air.

c. *Procédés de Miquel et de Salomonsen.* — MIQUEL a remplacé le sable par des poudres solubles qui disparaissent dans la gélatine : sucre de canne ou sulfate de soude anhydre (déjà préconisé par A. GAUTIER). Il recommande le tube de verre dessiné figure 224. Le tampon inférieur préserve des poussières extérieures. Le second soutient la poudre filtrante (8 à 10 centimètres) ; il est maintenu par l'étranglement (a). L'extrémité supérieure est bouchée par un capuchon rodé (b). On stérilise à + 170° pendant deux à trois heures. On enlève le capuchon (b) et on aspire de haut en bas.

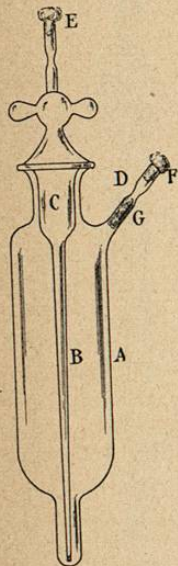


Fig. 226.

Appareil de Straus et Wurtz pour l'isolement des microbes de l'air.

pour retenir les bourres de coton. On met un tampon d'ouate à l'extrémité supérieure du tube (B), en (E).

L'appareil stérilisé, on verse dans le tube (A) 10 centimètres

¹ STRAUS, Sur un procédé perfectionné d'analyse bactériologique de l'air. Annales Pasteur, 1888.

cubes de gélatine et une goutte d'huile stérilisée (pour empêcher la gélatine de mousser pendant le barbotage). Le tout est stérilisé à l'autoclave à + 115° pendant quinze minutes.

On relie alors (D) à un aspirateur et on enlève la bourre (F). On tient l'appareil à la main pendant toute l'opération pour maintenir la gélatine liquide. On peut faire passer 50 litres en un quart d'heure. Le passage terminé, on remet une bourre en (F), on souffle par (D) pour faire monter plusieurs fois la gélatine en (B). On enlève la bourre (F) et on pousse avec un fil de platine stérilisé la bourre (G) dans la gélatine. On replace la bourre (F) et on agite. On enroule la gélatine sur les parois du tube (A) d'après le procédé d'Esmarch.

4° *Méthode du papier à la gelée de lichen.* — Le courant d'air de l'aéroscope est reçu sur une feuille de papier recouverte d'une gelée de lichen (voir p. 403). A l'aide de ce procédé, MIQUEL est parvenu à enregistrer, pour les différentes heures du jour, les colonies microbiennes provenant d'un volume d'air déterminé. Le papier porte une graduation horaire et tourne par un mouvement de pendule. La gelée est ensuite regonflée dans une cloche pleine de vapeur d'eau, etc., comme il a été dit page 404 à propos des procédés approximatifs d'analyse de l'eau.

§ 3. — ANALYSE QUALITATIVE

Nous pouvons répéter ici pour l'analyse qualitative de l'air tout ce que nous avons dit pour celle de l'eau. On se servira des mêmes moyens de diagnose pour différencier les colonies isolées par l'analyse quantitative. On préférera alors la *méthode de Frankland* qui permet la filtration de grandes quantités d'air ; l'aspiration peut fonctionner pendant plusieurs jours. On enlève alors les bourres et on les jette dans des tubes d'eau stérilisée qu'on agite en les maintenant à 0°. Cette eau et la bourre seront ensemencées dans de la gélatine fondue qu'on étalera en tubes d'Esmarch ou en boîtes de Petri.

Si on connaissait mieux les milieux nutritifs qui conviennent

plus spécialement à chaque espèce microbienne, on obtiendrait d'emblée des cultures en faisant passer un courant d'air sur une série de milieux. Il faudrait rechercher ces milieux spéciaux. Quelques exemples sont encourageants. G. Roux, voulant isoler le *Champignon du muguet* dans l'air des hôpitaux, réussit à obtenir des cultures pures en faisant passer de grandes quantités d'air soit dans la solution acide de touraillon, soit sur de la carotte, du citron¹. CHATIN² a isolé directement le *Streptocoque pyogène* en faisant barboter de l'air dans une décoction acide de touraillon à 5 p. 100, milieu proposé par G. Roux, en 1889.

A la campagne, malgré la présence sur le sol de microbes pathogènes très dangereux (*B. tétanique*, *V. Septique*, etc.), on n'obtient, même avec 100 mètres cubes d'air, que des poussières non pathogènes. Les poussières des villes sont plus dangereuses.

¹ VELLAT, Thèse Lyon 1892.

² CHATIN. *Recherches des Streptocoques dans l'air atmosphérique*. Th. Lyon 1893. On y trouve toute la bibliographie de la recherche des microbes de l'air.

CHAPITRE XVI

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE LA TERRE

L'analyse bactériologique de la terre n'a pas une grande importance pratique, au moins pour le pathologiste; aussi serons-nous bref à son sujet.

§ I. — GÉNÉRALITÉS

L'intérêt de la question réside dans la connaissance de la distribution des microbes dans le sol et de leur rôle au point de vue agricole.

1° Nombre et distribution des microbes du sol. — La surface du sol est souillée d'un nombre considérable de microbes provenant des poussières, des matières fécales, des organismes en décomposition, etc. Ces microbes se développent, en outre, sur place trouvant là un excellent terrain de culture. Leur abondance est donc toute naturelle surtout dans l'*humus*. Citons quelques chiffres se rapportant à la couche superficielle.

Colline sablonneuse, aride, près de Turin (MAGGIORA)	1 600
Sol voisin d'un égout à Paris (DUCLAUX)	64 000
<i>Humus</i> à Postdam (C. FRÉCKEL)	100 000
Jardin de l'Institut agronomique de Leipzig, argile (ADAMETZ)	500 000
Terre irriguée à l'eau d'égout (MIQUEL)	870 000
Boue des rues de Turin (MAGGIORA)	78 000 000