

Section for Biologists

1950

WORLD

INTERNATIONAL

PALEONTOLOGICAL

CONGRESS

MISSOURI

SMITHSONIAN INSTITUTION

EX-LIBRIS

UNIVERSIDADE
1934

COLLEGIO
1554

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA
LUIZ DE QUEIROZ

1062

2.08.7

616 014

W 971 t 2

J. J.

Ce volume est une publication de l'Encyclopédie scientifique des Aide-Mémoire; F. Lafargue, ancien élève de l'École Polytechnique, Secrétaire général, 169, boulevard Malcsherbes, Paris.

N° 13 A₂

ENCYCL

BAC

MASSON

TIRAGES DE

Boulevard

316 07

ENCYCLOPÉDIE SCIENTIFIQUE DES AIDE-MÉMOIRE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION

DE M. LÉAUTÉ, MEMBRE DE L'INSTITUT.

TECHNIQUE
BACTÉRIOLOGIQUE

PAR

LE D^r WURTZ

Professeur agrégé
à la Faculté de Médecine de Paris
Médecin des Hôpitaux

—

DEUXIÈME ÉDITION



PARIS

MASSON et C ^{ie} , ÉDITEURS,	GAUTHIER-VILLARS ET FILS,
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE	IMPRIMEURS-ÉDITEURS
Boulevard Saint-Germain, 120	Quai des Grands-Augustins, 55
(Tous droits réservés)	

On
bactér
taillé
ont été
logie.
la Dir
Aide-M
poser.
qu'un
d'abor
Les
dans c
ramm
maîtr
dans
ordre
tions
Sté

AVANT-PROPOS

—

On ne trouvera, dans ce précis de Technique bactériologique, ni l'historique, ni l'exposé détaillé des nombreuses méthodes techniques qui ont été préconisées jusqu'à ce jour en microbiologie. Conformément au programme tracé par la Direction de l'Encyclopédie Scientifique des Aide-Mémoire, nous nous sommes efforcés d'exposer, aussi clairement que possible, les notions qu'un débutant doit posséder à fond avant d'aborder l'étude proprement dite des microbes.

Les procédés de technique qui sont indiqués dans ce précis sont ceux que l'on employait couramment dans le laboratoire de mon regretté maître, M. le Professeur Straus. Ils sont exposés dans leur ordre logique, et c'est en suivant cet ordre que l'on devra exécuter toutes les opérations que ces procédés comportent.

Stérilisation, préparation et ensemencement

des milieux de culture, culture sur plaques, culture des anaérobies, description des étuves, procédés d'inoculation, autopsies, examen microscopique et coloration des microorganismes ; telle est la succession des différents chapitres de la technique bactériologique, ainsi que nous avons cru devoir l'exposer.

Comme application immédiate et pratique, nous indiquons la technique de l'analyse bactériologique de l'air, de l'eau et de la terre.

Enfin, dans un dernier chapitre, nous avons cru devoir donner, très succinctement, un résumé des principales méthodes employées pour isoler et séparer les substances sécrétées par les microbes. C'est qu'en effet, l'intérêt actuel de la bactériologie ne réside plus entièrement dans la morphologie ou la biologie des microorganismes, mais aussi dans l'étude des produits solubles qu'ils sécrètent et de l'action physiologique, vaccinant ou toxique, de ces produits. Les notions que nous donnons à la fin de ce précis sont loin de constituer un tout complet ; mais, comme elles ne se trouvent jusqu'à présent dans aucun manuel de bactériologie, nous pensons qu'elles pourront être de quelque utilité au lecteur.

Paris, 20 octobre 1897.

D^r R. WURTZ.

La
bactér
reté d
On
rentes
humid
1. 0
La ste
tuer.
la flar
stérili
pour
mém
acier.
Ma
s'effle
Paste

CHAPITRE PREMIER

— 3607

STÉRILISATION

La stérilisation est une opération capitale en bactériologie, car elle seule peut assurer la pureté des cultures.

On peut stériliser de plusieurs façons différentes : 1° par la chaleur sèche ; 2° par la chaleur humide ; 3° par filtration.

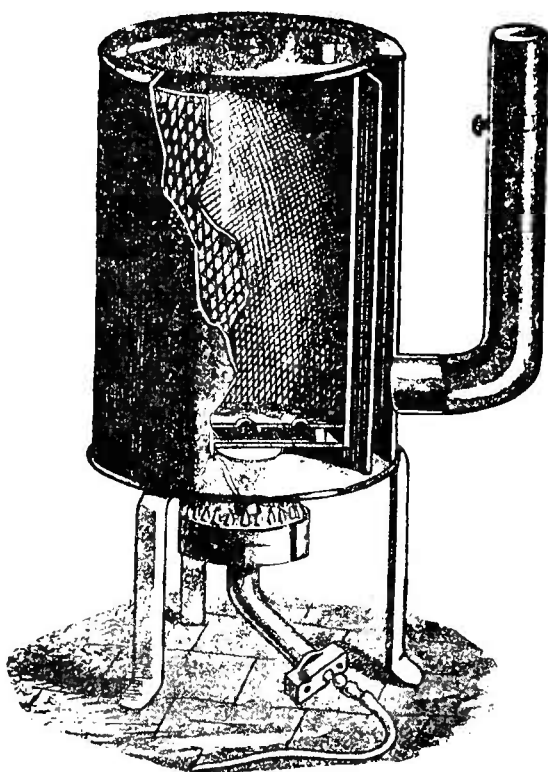
1. Stérilisation par la chaleur sèche. —

La stérilisation par la chaleur sèche peut s'effectuer, de la façon la plus simple, en passant dans la flamme d'un bec de gaz l'objet que l'on désire stériliser. C'est ainsi que l'on opère couramment pour les pipettes en verres, les fils de platine et même, si l'on veut, pour les instruments en acier.

Mais, la stérilisation par la chaleur sèche peut s'effectuer plus méthodiquement, à l'aide du *four* Pasteur. L'emploi de ce four ne peut s'appliquer

qu'à la verrerie et aux objets secs tels que les instruments, etc. ; tout récipient contenant une substance évaporable ne saurait y être stérilisé.

Fig. 1



Ce four (*fig. 1*) est un cylindre de tôle à double paroi et dont le fond, également double, est chauffé par une couronne de gaz. Il peut être fermé par un couvercle de tôle muni d'un bouton. Une cheminée placée latéralement sert au dégagement des gaz de la combustion.

STÉR

Co gran-
tément da-
que l'on v-
doivent et-
goutte d'es-
ferme le r-
Pour évit-
nant, il fa-
l'orifice de-
binet; un-
ment viol-
si l'on n'a-
bon de fai-
un robin-
sur laque-
amène le c-

La temp-
tenir une-
évaluée à l-
pratique,
objets à s-
ou bouc-
sation s'af-
couleur

De s-
qui se vent
filtre blanc

Un grand panier en fil de fer qui entre exactement dans le four, sert à y ranger les objets que l'on veut stériliser; les objets de verrerie doivent être rigoureusement secs, la moindre goutte d'eau pouvant en déterminer le bris. On ferme le four avec le couvercle et on allume. Pour éviter la formation d'un mélange détonant, il faut placer l'allumette enflammée sur l'orifice des becs de gaz avant de tourner le robinet; une explosion, avec projection extrêmement violente du fourneau, pourrait se produire si l'on n'observait pas cette précaution. Il sera bon de faire ajouter, pour plus de commodité, un robinet à la tétine dessinée sur la figure, et sur laquelle s'embranchent le caoutchouc qui amène le gaz.

La température qu'il faut atteindre, pour obtenir une stérilisation parfaite, pourrait être évaluée à l'aide d'un thermomètre, mais, dans la pratique, il n'est pas besoin de s'en servir. Les objets à stériliser étant presque toujours garnis ou bouchés avec de la ouate, on juge la stérilisation suffisante lorsque cette ouate est devenue couleur café au lait clair ⁽¹⁾. Si le panier est

(1) De même pour les verres à pied et les entonnoirs, qui doivent être recouverts d'une feuille de papier à filtre blanc.

rempli du haut en bas, il faut savoir que les objets placés au fond du four seront beaucoup plus chauffés que ceux qui sont près du couvercle ; de même, les objets situés près des parois seront stérilisés plus vite que ceux qui sont au centre. Il faudra donc surveiller attentivement les objets placés au fond du four ou près des bords, de façon à ce qu'ils ne soient pas soumis à une température dépassant la température voulue. En effet, si on néglige de lever de temps en temps le couvercle pour juger de la couleur de la ouate, ou si l'on quitte l'appareil, on manque l'opération. Il arrive alors que la ouate noircit, se carbonise et souvent même brûle lentement ; les objets de verre sont enduits d'une huile brunnâtre, extrêmement difficile à enlever.

En général, en ouvrant le gaz à plein canal, il faut 25 à 30 minutes environ pour stériliser. Lorsqu'on voit que la ouate commence à se teinter en jaune, on ferme le robinet et on attend, sans enlever le couvercle, que la température du four soit retombée à celle de la chambre. La chaleur rayonnante des parois suffit, après l'extinction du gaz, pour roussir convenablement la ouate, et, partant, à stériliser efficacement les objets contenus dans le four.

Lorsqu'on stérilise des plaques de Pétri ou

STÉRILISATION
bien un
au fond
permettra
tenue.
Ajoutez
de Pétri
il faut, par
brusque
se refroidir
après qu'

Un sé
subésc
de Ty
de la

2. Ster
- La
en A.
courant
L'emploi
d'être p
longue
Il v
beaucoup
munie
d'un

bien un objet non garni de ouate, on mettra au fond du stérilisateur une floche de ouate qui permettra d'apprécier le degré de chaleur obtenue.

Ajoutons que lorsqu'on stérilise ces plaques de Pétri ou tout autre objet en verre de Bohême, il faut, pour éviter qu'elles ne se brisent par un brusque changement de température, les laisser se refroidir quelque temps dans le four même, après qu'on a éteint le gaz.

Un second mode de stérilisation par la chaleur sèche est le *chauffage* par la méthode discontinue de Tyndall ; nous décrirons ce procédé à propos de la fabrication du sérum.

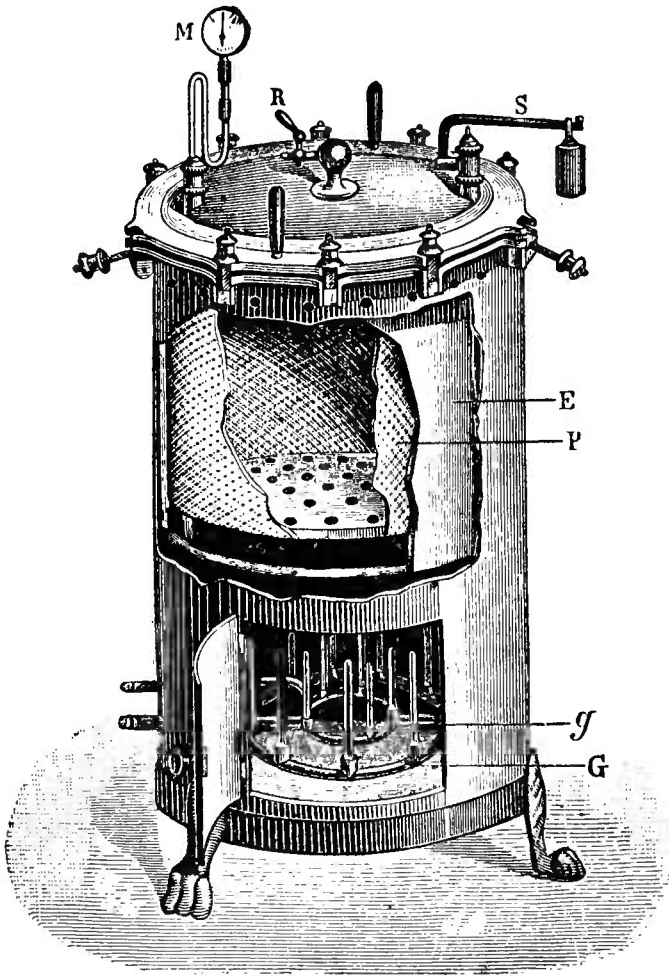
2. Stérilisation par la chaleur humide.

— La stérilisation par la voie humide s'opère, en Allemagne, dans les poèles de Koch, dans un courant de vapeur d'eau sans pression, à 100°. L'emploi de ces appareils, dont le seul mérite est d'être peu coûteux, nécessite une durée assez longue (une à trois heures environ).

Il vaut mieux employer l'*autoclave* de Chamberland (*fig. 2*) : c'est une marmite de Papin munie d'un robinet, d'une soupape de sûreté et d'un manomètre qui indique la pression, et par

suite, la température ⁽¹⁾. Les objets à stériliser sont placés dans un panier de cuivre.

Fig. 2



(1) 0 atmosphère correspond à 100 degrés.

1 atmosphère	//	à 120	//
2 atmosphères	//	à 134	//

STÉRILIS

L'obturation
couvre-le
boon. Deux
couvre-le
marmite de
l'autre, lorsq
cette pré-aut
trent pas exa
dants et l'ère

servir de l'app
to-lave est re
timètres d'ea
stérilisation
trop de re-ns

On place
la ouate, o
couvre-le et

On fera
de pla-er
avant de r

Le cas é
robinet pla
jet de vapr

pourqu
tables de
tre la temp
astique

L'obturation exacte entre la marmite et son couvercle est assurée par un cercle de caoutchouc. Deux index placés l'un sur la tranche du couvercle, l'autre sur la partie supérieure de la marmite doivent être mis en regard l'un de l'autre, lorsqu'on ferme l'autoclave ; faute de cette précaution, les vis avec leurs écrous n'entrent pas exactement dans les tenons correspondants et l'herméticité ne peut être obtenue. Pour se servir de l'appareil, on s'assure si le fond de l'autoclave est rempli d'eau. Une hauteur de 10 centimètres d'eau est suffisante pour une longue stérilisation et ne nécessite ni trop de gaz, ni trop de temps pour s'échauffer.

On place les objets à stériliser, bouchés avec la ouate, dans le panier en cuivre ; on ferme le couvercle et on allume le gaz.

On fera bien, comme pour le four Pasteur, de placer l'allumette enflammée sur la rampe avant de tourner le robinet.

Le gaz étant allumé, il faut laisser ouvert le robinet placé sur le couvercle, jusqu'à ce qu'un jet de vapeur continu sorte par son orifice. Voici pourquoi : le manomètre est gradué d'après les tables de Regnault, qui donnent les relations entre la température de la vapeur d'eau et sa force élastique. Si l'on n'a pas purgé l'autoclave d'air,

cet air, dilaté par la chaleur, actionnerait, en même temps que la vapeur d'eau, l'aiguille, et la température donnée par la lecture du manomètre serait de beaucoup supérieure à celle du mélange d'air et de vapeur d'eau contenu dans l'autoclave.

Quand on est assuré que l'autoclave ne contient plus d'air, on ferme le robinet et on laisse monter l'aiguille jusqu'au degré de température (marqué sur le manomètre) que l'on s'est assigné.

A ce moment, pour maintenir la température constante, on baisse la flamme du gaz jusqu'à ce que sa hauteur ne soit que d'un ou deux travers de doigt (suivant la température du laboratoire). En tâtonnant un peu, on arrive très vite à obtenir l'immobilité de l'aiguille du manomètre. On ne comptera le temps de la stérilisation qu'à partir de ce moment, lorsque la pression et, par conséquent, la température seront devenues fixes.

Quand le laps de temps nécessaire est écoulé, on éteint le gaz et on laisse la pression redescendre à 0°. Il ne faut pas, surtout lorsqu'on stérilise des tubes ou des ballons remplis de liquide presque jusqu'aux bords, lâcher brusquement la vapeur en ouvrant le robinet, une fois que le gaz est éteint. On risque, en effet, par une trop brusque décompression, de faire sauter les bou-

chons d
tubes, e
Nous
se sert d
l'aiguill
l'appare
peut su
du gaz,
subite de
pression
toclave ;
la marm
Si l'on
dans le p
pour d'
robinet d
ne pas vi
Disons
tion simp
pour d'ea
En effe
quemmen
l'eau. Pa
ments, s
à une au
ment bou
une marn

chons de ouate qui recouvrent les ballons ou les tubes, et, par suite, de manquer son opération.

Nous ne saurions trop recommander, lorsqu'on se sert de l'autoclave, de ne pas perdre de vue l'aiguille du manomètre. On ne doit point quitter l'appareil une fois qu'il est sous pression, car il peut survenir un changement dans la pression du gaz, changement déterminant une élévation subite de la température et, par conséquent, de la pression de la vapeur d'eau contenue dans l'autoclave ; il pourrait s'ensuivre une explosion de la marmite, si la soupape fonctionnait mal.

Si l'on veut stériliser à 100°, comme on le fait dans le poêle de Koch, dans un courant de *vapeur d'eau sans pression*, on n'a qu'à laisser le robinet du couvercle de l'autoclave ouvert et à ne pas visser ce couvercle sur la marmite.

Disons enfin qu'on peut stériliser par *l'ébullition simple*, sans employer l'autoclave ni la vapeur d'eau.

En effet, dans la pratique, on emploie fréquemment, pour stériliser, l'ébullition dans l'eau. Par exemple, pour désinfecter des instruments, scalpels, pincés, seringues, ayant servi à une autopsie, il suffira de les faire simplement bouillir, pendant un quart d'heure, dans une marmite ordinaire en fonte émaillée.

3. Stérilisation par filtration. — Pour priver un liquide de germes, on peut le filtrer à travers des bougies en porcelaine ou en alumine. Cette méthode ne peut naturellement s'employer que pour des liquides non visqueux. On sait, en effet, avec quelle difficulté les liquides contenant, même en faible proportion, des matières albuminoïdes, passent à travers des filtres en papier; cette difficulté serait encore plus grande si l'on filtrait ces liquides à travers des filtres en porcelaine. On ne devra donc employer des filtres que pour les liquides ne contenant que de petites quantités de matières albuminoïdes, tels que le bouillon (1). L'eau, les solutions de sels ou d'autres matières solubles dans l'eau peuvent être naturellement stérilisées par cette méthode.

On a imaginé un certain nombre de modèles de filtres; ceux que M. Pasteur fit, le premier, fabriquer, étaient en plâtre. A la même époque, M. A. Gautier en fit construire en porcelaine de Sèvres dégourdie, filtrant de dehors en dedans. Ce principe simple fut un grand perfectionnement pour l'emploi de ces filtres; il permet

(1) Les bouillons que l'on aensemencés avec certains microbes, par exemple avec le bacille lactique ou le *Vibrio Metchnikovi*, sont même tellement visqueux que leur filtration est très difficile et très lente.

de les nettoyer
 plement leur s
 germes se sépa
 par aspiratio
 proce de qu'il
 autre, et à l'a
 des appareils a
 point, car leur
 Les filtres
 tout sont les
 Supposons
 quantité de
 bouillon. V
 Le maste
 suivants:
 1° Une bou
 un cylindre d
 timètres de
 extrémités.
 Les bougies
 vent comme
 ne peuvent
 les scier à
 leur fond:
 2° une c
 latérale et
 large trou
 Warr -
 1

de les nettoyer commodément, en brossant simplement leur surface extérieure sur laquelle les germes se sont déposés. M. A. Gautier filtrait par aspiration, à l'aide d'une trompe; c'est ce procédé qu'il faut employer à l'exclusion de tout autre, et auquel on est revenu après s'être servi des appareils à pression, que nous ne décrivons point, car leur usage doit être déconseillé.

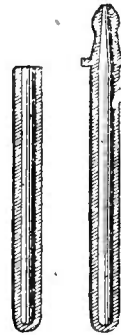
Les filtres dont on se sert couramment partout sont les bougies Chamberland.

Supposons qu'on veuille filtrer une certaine quantité d'une culture pure de charbon dans le bouillon. Voici comment il faut procéder :

Le matériel nécessaire se compose des objets suivants :

1° Une bougie Chamberland ; c'est un cylindre de porcelaine de 10 centimètres de long, fermé à une de ses extrémités, ouvert à l'autre (*fig. 3*). Les bougies à tétine (*fig. 4*), qui servent communément pour filtrer l'eau ne peuvent servir qu'à condition de les scier à 10 centimètres environ de leur fond ;

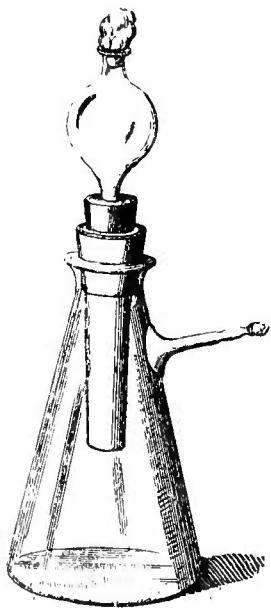
Fig. 3 Fig. 4



2° une carafe à filtrer, munie d'une tubulure latérale et fermée par un bouchon percé d'un large trou ;

- 3° un tube à brôme;
- 4° une trompe à eau pour faire le vide;
- 5° deux bouchons de caoutchouc à 1 trou;

Fig. 5



l'un pour boucher la carafe, l'autre pour fermer l'orifice de la bougie.

Voici comment on monte cet appareil imaginé par M. Kitasato (*fig. 5*):

On engage dans le large trou du bouchon qui bouche la carafe à filtrer, la bougie que l'on a soigneusement stérilisée en la chauffant sur un bec Bunsen ou sur la lampe d'émailleur. L'orifice de la bougie doit affleurer, juste au niveau du bou-

chon. On obture cet orifice avec le petit bouchon dans lequel on a fait passer le tube à brôme. L'appareil est dès lors prêt à servir. On met deux floches de ouate, l'une à l'orifice du tube, l'autre dans la tubulure latérale, et on stérilise le tout à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°.

On enlève la ouate qui bouche le tube à brôme, on verse le liquide que l'on veut filtrer

et on en-
rale sans

L'emp-
cautions
rapidem-

l'on se

Alvergn-

ajutages

binets,

pince à

Mohr),

qui rel-

trompe

cette pi-

de ferme

qu'on ve

le vide.

tion, l'e-

lit dans

aspirée

est plu

la trom

De

laisser

arrose

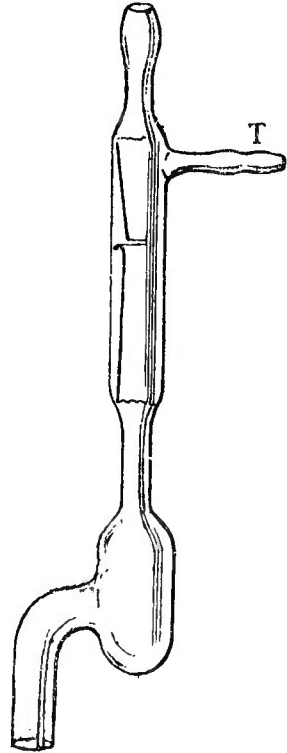
condu

se proc

et on embranche la trompe sur la tubulure latérale sans enlever le bouchon de coton.

L'emploi de la trompe nécessite quelques précautions que nous allons rapidement indiquer. Si l'on se sert de la trompe Alvergniat (*fig. 6*), sans ajutages métalliques ni robinets, il faudra placer une pince à pression (pince de Mohr), sur le caoutchouc qui relie la carafe à la trompe et serrer la vis de cette pince à fond avant de fermer le robinet, lorsqu'on veut cesser de faire le vide. Sans cette précaution, l'eau de la trompe jaillit dans la carafe où elle est aspirée par le vide qui y est plus parfait que dans la trompe elle-même.

Fig. 6

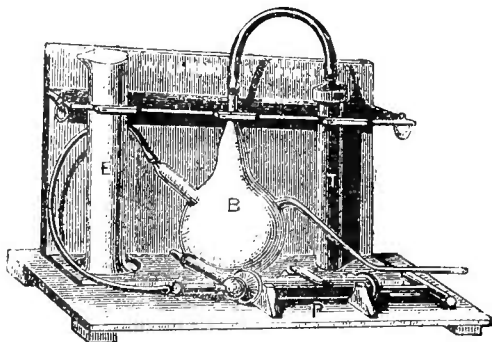


De même, il ne faut pas (surtout en été) laisser la trompe marcher toute la nuit. Si l'on arrose en ville, il y aura décompression dans les conduits du laboratoire et le même inconvénient se produira.

Si l'on n'a pas de trompe à sa disposition, on peut employer l'appareil de M. Chamberland ; il nécessite :

- 1° La même bougie Chamberland (*fig. 7. T*) ;
- 2° une coiffe en caoutchouc qui recouvre l'orifice libre de la bougie ;
- 3° une pipette de Chamberland B à trois tubulures ⁽¹⁾ ;
- 4° une petite pompe aspirante à main P.

Fig. 7



On place le liquide à filtrer dans une éprouvette E ; on relie la bougie à l'un des orifices de la pipette Chamberland avec un caoutchouc à vide, l'autre orifice à la pompe aspirante, et on fait le vide. La *fig. 7* fera d'ailleurs comprendre cette manœuvre ⁽²⁾.

(1) La troisième tubulure sert à décanter avec pureté.

(2) Pour filtrer des suc d'organes, soit avec la trompe et la carafe à filtrer, soit avec l'appareil Chamberland, il faut prendre une précaution indispensable : Après avoir haché, aussi menu que possible, les or-

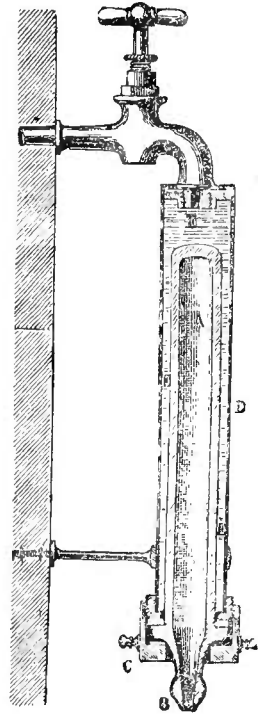
Dans
constan
comme
qui fond
bougie
le mem
courant
gies. A
de la v
un déb
l'on n'a
toire, a
sa disp
du pro
le débit
Il faut
stérile.
tion in
en été
stérilise
quemm
jours
mécom

ganes e
ce suc
dépou
ment ;

Dans un laboratoire de bactériologie, on a constamment besoin d'eau stérilisée. Nous recommandons l'usage de l'appareil ci-contre (*fig. 8*) qui fonctionne avec une seule bougie Chamberland. Il existe le même dispositif avec une couronne de plusieurs bougies. Avec la pression d'eau de la ville de Paris, on aura un débit très satisfaisant. Si l'on n'a pas, dans le laboratoire, d'eau sous pression à sa disposition, on se servira du procédé du siphon dont le débit est moins rapide.

Il faut, pour avoir de l'eau stérile, observer une précaution indispensable, surtout en été : c'est de nettoyer et stériliser la bougie très fréquemment, tous les quatre jours au moins, sans quoi l'on s'expose à des mécomptes. Il ne faut pas se contenter de bros-

Fig. 8



ganes et en avoir exprimé le suc, *il faut filtrer d'abord ce suc* sur du papier à filtre ordinaire. Ce filtrat rouge, dépourvu de parcelles d'organes, filtrera incomparablement plus vite à travers la bougie filtrante.

ser tous les cinq ou six jours le filtre, afin d'enlever la couche gluante et jaunâtre qui s'est déposée à la surface; il faut stériliser le filtre, soit à l'autoclave, soit mieux encore, sur la flamme d'une lampe à alcool, après qu'on l'a bien égoutté et desséché en le plaçant pendant quelque temps dans une étuve à 37°. C'est à cette seule condition que l'on sera sûr d'avoir constamment de l'eau stérile.

Lorsqu'une bougie a servi à filtrer des liquides albumineux, il est nécessaire d'employer certaines précautions pour la nettoyer et la stériliser, afin de pouvoir s'en servir de nouveau. Une stérilisation à l'autoclave ne suffirait pas, car les pores sont plus ou moins colmatées. Il faut faire sécher lentement la bougie à l'étuve à 37°, et, lorsqu'elle est rigoureusement sèche, la chauffer au rouge sombre sur la flamme d'un bec de Bunsen ou sur la lampe d'émailleur. Un mouffle de petit modèle, dans un laboratoire de quelque importance, rend dans ce cas les meilleurs services. On y chauffe progressivement les bougies jusqu'au rouge cerise. On devra vérifier avec soin s'il ne s'est produit aucune fêlure; les fêlures se voient mieux quand le filtre est à une température élevée que quand il est refroidi.

M. d
nieux q
usage
rate de
d'un fla
tubulur
clave ap
en laiss
Pour
bouillir
d'eau q
celui-ci
herméti
qui por
d'eau s
dans le
Venton

M. d'Arsonval a indiqué un moyen très ingénieux de filtrer à travers une bougie, sans faire usage de la trompe. Au lieu d'employer la carafe décrite ci-dessus, on se sert simplement d'un flacon conique en verre de Bohême, sans tubulure latérale. On stérilise ce flacon à l'autoclave après l'avoir muni d'un bouchon de ouate, en laissant quelques gouttes d'eau au fond.

Pour filtrer, on débouche la ouate et on fait bouillir, sur le bec de Bunsen, la petite quantité d'eau que l'on a laissée au fond du vase. Quand celui-ci est plein de vapeur d'eau, on le bouche hermétiquement, avec le bouchon de caoutchouc qui porte la bougie et l'entonnoir. La vapeur d'eau se condense, détermine un vide partiel dans le vase, et le liquide que l'on verse dans l'entonnoir filtre rapidement à travers la bougie.

CHAPITRE II

PRÉPARATION DES MILIEUX DE CULTURE

La préparation des milieux de culture est une des opérations les plus importantes de la technique bactériologique.

1. Récipients. — On répartit ces milieux dans des récipients en verre de différentes formes. Dans la pratique courante, on se sert de tubes à essais



Fig. 9

en verre mince de 0^m,15 de longueur sur 16 millimètres de diamètre; cette dimension est parfaitement suffisante pour la culture ordinaire en tubes. Avec un litre de bouillon, de gélatine ou de gélose, on devra faire de 110 à 120 de ces tubes. On ne doit les remplir qu'au quart de leur hauteur environ. Pour le bouillon, on emploie aussi de

petits ba
timètres
leur base
les ordi
l'on veut
cer de
quantité
de, pou
d'un exc
ge/fig. 1

Tous
pients de
bouchés
bouillon
ni trop s
tout app
dont l'ex
ture du
indisp
bouillon

(1) Ne
les pipet
ration d
fines, c
leur ext
on enve
qu'on

petits ballons d'Erlenmeyer (*fig. 9*) ayant 7 centimètres de haut et 5 centimètres de diamètre à leur base. Les fioles ordinaires, si l'on veut ensemen- cer de grandes quantités de liqui- de, pourront être d'un excellent usa- ge (*fig. 10*).

Tous ces réci- pients devront être bouchés avec un bouchon de ouate, ni trop serré, ni sur- tout trop lâche et dont l'extrémité supérieure débordera l'ouver- ture du tube (*fig. 11*) ⁽¹⁾; cette précaution est indispensable pour enlever commodément le bouchon de ouate. Enfin, tous ces différents réci-

Fig. 10

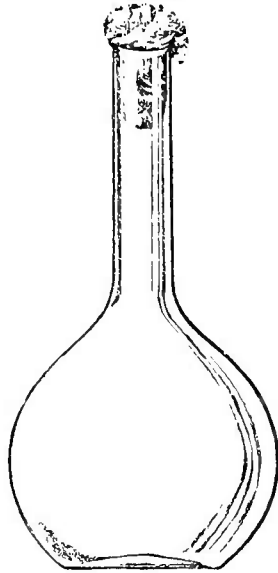


Fig. 11



(1) Nous recommandons la même précaution pour les pipettes Pasteur. Si l'on tasse trop le coton, l'aspi- ration devient impossible. Pour les pipettes graduées fines, comme on ne peut introduire de la ouate dans leur extrémité effilée sans s'exposer à en briser la pointe, on enveloppe toute la pointe dans une floche de ouate qu'on lie avec un fil sur le corps de la pipette.

ipients, tubes, ballons bien secs, etc., devront être stérilisés préalablement au four Pasteur, avant que l'on y répartisse les milieux de culture.

2. Préparation des milieux. — On a donné de nombreux procédés pour préparer les milieux de culture.

Voici ceux que nous recommandons, et qui étaient couramment employés dans le laboratoire de M. Straus.

A. Préparation du bouillon. — On hache assez menu 500 grammes de viande (veau, bœuf ou cheval); on met cette viande dans 1000 grammes d'eau et on laisse macérer pendant 24 heures *au frais* en hiver, dans la glacière ou dans une cave en été⁽¹⁾. On filtre grossièrement à travers un torchon propre ou mieux à travers plusieurs doubles de tarlatane. On exprime, par une torsion énergique, le plus possible du produit de la macération. On ajoute la quantité d'eau suffisante pour ramener le volume à 1000 centimètres cubes; on place le jus de viande dans un ballon de verre, ou mieux, dans une marmite en fonte

(1) Il n'est même pas indispensable de faire macérer la viande en été. On place la viande dans la marmite avec le litre d'eau, la peptone et le sel marin et on le chauffe immédiatement dans l'autoclave, comme il est indiqué p. 27.

émaillée
quera pa
ajoute :

P r t
S e t

On place
dans l'a
30 minut

un litre.

calinise

acide, av

réaction

nesol, d

si l'on

un boui

quelq

pendan

1 ou 2

laisse

nôn s.

préip

les tu

meyer

On les

penda

Il e

émaillée recouverte d'un couvercle qui ne risquera pas de se briser dans l'autoclave, et on ajoute :

Peptone	10 grammes
Sel marin	5 grammes.

On place la marmite recouverte de son couvercle dans l'autoclave; on chauffe à 125°, pendant 30 minutes pour deux litres, et 15 minutes pour un litre. On retire la marmite, on filtre, et on alcalinise le bouillon, qui a une réaction nettement acide, avec une solution de soude au 10° : la réaction du bouillon, vérifiée au papier de tournesol, doit être neutre ou légèrement alcaline; si l'on a ajouté trop d'alcali, ce qui donnerait un bouillon trouble, on devra neutraliser avec quelques gouttes d'acide lactique. On chauffe pendant 10 ou 15 minutes, suivant qu'il s'agit de 1 ou 2 litres, à 125°. le bouillon alcalinisé, qu'on laisse ensuite refroidir pendant 12 heures au moins. On filtre de nouveau pour séparer le précipité qui s'est déposé, et on le décante dans les tubes à essais, ou dans les ballons d'Erlenmeyer, stérilisés préalablement au four Pasteur. On les rebouche avec le coton et on les stérilise pendant 15 minutes à 115°.

Il est important de laisser refroidir le bouillon

avant de filtrer. Si on le filtre à chaud et que l'on stérilise ensuite, on trouvera, après refroidissement, un dépôt blanc assez abondant au fond de chaque tube, dépôt formé par des sels solubles à chaud et insolubles à froid.

Si l'on a fait le bouillon dans un grand ballon de verre, on peut simplement, si l'on veut, le décantier avec pureté, après la dernière stérilisation, à l'aide d'une pipette stérilisée, dans des tubes à essais stériles. Mais avant de se servir de ces tubes, il faudra les mettre à l'étuve à 37°, pendant deux ou trois jours, afin d'être sûr qu'on n'a pas, en décantant, introduit de germes dans les tubes; on rejettera les tubes dont le contenu se sera troublé.

Pour filtrer le bouillon, le papier à filtre ordinaire est suffisant. Mais, pour la gélatine et surtout pour la gélose, le papier Chardin est indispensable.

C'est le bouillon ainsi préparé qui servira à faire la gélatine et la gélose.

B. Préparation de la gélatine. — On prépare un litre de bouillon comme il a été indiqué précédemment. On ajoute :

Gélatine (1).

7 grammes.

(1) Marque « à l'Étoile ».

On fait fondre au bain-marie, on s'assure de la réaction qui doit être faiblement alcaline. On prend alors deux blancs d'œuf que l'on bat bien avec une baguette de verre dans un verre à expérience et on les ajoute à la gélatine liquide et fondue à une température de 50° environ. On remettra le tout à l'autoclave à 115° pendant 1 minute; l'albumine du blanc d'œuf se coagule et clarifie la gélatine; on filtre sur le papier Charadin, dans un grand entonnoir; on recueille dans des verres à pied et l'on met en tubes.

Pour cela, il est *absolument indispensable* de se servir d'un petit entonnoir, terminé par un biseau, dont la tige sera longue de 6 ou 7 centimètres et que l'on posera sur le tube que l'on veut remplir. On verse la gélatine par l'entonnoir, qu'on retire ensuite vivement sans qu'aucune goutte de gélatine ait pu toucher les parois du tube; on évite ainsi de coller le bouchon de ouate aux parois du tube. Les tubes une fois remplis, on les stérilisera une dernière fois à l'autoclave pendant 5 minutes à la température de 105°.

C. Préparation de la gélose. — On prépare un litre de bouillon, et on y ajoute :

Gélose

12 grammes.

On fait fondre au bain-marie, comme pour la gélatine. On laisse refroidir à 50° et on ajoute deux blancs d'œuf bien battus. La réaction doit être légèrement alcaline, comme celle du bouillon dans lequel on a fait fondre la gélose. On chauffe 1 minute à 125° et on filtre sur un grand entonnoir dans un filtre à plis de papier Chardin. On recueille la gélose, filtrée dans des verres à pied, à l'aide desquels on remplit les tubes. Il faudra, comme pour la gélatine, employer un petit entonnoir.

Le filtre à filtration chaude, que l'on conseille dans certains traités pour la filtration de la gélose, est inutile dans une chambre ayant une température moyenne de 15 à 20°

Nous répéterons qu'il est indispensable : 1° de chauffer le mélange à 125° et 2° d'employer le papier Chardin.

Une fois que les tubes sont remplis, on les stérilise pendant 15 minutes à 115°, puis on les couche de façon à ce qu'ils présentent une surface très inclinée. Il suffit pour cela de les ranger sur une table, en ayant soin de placer, sous leur extrémité garnie de ouate, une règle de 2 centimètres de haut ; on les laisse refroidir

Ils sont dès lors prêts à servir.

PRE
D). Pré
culture.
sur pom
procédé d
qui le res
est le pro
Pré
petits en
soirs (f
recouvert
couvert
ou non
verle d'u
te de Petri
si l'on
de crist
rodé). La
sion com
10 centim
On pré
lié. on le
terre qui
une heure
On met a
à filtre in
de terre
chaque

D. Préparation des pommes de terre pour la culture. — On peut employer, pour la culture sur pommes de terre, deux procédés. L'un est le procédé de Koch, avec quelques modifications qui le rendent plus pratique, l'autre, le meilleur, est le procédé de Roux.

Procédé de Koch. — Il nécessite l'emploi de petits cristallisoirs (*fig. 12*) recouverts d'un couvercle, rodé ou non (le couvercle d'une boîte de Petri suffit, si l'on n'a pas de cristallisoir rodé). La dimen-

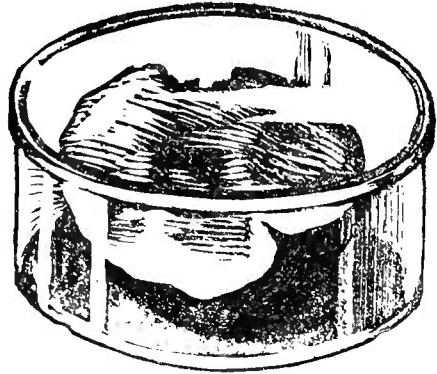


Fig. 12

sion commode pour ces cristallisoirs est de 10 centimètres de diamètre, sur 4 à 5 de haut.

On prend des pommes de terre de bonne qualité, on les brosse en enlevant soigneusement la terre qui peut les souiller, et on les laisse pendant une heure dans la solution de sublimé au millième. On met au fond du cristallisoir un rond de papier à filtre imbibé de sublimé. On coupe les pommes de terre en deux et on en met une moitié dans chaque cristallisoir. On les recouvre et on porte

à l'autoclave à 125° pendant une demi-heure. Cette stérilisation prolongée à une haute température est absolument nécessaire; il existe fréquemment à la surface des pommes de terre un bacille, le bacille rouge de la pomme de terre, qui supporte la température de 120° pendant

Fig. 13 15 minutes sans être tué, il est donc important d'opérer comme il est indiqué ci-dessus. Au sortir de l'autoclave, on laisse refroidir le cristalliseur et la pomme de terre est prête à servir pour l'ensemencement.



Procédé de Roux. — M. Roux emploie pour la culture sur pommes de terre, des tubes à essai, de 2 centimètres et demi de diamètre sur 22 centimètres de long environ (fig. 13). Ces tubes portent à leur quart inférieur un étranglement, qui a pour but d'empêcher la pomme de terre de toucher au fond; le liquide qui sort de la pomme de terre pendant la cuisson se rassemble au fond du tube. Pour se servir de ces

tubes, on coupe des pommes de terre en prismes quadrangulaires ⁽¹⁾, de 5 centimètres de lon-

(1) Il est bon, pour faciliter l'ensemencement, de pratiquer un léger biseau sur une des faces.

neur sur 1
mètre du tu
dans chaque
pon de r
à 120°.
L'empli
comme com
Quand on
des cultures
employer le
ballon jusq
pées en m
diquée ci-de
10 minutes
ment et tes
ballon de
cer toutes
terre qui
des cultu
E. Prépar
les tubes de
même r
où il sort
la propre
On rec
(fig. 14)
Bohème d'
Warr

gueur sur 1 d'épaisseur, et de la largeur du diamètre du tube. On place un morceau ainsi taillé dans chaque tube, on bouche avec un fort tampon de ouate et on stérilise pendant 30 minutes à 120°.

L'emploi de ces tubes ne laisse rien à désirer comme commodité.

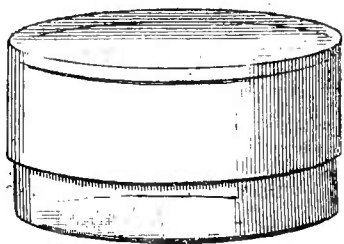
Quand on désire obtenir en grandes quantités des cultures d'un microbe chromogène, on peut employer le procédé suivant : On remplit un ballon jusqu'à moitié de pommes de terre coupées en morceaux réguliers, de la dimension indiquée ci-dessus. On stérilise à 125° pendant 15 minutes. Lorsqu'on a pratiqué l'ensemencement et mis à l'étuve, on agite et on retourne le ballon de temps en temps, de façon à ensemen- cer toutes les faces des morceaux de pomme de terre qui sont dans le ballon. On obtient ainsi des cultures extrêmement abondantes.

E. Préparation du sérum. — Pour préparer les tubes de sérum, il est nécessaire d'aller soi-même recueillir le sang à l'abattoir au moment où il sort de la veine de l'animal, en observant la propreté la plus rigoureuse.

On recueille le sang dans des boîtes de Koch (*fig. 14*) ; ce sont des cristallisoirs en verre de Bohême d'une contenance de 2 litres environ et

recouverts d'un couvercle (1). Ces boîtes devront être stérilisées à l'autoclave, de préférence au four

Fig. 14



Pasteur. Lorsqu'on les stérilise par la chaleur sèche, le sang, au lieu de se coaguler en formant un caillot au centre de la boîte, adhère souvent aux parois du vase qui sont sèches, et

on recueille alors une quantité de sérum beaucoup moindre; trois boîtes de Koch, remplies jusqu'aux $\frac{3}{4}$ de leur hauteur, suffisent pour le sang qui s'écoule de la jugulaire d'un bœuf.

Une fois les cristallisoirs remplis, on les porte sans trop les remuer dans un endroit frais, une cave par exemple, à l'abattoir même et on les abandonne au repos pendant 24 à 36 heures. En hiver, en les laissant 48 heures, on recueillera une quantité plus considérable de sérum. Si on secouait le sang, si on le remportait au laboratoire, on aurait un sérum rouge et impropre à la

(1) Les éprouvettes que l'on conseille parfois d'employer, ne sont pas commodes. Il arrive souvent que le caillot occupe tout le diamètre de l'éprouvette en englobant le sérum. On ne peut alors recueillir le sérum.

culture. Au plus, le caillot du cristallisoir, avec un peu à l'avance. La pipette, pendant. Mis en œuvre, une coloration du cheval est. Une fois qu'il porte au laboratoire; on emploie la méthode de stérilisation. Cette méthode de stérilisation consiste à porter à 58°, quatre heures par jour. Dans la température de la température de stérilisation des boîtes, la chaleur doit être répétée pendant le sérum sera. Il est en fait le sérum est transparent. L'éleveur d'Ar...

culture. Au bout d'un jour ou de 48 heures au plus, le caillot s'est rétracté, il occupe le centre du cristalliseur et on n'a plus qu'à répartir le sérum, avec une pipette, dans des tubes stérilisés à l'avance. Il faut éviter de piquer le caillot avec la pipette, pour ne pas teinter le sérum en rouge,

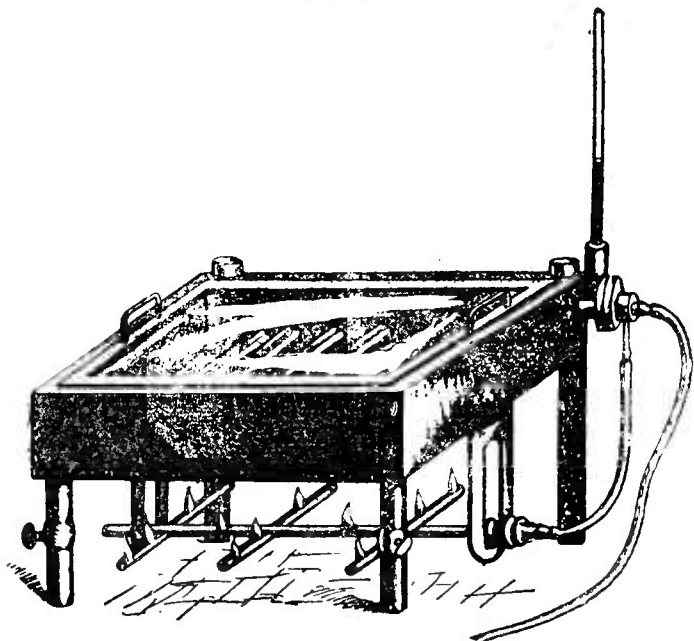
Mis en tube, le sérum du bœuf doit présenter une coloration jaune d'or ou jaune ambré. Celui du cheval est plus citrin.

Une fois que le sérum est en tubes, on le rapporte au laboratoire et on procède à sa stérilisation; on emploie pour cela la *méthode de Tyndall*. Cette méthode, qu'on appelle aussi méthode de stérilisation par le chauffage discontinu, consiste à placer les tubes dans une étuve réglée à 58°, quatre jours de suite, pendant 3 heures par jour. Dans l'intervalle, on placera les tubes à la température de 20°, pour favoriser la germination des spores qui n'ont pas été tuées par la chaleur de 58°. Quand cette opération aura été répétée pendant plusieurs jours (4 à 8 jours), le sérum sera stérilisé.

Il est encore à l'état liquide dans les tubes; il faut le coaguler, et le coaguler à une température suffisamment basse pour qu'il ne perde pas sa transparence; pour cela, on peut employer l'étuve d'Arsonval (*fig. 15*). Les pieds antérieurs

de cette étuve ont une hauteur variable qui permet de donner aux tubes l'inclinaison voulue. On la règle comme une étuve d'Arsonval ordinaire entre 90 et 100° . On y place les tubes et dès que l'eau commence à bouillir, on surveille

Fig. 15



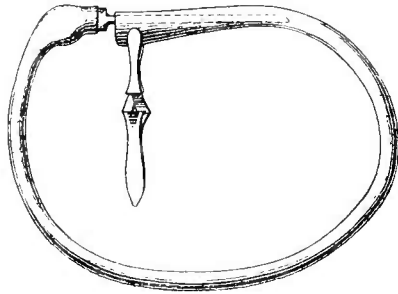
un tube et on le retire quand on voit que le sérum commence à se prendre en gelée. Quand on ne chauffe qu'à 68° , il faut deux heures et demie ou trois heures pour solidifier le sérum. En chauffant à 90° , pour un tube à essai ordinaire de 16 millimètres de diamètre, vingt minutes suffisent. Nous devons ajouter qu'il est extrême-

ment difficile
une grande
cipient, par
nance de 1
est lent
température
tout nombre
fement. Lent
une série
pollution
devient très
Une fois
quantités de
de cobaye
Supposons
ratoire, avec
quantaine
timètres
sérum de
de lapin. On
dera une ar
carotide par
ple, sur 3
tres de sa
ours : on
ment de
et on y

ment difficile, sinon impossible, de stériliser une grande quantité de sérum dans le même récipient, par exemple dans un ballon d'une contenance de 1 ou 2 litres. Une telle masse de sérum est lente à s'échauffer et, pour l'amener à une température de 58° dans l'étuve, il faut un certain nombre d'heures pendant lesquelles l'échauffement, lent et graduel, fait passer le liquide par une série de températures eugénésiques. La pullulation des impuretés est telle que le sérum devient trouble dès la seconde mise à l'étuve.

Une façon commode de recueillir de petites quantités de sérum (sérum de lapin, de chien ou de cobaye) consiste à employer l'artifice suivant. Supposons qu'on veuille recueillir, dans le laboratoire, une cinquantaine de centimètres cubes de sérum de chien ou de lapin. On dénude une artère, la carotide par exemple, sur 3 centimètres de son parcours : on pince les deux extrémités du segment dénudé avec deux pinces à forci-pression et on y introduit une canule de verre ou un

Fig. 16



trocart fin (1). La façon la plus commode de stériliser un trocart est indiquée par la *fig. 16*.

Un trocart très fin pour le lapin et les petits animaux est d'un maniement plus commode que la canule.

On lie la canule ou le trocart sur l'artère, on enlève la pince la plus rapprochée du cœur et on reçoit le sang dans une fiole stérilisée. Cette fiole doit être maintenue inclinée (*fig. 17*) pen-

Fig. 17

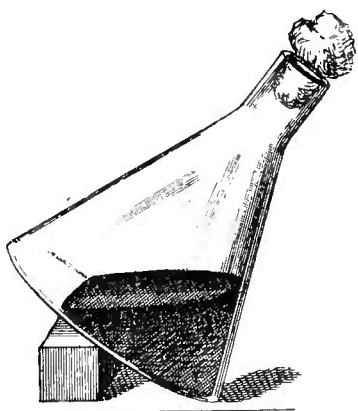
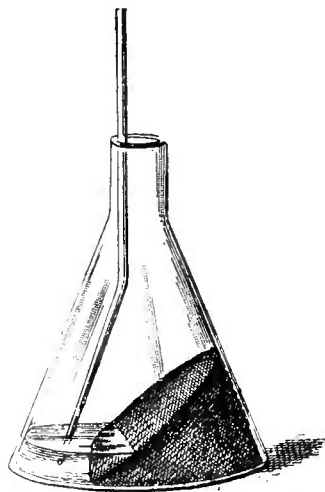


Fig. 18



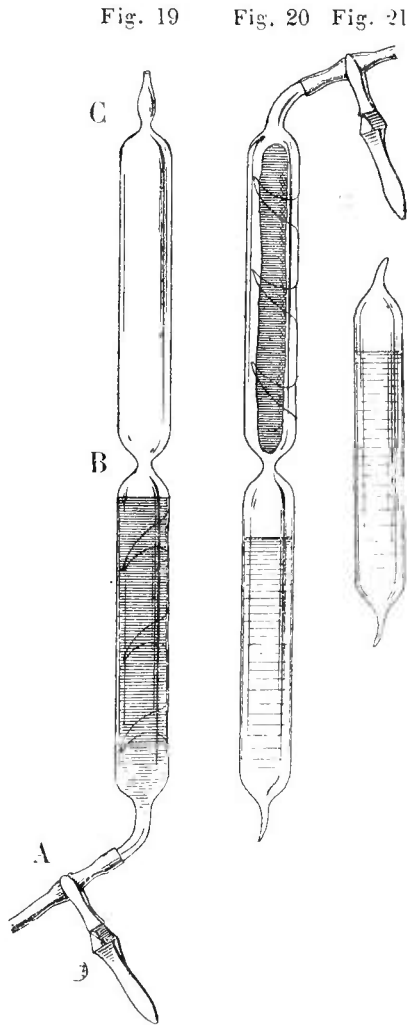
dant la durée de la coagulation de façon à ce que, quand le sang est pris en caillot, il forme

(1) Si l'on veut avoir tout le sang de l'animal, on peut le sacrifier, en lui coupant la gorge dont la peau a été préalablement rasée et désinfectée.

un plan it.
plat (fig. 16).
rum s'écou
peut le re
facilement
mettre en
sans lacérer
lot avec la p
Un proc
core meill
celui qui
d'être indi
siste à en
l'appareils
C'est une s
sablier en
(fig. 19). L
tubes ont
mètres de
tre et 20 c
tres de lon
par un cou
glement B
ces tubes
trois ou c
coches,
par aspi

un plan incliné dans la fiole posée sur son fond plat (*fig. 18*). Au bout d'un certain temps le sérum s'accumulera dans la partie déclive et on peut le recueillir facilement et le mettre en tubes sans lacérer le caillot avec la pipette.

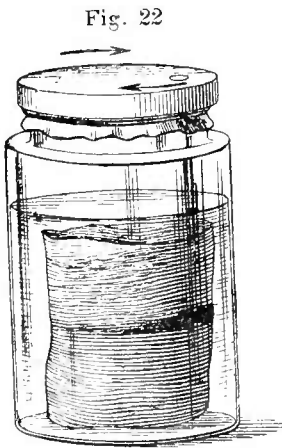
Un procédé encore meilleur que celui qui vient d'être indiqué consiste à employer l'appareil suivant. C'est une sorte de sablier en verre. (*fig. 19*). Les deux tubes ont 3 centimètres de diamètre et 20 centimètres de long, reliés par un court étranglement B. Un de ces tubes porte trois ou cinq encoches, obtenues par aspiration, au



niveau de points chauffés au

rouge, et faisant saillie à l'intérieur. On adapte la canule en A et on saigne le lapin comme il a été indiqué. Le sang monte de A en B. On le laisse coaguler. On place une pince en A et on retourne le sablier, après avoir fermé à la lampe l'extrémité C (*fig. 20*). Le caillot est retenu par les encoches et le sérum s'écoule lentement de B en C. Il est clair et incolore si l'on a bien opéré. On le répartira de la façon habituelle en le décantant avec précaution après avoir coupé le tube en B. On peut le conserver en effilant le tube en B (*fig. 21*).

Pour les grands animaux, on se servira, avec avantage (Nocard), d'un bocal ordinaire fermé par un couvercle en fer blanc percé d'un trou (*fig. 22*).



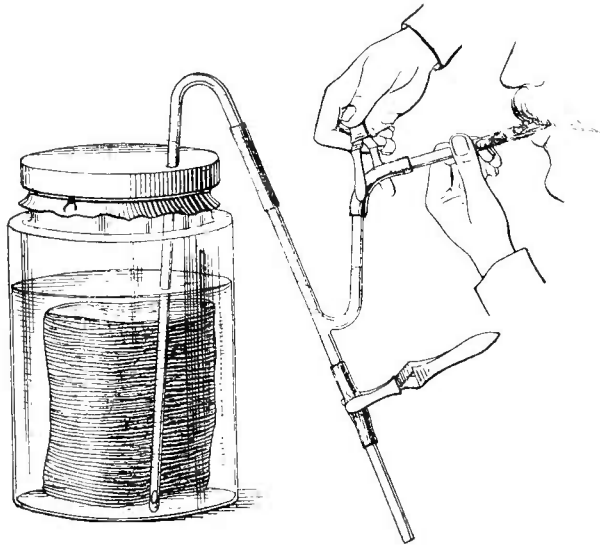
On recouvre l'orifice du bocal d'un morceau de papier filtré, formant couvercle, et on coiffe le tout avec le couvercle de fer blanc. On stérilise ensuite à l'autoclave ou au four.

Lorsque le trocart est introduit dans la veine jugulaire du cheval, pour introduire avec pureté le sang dans le bocal, on fait exécuter un quart



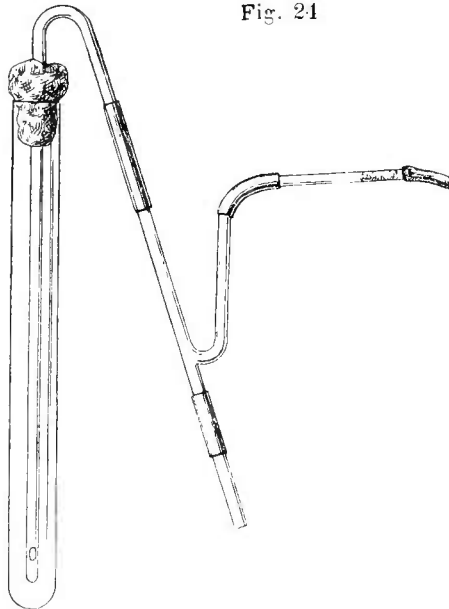
de tour au
découvre
une partie
papier qui
jusque-là
couverte
couvercle
conséque
l'abri de
mes de l'
perce le
avec l'
en verr
est mu
trémité

Fig- 23



de tour au couvercle autour de son centre. On découvre ainsi une portion du papier qui était, jusque-là, recouverte par le couvercle et par conséquent à l'abri des germes de l'air. On perce le papier avec l'ajutage en verre dont est muni l'extrémité du tube

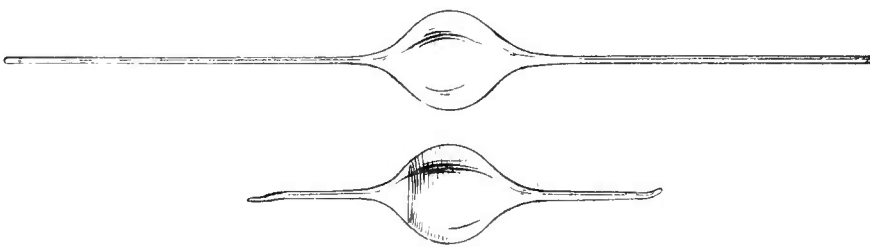
Fig. 24



de caoutchouc, et on laisse le bocal se remplir de sang.

Le caillot une fois formé, on recueillera avec pureté le sérum le long des parois du bocal, à l'aide d'un siphon, ainsi que cela est indiqué sur la *fig. 23*. La façon la plus commode pour stériliser un siphon est indiquée sur la *fig. 24*. On répartit ensuite le sérum avec pureté dans les tubes à essais. Si on veut le conserver, on emploiera des ampoules en verre (*fig. 25*) de 3 à 4 centimètres de diamètre, scellées à la lampe

Fig. 25



après avoir été remplies et stérilisées ensuite par la méthode de Tyndall, à la manière ordinaire.

Le lait, le liquide d'ascite, etc., devront être stérilisés de la même façon que le sérum, c'est-à-dire par la méthode de Tyndall, après qu'ils auront été mis en tubes. Il faut employer du lait pur (lait cacheté et plombé) autant que possible.

MILIEUX

A. Diff

Bacteri

cède est un

et Widal d

se sert de t

additionn

fondre ces

de tourne

violet am

davantage

d'Eberth,

bout d'un

tube où l'

bleu dan

strie d'en

le Bacter

profonde

parfois d

En en

géluse-la

encore p

On a

Une des

Proc

MILIEUX DE CULTURE SPÉCIAUX A CERTAINS
MICROORGANISMES

A. *Différenciation du bacille d'Eberth et du Bacterium coli. Procédé de Wurtz.* — Ce procédé est une variante du procédé de Chantemesse et Widal qui employaient le bouillon lactosé. On se sert de tubes de gélose ou de gélatine ordinaire, additionnées de 2 % de sucre de lait. On fait fondre ces tubes, on y ajoute assez de teinture de tournesol, bien neutre, pour les colorer en violet améthyste et on les stérilise à 100° (pas davantage). On sème, d'une part, le bacille d'Eberth, d'autre part, le Bacterium coli, et, au bout d'un temps variable, on constate que le tube où l'on a semé le bacille d'Eberth est resté bleu dans toute la partie qui correspond à la strie d'ensemencement. Le tube ensemencé avec le Bacterium coli est rouge vif et porte dans sa profondeur de nombreuses bulles de gaz qui parfois décollent la gélose des parois du verre.

En ensemençant en stries, sur des plaques de gélose-lactose-tournesol, on obtient des résultats encore plus nets.

On a donné différentes variantes de ce procédé. Une des meilleures est celle de M. Ramon.

Procédé de M. Ramon. — On prend un tube

de gélose ou de gélatine, de 5 à 6 centimètres cubes, lactosée à 4 ‰. La gélose est liquéfiée et colorée avec quelques grains de rubine acide jusqu'à teinte rouge cerise. On porte le tube à 70-80° et on ajoute deux gouttes de solution aqueuse saturée de carbonate de soude. A cette température, la gélose se décolore presque instantanément. Sous l'influence de l'alcalinisation il se précipite des sels terreux, ce qui nécessite une filtration sur papier. On recueille ainsi une gélose absolument décolorée et transparente. On la stérilise à 105° pendant cinq minutes et on a un milieu tout préparé. Si maintenant on ensemence du *Bactérium coli* sur cette gélose décolorée, en quelques heures la gélose vire au rouge intense. Le bacille d'Eberth n'amène aucun changement.

On opérera avec avantage, comme il vient d'être indiqué, sur 250 centimètres cubes de gélose. On ajoutera assez de rubine pour arriver à la teinte rouge cerise.

Bouillon de culture pour la diphtérie. — Pour obtenir une toxine active, on a indiqué différents procédés, dont voici les principaux :

Spronck conseille de se servir de viande ayant subi un commencement de putréfaction. On fait ce macéré à la façon ordinaire. Notons qu'il ne faut pas, pour la diphtérie, employer la viande

du cheval
glucose (S
Nicolle
jours acti
tué le m
peptone e
Quel qu
très impo
destiné a
pas dépass
100°. On
active qu
la cuisson
sant char
entre 80
peptone,
sultats se
Une a
importan
previsio
tion nor
L'aéri
diphthéri
formant
active. L
lures la
ballon,

du cheval, qui contient de faibles quantités de glucose (Smirnoff).

Nicolle obtient, par contre, une toxine toujours active en employant la viande d'un bœuf tué le matin même. Il ajoute 20 pour 1000 de peptone et 5 pour 1000 de sel marin.

Quel que soit le procédé que l'on emploie, il est très important, dans la préparation du bouillon destiné à cultiver le bacille diphtérique, de ne pas dépasser à aucun moment la température de 100°. On obtiendra une toxine d'autant plus active que la température maxima atteinte dans la cuisson de la viande sera plus basse. En faisant chauffer le macéré pendant une heure, entre 80 et 90°, ajoutant ensuite seulement la peptone, et filtrant sur bougie le produit, les résultats seront les meilleurs.

Une alcalinisation exacte est également très importante. On neutralisera au tournesol, avec précision, et on ajoutera 7 centimètres de solution normale de soude, par litre.

L'aération des cultures dans le bouillon de diphtérie donnera la culture la plus abondante, formant un voile épais, et fournissant une toxine active. Les ballons de Fernbach, avec deux tubulures latérales permettant de faire passer dans le ballon, par aspiration, un courant d'air con-

tinu, pourront être employés avec avantage.

Milieux de culture pour le bacille de la tuberculose. — On emploie le bouillon ou la gélose préparés à la manière ordinaire et auxquels on ajoute 6 % de glycérine, avant la dernière stérilisation à l'autoclave. Pour obtenir directement, à l'aide de pulpe de rate de cobayes tuberculeux, une culture pure de bacilles de Koch, on emploiera avec avantage la pomme de terre glycélinée. Dans un tube à pommes de terre ordinaire (tube de Roux), on introduit de l'eau glycélinée à 8 % de façon à ce que la partie inférieure de la pomme de terre baigne constamment dans le liquide. On stérilise comme d'habitude. Après avoir ensemencé, il est indispensable de recouvrir le tube d'une coiffe de caoutchouc de façon à empêcher l'évaporation. Il faut semer abondamment la pulpe de rate tuberculeuse, en l'étalant avec soin. Dans ces conditions, on devra environ obtenir une culture pure de bacilles tuberculeux sur trois tubes ensemencés.

Eau de Malt. — L'eau de malt constitue un excellent milieu de culture pour les levures. On la prépare de la façon suivante :

On broie 100 grammes de malt (orge germée) que l'on délaie dans 1 000 grammes d'eau. On chauffe pendant une heure à 55-58°, sans dé-

ENSEMBLE

passer 58°.
et on stérilise

Milieu de c

Maltose
Peptone
Eau
Gélose.

On opérer

Ensemenc

— Tous les

de terre, pr

devront être

ne doit point

présente, qu

opalescence

mière vue.

tine. Dans l

face libre d

inclinée. D

face peut.

(on y sen

on y sème

sérum.

Pour en

de platine

passer 58°. On porte alors à l'ébullition, on filtre, et on stérilise à 115° pendant un quart d'heure.

Milieu de culture pour les parasites des teignes
(Sabouraud).

Maltose	3 ^{gr} ,80
Peptone	0,50 à 0,80
Eau	100
Gélose.	1,40 pour solidifier

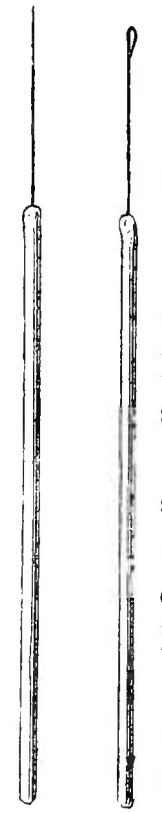
On opérera comme pour la gélose ordinaire.

Ensemencement et réensemencement.

— Tous les milieux de culture, sauf la pomme de terre, préparés comme il a été dit ci-dessus, devront être absolument transparents. Le bouillon ne doit point contenir de dépôt. Seule, la gélose présente, quelque bien faite qu'elle ait été, une opalescence qui permet de différencier, à première vue, un tube de gélose d'un tube de gélatine. Dans les tubes de gélose et de sérum, la surface libre du milieu de culture doit toujours être inclinée. Dans les tubes de gélatine, cette surface peut, à volonté, être normale à l'axe du tube (on y sème par piqûre) ou inclinée et alors on y sème en stries, comme sur la gélose et le sérum.

Pour ensemer les tubes, on se sert de fils de platine de 7 à 8 centimètres de long, emman-

chés par fusion ⁽¹⁾ dans des baguettes de verre (*fig. 26*). Le fil de platine doit être assez rigide pour ne pas se plier lorsqu'on ensemence par piquère; il ne doit pas être trop gros, car il serait trop lent à refroidir. Il est commode



de faire à l'extrémité libre une très petite anse (*fig. 27*) avec le fil, pour prélever plus sûrement la culture ou la matière à ensemer. Avant de se servir, et immédiatement après s'être servi du fil, il faut le passer dans la flamme du bec de Bunsen et le faire rougir entièrement. Il faut aussi flamber toute la partie de la baguette qui sera engagée dans le tube de culture.

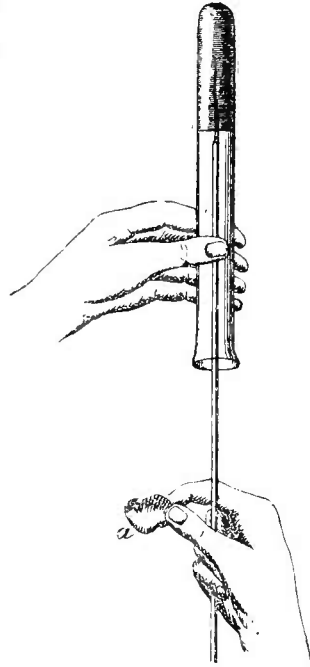
Le fil de platine étant ainsi bien stérilisé, on prélève, avec son extrémité recourbée en anse, une trace de la matière à ensemer. Pour la semer, pour la déposer dans le tube, il faut s'y prendre de la manière suivante : après avoir chargé l'aiguille de platine que l'on tient de la main droite entre le pouce et l'in-

(1) On prend une baguette de verre plein, on fait fondre son extrémité à la lampe d'émailleur et on enfonce dans le verre rougi et ramolli l'une des extrémités du fil de platine.

ENSEMENC
 dex, on saisi
 gauche en le
 possible (afin
 pas quand il
 ché). Avec la
 qui tient de
 platine, entre
 et l'éminence
 on saisit la
 passe le tub
 bouche en in
 tement au t
 main gauche
 ment de vis
 lâcher le b
 seme comm
 qué plus ha
 piquère, dans
 gélatine dro
 faisant des
 les tubes inc
 doucement
 remué le r
 (1) Pour p
 dans la flamm
 de le rempla
 la partie sup
 couvrira la
 stérilisé par
 WITT —

dex, on saisit le tube à ensementer de la main gauche en le tenant aussi horizontalement que possible (afin que les germes de l'air n'y tombent pas quand il sera débouché). Avec la main droite qui tient déjà l'aiguille de platine, entre le petit doigt et l'éminence hypothénar, on saisit la ouate qui dépasse le tube. On débouche en imprimant lentement au tube, avec la main gauche, un mouvement de vis, puis, sans lâcher le bouchon, on sème comme il est indiqué plus haut, soit par piquûre, dans les tubes de gélatine droits, soit en faisant des stries, dans les tubes inclinés. Enfin, on rebouche en vissant doucement le bouchon dans le tube que l'on a remué le moins possible (1). Immédiatement

Fig. 28



(1) Pour plus de sûreté, on peut passer rapidement dans la flamme du bec de gaz le tampon de ouate, avant de le replacer dans l'orifice du tube, puis on flambera la partie supérieure du tube lui-même. Enfin, on recouvrira la ouate avec une petite coiffe de caoutchouc stérilisée par immersion prolongée dans le sublimé.

après, on doit faire rougir le fil de la platine. On peut ensemercer, si l'on veut, les tubes de gélatine, ainsi que l'indique la *fig.* 28, en renversant le tube.

Toutes ces petites manœuvres doivent se faire machinalement et, pour ainsi dire, d'une façon réflexe. On y arrive vite avec un peu d'habitude.

Écouvillons. — Pour recueillir et ensemercer certains produits, tels que les fausses membranes pharyngées, ou pour prélever des microorganismes à l'intérieur d'une cavité, les fosses nasales, par exemple, de petits écouvillons en ouate sont indispensables. On les fera de la façon suivante : Sur de minces baguettes de bois de 15 centimètres de long, on entortille de la ouate (hydrophile) à une des extrémités, de façon que cette ouate forme un petit tampon. On met, dans un gros tube à essai, une douzaine de ces écouvillons et on stérilise le tout au four Pasteur. Au lit du malade, on les utilise un à un en ayant soin de mettre chaque tampon, chargé du produit que l'on veut analyser, dans un petit tube à essai stérile.

Pour is
des autres
sur plaque
deux man
1° Cult
2° Cult
1. Cult
Elle ne pe
pièces qui
sérieuse à
diphthérie,
par cette r
On com
gélaline à
l'étuve à 3
qu'à ce q

CHAPITRE III

—

CULTURES SUR PLAQUES

Pour isoler les espèces microbiennes les unes des autres, on emploie la méthode de culture sur plaques de Koch. Elle peut se pratiquer de deux manières :

1° Culture sur plaques de gélatine.

2° Culture sur plaques de gélose.

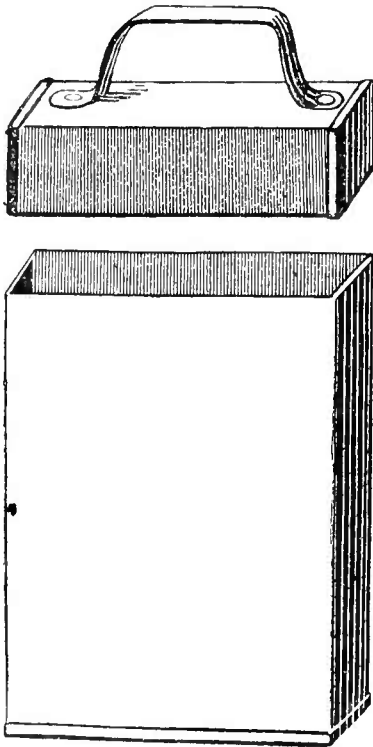
1. Culture sur plaques de gélatine. —

Elle ne peut s'employer que pour séparer les espèces qui se développent à une température inférieure à 24° ; les bacilles de la morve et de la diphtérie, par exemple, ne sauraient être isolées par cette méthode.

On commence par faire liquéfier les tubes de gélatine à une douce chaleur, en les mettant à l'étuve à 37° ou en les tenant dans la main jusqu'à ce que la gélatine soit fondue. Si on les

liquéfié sur la flamme du bec de Bunsen, ce qui est plus rapide, il faudra bien prendre garde de ne pas les ensemercer avant que la gélatine n'ait repris une température voisine de 37°, car en ensemençant dans la gélatine trop chaude, on risquerait de tuer une partie des microbes que l'on veut isoler. Il ne faut pas non plus commencer par ensemercer le tube de gélatine solide, puis

Fig. 29



le liquéfier ensuite.

On ensemece donc dans la gélatine déjà liquide, on agite doucement pour bien répartir les germes, puis on répand cette gélatine sur une *plaque de verre stérilisée*.

Plaques de Koch.

— Autrefois, l'on employait (on peut encore employer si l'on veut) les plaques de Koch, qui étaient de simples lames de verre à vitre

rectangulaires, de 10 centimètres sur 14.

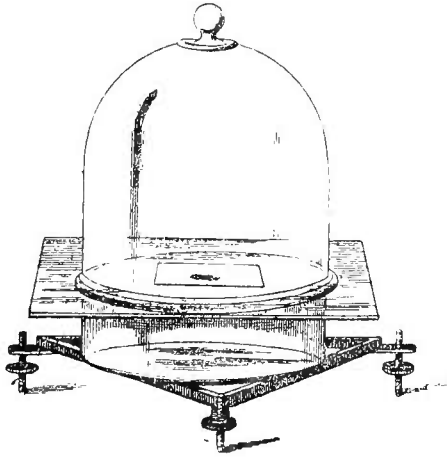
Il faut
boîte en
Pasteur.
latine pa
1° Un
muni de
lantes et
veau d'éc
30).
2° Un
lisoir à b
dés re
d'une lar
verre épar
laquelle e
cée une
de verre.
On rem
pied, d'ea
qu'elle aff
lisoir avec
inférieure
on rend d
lantes et d
Les pla
four Past
boîte à pl

Il faut les stériliser, au préalable, dans une boîte en fer (*fig. 29*) que l'on met dans le four Pasteur. Pour confectionner des plaques de gélatine par cette méthode, il faut, en outre :

1° Un trépied muni de vis calantes et un niveau d'eau (*fig. 30*).

2° Un cristalliseur à bords ro-dés recouvert d'une lame de verre épaisse sur laquelle est placée une cloche de verre.

Fig. 30



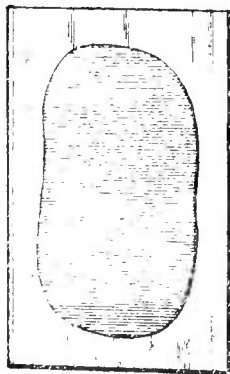
On remplit le cristalliseur reposant sur le trépied, d'eau froide (glacée en été), jusqu'à ce qu'elle affleure aux bords ; on recouvre le cristalliseur avec le plan de verre qui doit, par sa face inférieure, être en contact avec l'eau froide ; puis, on rend ce plan horizontal, à l'aide des vis calantes et du niveau à bulle d'air.

Les plaques de verre ayant été stérilisées, au four Pasteur, dans la boîte de fer, on place cette boîte à plat sur le bord de la table, on retire son

couvercle et, avec une pince flambée, on en sort une plaque que l'on pose sur le plan de verre et qu'on recouvre immédiatement avec la cloche. On débouche ensuite le tube liquéfié et commencé comme il a été dit précédemment, on flambe avec soin son orifice sur la flamme du gaz, on découvre la plaque en enlevant la cloche, et on répand doucement la gélatine sur cette plaque. On aura soin de toujours tenir de la main gauche la cloche au-dessus de la plaque, le plus près qu'il soit possible de faire, sans se gêner, afin d'empêcher les germes de l'air de tomber sur la gélatine et de la contaminer.

Avec le bord du tube qu'on a flambé, on étale et on répartit la gélatine, de façon à ce qu'elle

Fig. 31



forme un carré inscrit dans celui que forme la plaque. Il faut avoir soin que la gélatine n'arrive pas à plus de 2 ou 3 centimètres du bord de la plaque (fig. 31). Une fois que la gélatine a fait prise, on retire la plaque que l'on prend par la tranche avec la main droite et on la place dans l'étuve à 20°, en ayant soin, pendant le transport, de la

CULTURE
couvrir tou
au-dessus d
Au lieu d
de verre et
de l'appareil
verre herm
peut faire p
cuivre, un
Ces plaqu
régliée à 20
étagères en
Ces étagère
de la man
lames de v
carré de 20
unes sur le
glettes carr
mètre de co
long, ou,
d'écolier (c
place un p
chera l'éva
l'humidité
lonies. Le
reposant s
Plaques
recomman

couvrir toujours avec la cloche que l'on tient au-dessus d'elle, de la main gauche.

Au lieu d'un cristalliseur recouvert d'un plan de verre et rempli d'eau glacée, on peut se servir de l'appareil de M. Roux. C'est un tambour de verre hermétiquement fermé et dans lequel on peut faire passer, par deux ajutages latéraux en cuivre, un courant d'eau froide.

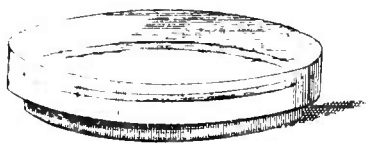
Ces plaques devront être placées dans une étuve réglée à 26 ou 22°. On les range sur de petites étagères en verre que l'on recouvre d'une cloche. Ces étagères se font de la façon la plus pratique, de la manière suivante : on fait couper des lames de verre un peu épaisses, formant un carré de 20 centimètres de côté ; on les étage les unes sur les autres en les séparant par des réglettes carrées en verre très épaisses de 1 centimètre de côté au moins et de 20 centimètres de long, ou, plus simplement, par des réglettes d'écolier (carrelets). Sur la dernière lame, on place un petit récipient plein d'eau qui empêchera l'évaporation de la gélatine et fournira l'humidité nécessaire au développement des colonies. Le tout doit être recouvert d'une cloche reposant sur un plan de verre.

Plaques de Petri. — Le procédé que nous recommandons pour pratiquer commodément la

culture sur plaques est celui dans lequel on emploie les plaques de Pétri.

Ce sont de petits cristallisoirs en verre de Bohême, à bords très peu élevés, de 1 centimètre $1/2$ de haut, ayant 10 centimètres de dia-

FIG. 32



mètre et recouverts par des couvercles de verre dont les bords, de 1 centimètre de haut, embrassent

ceux du cristallisoir (*fig. 32*).

Pour faire des plaques de gélatine avec ces boîtes de Petri, on doit opérer de la façon suivante : on les stérilise préalablement au four Pasteur et on y verse simplement le contenu des tubes de gélatine liquéfiés et ensemencés, en tenant le couvercle de la plaque au-dessus, pendant qu'on y répand la gélatine ; on replace le couvercle et on agite doucement, de façon que la gélatine s'étale également sur tout le fond de la plaque ; on la met ensuite à l'étuve à 22° . Le seul inconvénient que l'on puisse reprocher à ces boîtes de Petri est que la gélatine s'y dessèche avec assez de rapidité. Mais on peut y remédier d'abord en confectionnant la plaque avec une quantité suffisante de gélatine, puis en saturant de vapeur d'eau toute l'atmosphère de

l'étuve : il s'agit
 cristallisoir avec
 sistent pour
 pied, ni sup
 on les place
 de cloches ;
 sur les autr
 Procédé
 gélatine su
 cée. Esman
 ler à l'intér
 fort calibré
 latine à l'i
 celui-ci s'oc

Pour fai
 cédé d'Es
 le tube su
 de 18 cen
 orifice de
 cylindriq
 orifice, de
 diamètre.
 environ
 clave. Po
 de ce tut
 ture aus
 dans la

l'étuve : il suffit, pour cela, d'y placer un cristalliseur avec de l'eau. Ces plaques ne nécessitent pour leur confection ni réfrigérant, ni trépied, ni support à vis calantes. Dans l'étuve où on les place, il n'est point besoin d'étagères ni de cloches ; on les emploie simplement les unes sur les autres.

Procédé d'Esmarch. — Au lieu d'étaler la gélatine sur des plaques après l'avoir ensemencée, Esmarch a imaginé de la rouler et de l'étaler à l'intérieur de tubes ayant un assez Fig. 33 fort calibre ; pendant qu'on roule la gélatine à l'intérieur du tube, on refroidit celui-ci sous un courant d'eau froide.

Pour faire des séparations par le procédé d'Esmarch, nous recommanderons le tube suivant (fig. 33) : C'est un tube de 18 centimètres de longueur ayant un orifice de 15 millimètres et se renflant cylindriquement à 4 centimètres de cet orifice, de façon à avoir 4 centimètres de diamètre. On y met 6 centimètres cubes environ de gélatine et on stérilise le tout à l'autoclave. Pour faire une culture sur plaques à l'aide de ce tube, on liquéfie la gélatine à une température aussi basse que possible, en tenant le culot dans la main ou en la plaçant à l'étuve à 37° On



sème le mélange de microorganismes que l'on désire séparer, et, immédiatement, on porte le tube, recouvert d'une coiffe de caoutchouc, sous un robinet d'eau froide, en le tenant bien horizontal. On devra tourner constamment le tube sur lui-même et avec assez de rapidité, de façon à étaler la gélatine d'une façon bien régulière à l'intérieur du tube. Lorsque la gélatine est prise, si le tube a été bien fait, on ne devra pas voir qu'il y a de la gélatine le long des parois ; le verre sera seulement d'une couleur un peu plus jaune.

Ce tube d'Esmarch est beaucoup plus commode que les tubes ordinaires de diamètre uniforme. En effet, avec un de ces tubes, quelque horizontal qu'on le tiende pendant qu'on le tourne sous le courant d'eau, cette eau vient mouiller la coiffe de caoutchouc et pénètre jusqu'au bouchon d'ouate ; celui-ci est forcément mis en contact avec la gélatine à l'intérieur du tube ; cette gélatine colle le bouchon aux parois et rend le maniement du tube incommode. Tous ces inconvénients n'existent pas avec le modèle que j'ai indiqué. L'eau ne va jamais jusqu'à l'orifice du tube ; elle tombe au niveau du renflement ; la gélatine ne touche pas le bouchon ; enfin, on peut recouvrir ces tubes avec les coiffes

CULTURE
en caoutchouc
naïres.
Toutes les
d'Esmarch
avec les p
nous le rép
l'étuve à ..
fondrait et
sible des co
environ, le
microbes e
loppées. Il
celles qu
leur exam
mencemen
ture.

On con
de Petri
du micro
objectif
connu,
nisme q
le micr
un fil d

en caoutchouc qui servent pour les tubes ordinaires.

Toutes les plaques faites, soit par la méthode d'Esmarch, soit dans les boîtes de Petri, soit avec les plaques de Koch doivent être mises, nous le répétons, à l'étuve à 22°, et jamais dans l'étuve à 37°. A cette température, la gélatine fondrait et il n'y aurait plus de séparation possible des colonies. Au bout de deux à trois jours environ, les colonies des différentes espèces de microbesensemencés se sont généralement développées. Il faut alors les caractériser, recueillir celles qu'on veut étudier, afin de procéder à leur examen microscopique et à leur réensemencement dans les différents milieux de culture.

Examen des plaques.

On commence par placer la plaque ou la boîte de Petri que l'on veut examiner sur la platine du microscope et on l'examine d'abord avec un objectif très faible (o de Verick). Quand on a reconnu, à son aspect, la colonie du microorganisme que l'on veut étudier, on la recueille sous le microscope de la façon suivante : On prend un fil de platine un peu rigide ; on appuie le pe-

tit doigt de la main droite sur le bord postérieur de la platine, à droite du tube du microscope, pour donner de la sûreté à la main ; on place la pointe terminale du fil de platine à peu près dans l'axe optique de l'objectif, c'est-à-dire au centre du trou de la platine, à une petite distance de la surface de la gélatine. En regardant alors par l'oculaire, on devra voir la pointe du fil et, un peu plus bas, la colonie que l'on va recueillir ; on abaisse alors doucement la pointe de façon à arriver directement sur la colonie et on fait, toujours en ayant l'œil *sur l'oculaire*, de petits mouvements de va-et-vient avec cette pointe, de façon à passer et repasser sur la colonie.

On s'habitue facilement à cette petite opération, qui est assez délicate et que l'on manque souvent, au début. L'objectif n° 0 à foyer long est indispensable pour cela. Le n° 1 de Verick peut encore être employé. Avec l'objectif n° 2 du même constructeur, la lentille frontale est trop près de la gélatine pour qu'on puisse passer le fil de platine entre la lentille et la plaque.

Si les colonies sont assez grosses et assez séparées les unes des autres pour qu'on les voie et qu'on les reconnaisse bien nettement à l'œil nu, on les recueillera directement sans l'aide du mi-

erroscope,
examiner
dit plus l
Quant
l'intérieur
directem
de platin
tube incl
2. Cu
Elle se fa
culture s
géluse, p
ne fonde
entre 80
se refroi
alors ens
on le fait
néraleme
verre ou
verse le
l'on a ce
la flamm
la gélos
disseme
l'anse d
désire
milieu

croscopie, avec le fil de platine ; puis, on les examinera et on lesensemencera comme il a été dit plus haut.

Quant aux colonies qui se sont développées à l'intérieur des tubes d'Esmarch on les prélèvera directement dans l'intérieur du tube, avec l'anse de platine, en ayant soin de toujours tenir le tube incliné.

2. Culture sur plaques de gélose. — Elle se fait d'une façon un peu différente de la culture sur plaques de gélatine. Les tubes de gélose, préparés ainsi que nous l'avons indiqué, ne fondent qu'à une température très élevée, entre 80 et 100° ; ils se conservent liquides, en se refroidissant, jusqu'à 40° environ. On peut alors ensemenecer ces tubes refroidis à 40°, comme on le fait pour la gélatine. Mais on procède généralement comme il suit : sur une plaque de verre ou dans une boîte de Petri stérilisée, on verse le contenu d'un tube de gélose stérile que l'on a complètement liquéfiée, au préalable, sur la flamme du gaz, ou au bain-marie ; on laisse la gélose faire prise, dans la plaque, par refroidissement à l'abri de l'air ; on fait alors, avec l'anse de platine chargée des microbes que l'on désire séparer, 6 ou 7 stries à la surface du milieu nutritif. Ces stries, que l'on peut dispo-

ser de façon à ce qu'elles forment un quadrillage, devront être faites légèrement, en promenant simplement l'aiguille, sans la recharger, à la surface de la gélose. L'anse de platine se dépouille des germes au fur et à mesure qu'on l'essuie, pour ainsi dire, sur la gélose, et les colonies de microbes seront suffisamment espacées pour être isolées ensuite les unes des autres, et pour pouvoir être, par conséquent, prélevées avec pureté.

Il va sans dire que cette méthode de séparation des microorganismes, à l'aide de la gélose, peut être faite non plus à l'aide de plaques, mais avec les tubes inclinés de gélose eux-mêmes ; il en est de même pour les tubes de sérum.

Pour isoler les colonies de diphtérie dans les fausses membranes, par exemple, c'est la méthode de choix à employer. On prend cinq ou six tubes de sérum, et, après avoir prélevé, avec l'aiguille de platine, sur la gorge enduite de fausses membranes, une trace de cet enduit, on fait, sans recharger l'aiguille, une strie successivement dans les six tubes et on les met à l'étuve à 37°. En moins de vingt heures, les colonies de diphtérie se seront développées, et, dans le troisième tubeensemencé, elles seront déjà assez espacées pour pouvoir être isolées.

Une modification commode de ce procédé a

cc
été indiqu
tubes de
une trace
l'aiguille
guille, on
condensat

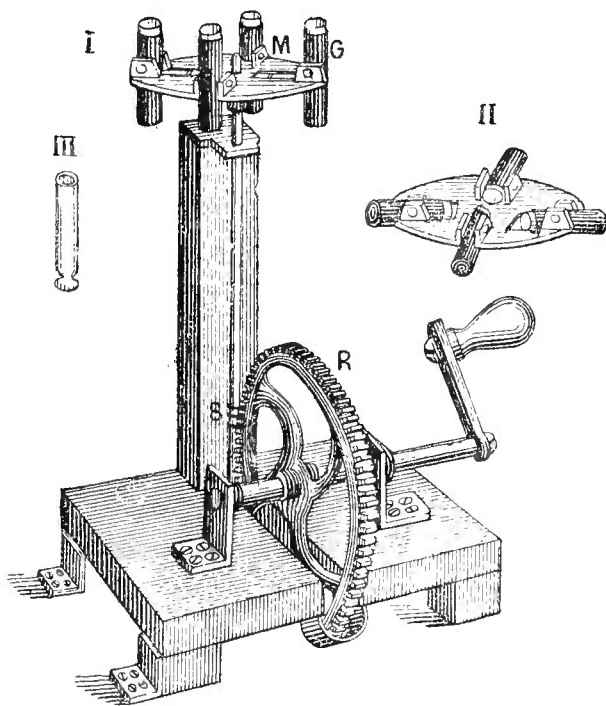
III
1

1

de gé
Puis
la sur
37°.

été indiquée par M. Veillon. On prend quatre tubes de gélose ordinaire, et l'on charge, avec une trace du produit que l'on veut examiner, l'aiguille de platine. Puis, *sans recharger l'aiguille*, on plonge successivement dans l'eau de condensation qui est au fond des quatre tubes

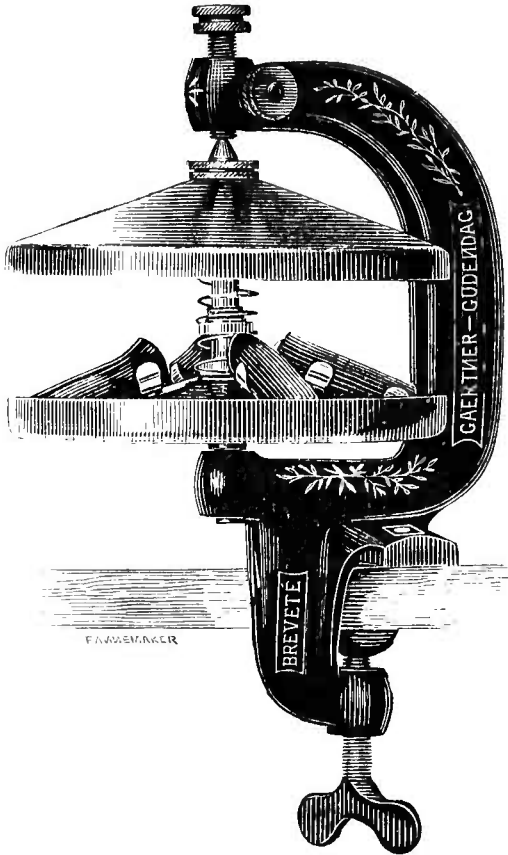
Fig. 34



de gélose, sans toucher à la surface inclinée. Puis on répand cette eau ainsiensemencée sur la surface de la gélose et on met à l'étuve à 37°. Au bout de vingt-quatre heures déjà, les

quatre tubes montrent des colonies, innombrables en général, sur le premier tube ensemençé, de moins en moins nombreuses sur des

Fig. 35



tubes suivants où elles sont assez écartées les unes les autres pour pouvoir être prélevées séparément et examinées.

cu
Sépara
milieu qu
La centri
façon asse
lieux de c
Nous n
reils mar
par une m
ficelle. Il
lement d
la pressio
sullats, a
sante.

Séparation des microorganismes d'avec le milieu qui les contient, par centrifugation. — La centrifugation permet de séparer, d'une façon assez exacte, les microorganismes des milieux de culture où ils sont contenus.

Nous nous bornerons à indiquer deux appareils marchant à la main et mûs, l'un (*fig.* 34), par une manivelle, l'autre (*fig.* 35), à l'aide d'une ficelle. Ils centrifugent bien, mais il existe également des modèles de centrifugeurs mûs par la pression de l'eau. Ils donnent d'excellents résultats, à condition d'avoir une pression suffisante.



CHAPITRE IV

—

CULTURE DES MICROORGANISMES ANAÉROBES

Les procédés que nous venons d'indiquer donnent des cultures faites en présence de l'air : certains microorganismes ne peuvent se développer qu'à l'abri de l'oxygène de l'air.

Cette notion est de date récente. Il y a trente ans à peine, l'oxygène passait pour être une condition indispensable de vie et de multiplication, aussi bien pour les infiniment petits que pour les végétaux à chlorophylle ; mais ce principe, universellement admis, était erroné.

En 1861, M. Pasteur, en étudiant le vibron de la fermentation butyrique et celui du lactate de chaux, démontra l'existence d'*organismes inférieurs* pouvant vivre et se multiplier sans oxygène libre. Après avoir été contestée et mise en doute, cette notion, absolument nouvelle, et

qui cons-
les plus
aucune d
biennes
présence
sidérable
vie aérob
pelés ana
Les pr
l'étude d
milieux
parfaite
On arr
1° par
2° par
3° par
in
Une t
d'oxygè
culture
vide ou
contien
substan
par exe
couvra
niveau

qui constitue une des découvertes biologiques les plus importantes du siècle, ne souffre plus aucune discussion. Nombre d'espèces microbiennes en effet, ne peuvent se développer en présence de l'air ; d'autres, en nombre plus considérable, peuvent facultativement vivre de la vie aérobie ou de la vie anaérobie. On les a appelés anaérobies facultatifs.

Les procédés employés pour la culture et l'étude des anaérobies reposent sur l'emploi de milieux de culture privés, d'une manière aussi parfaite que possible, d'oxygène.

On arrive à ce but de diverses façons :

- | | |
|---|---|
| 1° par l'ébullition ; | } Ces moyens
peuvent être
combinés. |
| 2° par l'emploi du vide ; | |
| 3° par la substitution d'un gaz
inerte à l'oxygène de l'air. | |

Une fois que le milieu de culture est privé d'oxygène dans sa masse, on peut mettre cette culture à l'abri de l'air soit en scellant, dans le vide ou dans un courant de gaz, le tube qui la contient, soit en absorbant l'oxygène par une substance avide d'oxygène, l'acide pyrogallique par exemple (Hans Buchner), soit encore en recouvrant d'une couche d'huile ou de pétrole, le niveau libre du milieu de culture.

Toutes ces méthodes ont été mises à profit avec des dispositifs variés, la plupart combinent l'emploi d'un gaz inerte et du vide. Pour cela, deux tubulures sont nécessaires, l'une pour l'entrée du gaz, l'autre pour l'aspiration par la trompe à mercure ou la trompe à eau. Les différences dans tous les procédés employés tiennent soit à la disposition différente des tubulures soudées latéralement aux tubes, soit dans l'emploi de bouchons de caoutchouc à 2 trous. Nous n'avons pas l'intention de décrire tous ces appareils ; nous indiquerons simplement la façon la plus pratique de faire des cultures dans le vide.

La séparation des microbes anaérobies étant une opération délicate, nous décrirons, en dernier lieu seulement, les procédés que l'on peut employer à cet effet. Nous supposons donc que le commençant tient à sa disposition une culture pure d'un microbe anaérobie (1).

1. Culture en tubes. — La culture en cou-

(1) Un procédé très facile et qui permet d'avoir souvent, comme objet d'étude, une culture pure d'un anaérobie vrai, consiste à immerger dans un tube à essai rempli aux $\frac{3}{4}$ de gélose bouillante un ou deux haricots ordinaires. En mettant ce tube à l'étuve à 37°, le lendemain, on aura une culture abondante de *bacillus butyricus*.

ches p
il est a
pareil,
cultiver
emploie
géluse p
de sulf
glucose
On re
prépare
tube, d
géluse a
semenc
et sans
loin pos
cher le
avec un
haut de
le tube
au bou
abonda
(1) O
La t
tub-
résulta

ches profondes est le procédé le plus simple ; il est dû à Liborius et ne nécessite aucun appareil, ni trompe, ni générateur de gaz. Pour cultiver les anaérobies par cette méthode, on emploie les milieux ordinaires, en particulier la gélose peptonisée et additionnée de 1 pour 1000 de sulfo-indigotate de soude et de 2 pour 100 de glucose.

On remplit les tubes à essai de la gélose ainsi préparée, jusqu'à 5 centimètres de l'orifice du tube, de manière que la colonne bleu foncé de gélose ait 10 centimètres de haut⁽¹⁾. On devra ensemencer avec une aiguille de platine très longue et sans anse, de façon à porter la culture le plus loin possible du contact de l'air. Avant de reboucher le tube, on y versera, pour plus de sûreté, avec une pipette, une couche de 1 centimètre de haut de pétrole ou d'huile stérilisés. On rebouche le tube et on le met à l'étuve à 37°. Souvent, au bout de 12 heures déjà, il se produit des gaz abondants qui peuvent parfois projeter le bou-

(1) On peut encore utiliser la formule suivante :

Gélose ordinaire	1,000
Formiate de soude.	0,5

La teinture de tournesol à dose de 10 gouttes par tube (jusqu'à la coloration violette) donne aussi de bons résultats.

chon hors du tube. En tous cas, on observe une décoloration du tube : la glucose et le sulfo-indigotate, s'oxydant facilement sous l'influence du développement des microbes, s'emparent de l'oxygène dissous ou contenu dans le tube : ce tube, qui était bleu noir avant l'ensemencement, devient jaune foncé ; l'indigo bleu passe à l'état d'indigo blanc ⁽¹⁾.

Pour avoir une culture à l'abri de l'air, on peut encore employer l'artifice suivant qui est

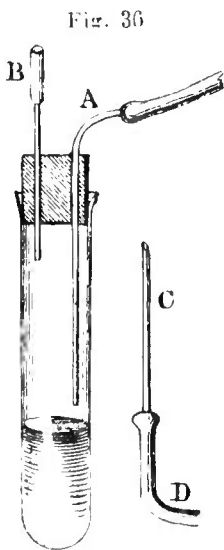


Fig. 36

assez commode. On prend un tube de gélose sucrée à 2 % ou de gélose ordinaire et on le fixe verticalement à l'aide d'un support et d'une pince. On remplace le tampon de ouate (fig. 36) muni de deux tubes de verre A et B. Le tube A, qui doit à son extrémité inférieure effleurer la gélatine, est embranché sur un tuyau de caoutchouc relié à un bec

de gaz d'éclairage. On fait passer le courant

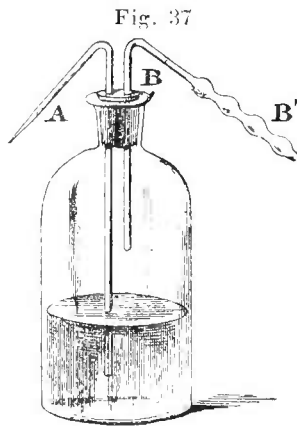
(1) Les tubes préparés depuis longtemps se décolorent de même, la réduction se fait lentement à la température ordinaire.

de gaz 5
bouillir la
Pendant
passe dar
dans la ge
4 à 5 min
immédiat
est facile
à essai),
riété. On
choue et
ordinaire
de façon
gélose et
platine
roi d'u
en rapp
un tuy
condu
ouvert
temps
Les
vés d'
résult
des a
Si
de h

de gaz 5 minutes et, au même moment, on fait bouillir la gélose à l'aide d'un bec de Bunsen. Pendant tout le temps que le gaz d'éclairage passe dans le tube, il ne peut s'en dissoudre dans la gélose qui est en ébullition. Au bout de 4 à 5 minutes, on ferme le robinet et on verse immédiatement, par le petit entonnoir B qu'il est facile de faire soi-même (en effilant un tube à essai), 1 ou 2 centimètres cubes de pétrole stérilisé. On enlève ensuite le bouchon de caoutchouc et on le remplace par le bouchon de ouate ordinaire. Pour ensemencher, on incline le tube de façon à mettre à nu la moitié de la surface de gélose et on fait la piqûre au moyen d'un fil de platine monté sur la paroi d'un tube en verre, en rapport lui-même par un tuyau D avec une conduite de gaz qui reste ouverte pendant tout le temps de l'opération.

Les milieux ainsi privés d'air donnent de bons résultats pour la culture des anaérobies.

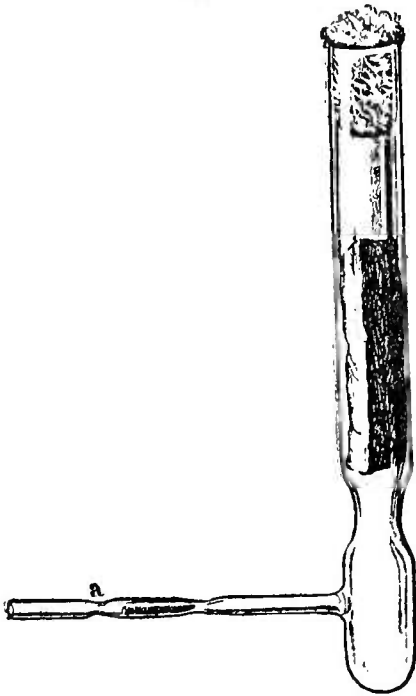
Si l'on veut cultiver dans de grandes quantités de bouillon un microbe anaérobie, le tétanos



par exemple, afin d'étudier ses toxines, on emploiera l'appareil représenté par la *fig. 37*. C'est un flacon d'un litre, à gros col, fermé par un bouchon en caoutchouc à deux trous.

Dans ce bouchon passent deux tubes en verre,

Fig. 38



l'un A va jusqu'au fond du flacon, l'autre jusqu'au col seulement. Ils sont recourbés tous deux. Le tube A se termine par une effilure mince. Le tube B porte deux étranglements, l'un au sommet de la courbure, l'autre près de son orifice libre B'

Tous deux sont garnis de ouate.

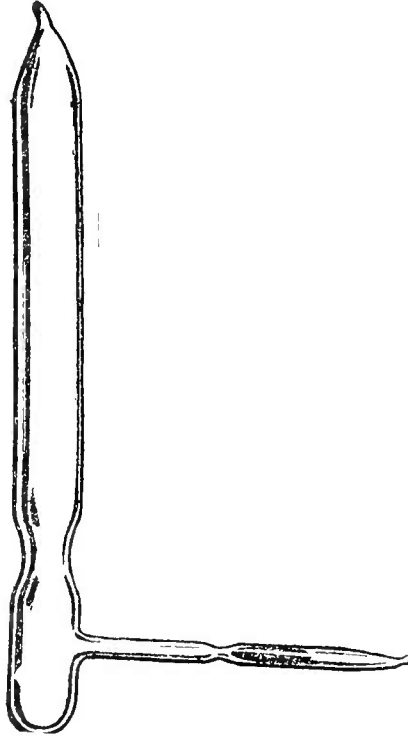
Pour se servir de cet appareil, on le remplit de bouillon à moitié ou aux deux tiers et on le stérilise à l'autoclave à 115° pendant 15 minutes. Quand il est froid, on ensemence son contenu

en flam
l'on plon
semer u
ferme l'
le flaco
barbote
drogèn
B. On
au poin
lampe
te le fl
ensem
tue.
lever
ture.
en B
tre,
la h
ouv
et c
cul
fla
fie

es
d
d

en flambant l'effilure A que l'on casse et que l'on plonge dans le tube de culture dont on veut semer une trace. On aspire quelques gouttes, on ferme l'effilure à la lampe et on fait le vide dans le flacon. Avant de fermer l'effilure, on fera barboter de l'hydrogène de A en B. On ferme B au point B' à la lampe et on porte le flacon ainsi ensemercer à l'étuve. Pour prélever de la culture, on ouvre en B' l'air rentre, se filtre sur la bourre B; on ouvre l'effilure A et on recueille la culture en soufflant par l'orifice B'

Fig. 39



Mentionnons encore l'appareil de Roux, qui est indispensable si l'on veut faire des cultures dans le vide sur pomme de terre. C'est un tube de Roux ordinaire (*fig. 38*) portant une tubu-

lure latérale représentée en *a*. On ensemece la pomme de terre et on scelle le tube à la lampe d'émailleur; puis, on fait le vide avec la trompe à mercure ou la trompe à eau, par la tubulure latérale ou la ferme à la lampe (*fig. 39*); et on met le tube à l'étuve.

2. Procédés de séparation des microbes anaérobies. — Nous ne parlerons pas du procédé de la lame de mica dont Koch recouvrait ses plaques de culture, lame bordée à la paraffine sur le verre de la plaque. Cette méthode est peu pratique et, d'ailleurs, tout à fait insuffisante.

Fig. 40 On pourra employer celle de Liborius, à l'aide des tubes en couches profondes que nous venons de décrire (*fig. 40*). On sème dans la gélose *encore chaude et liquide*, à la température de 40-41°, le mélange de microorganismes que l'on veut séparer. On remue bien avec une longue aiguille de platine de façon à répartir les germes aussi complètement que possible, puis on recouvre d'huile la surface du

tube, que l'on met ensuite à l'étuve. Les colonies anaérobies se développent de préférence dans la profondeur. Pour les étudier et les repiquer, il est nécessaire de sacrifier le tube. A l'aide d'un couteau à verre et d'un charbon Berzélius, on coupe



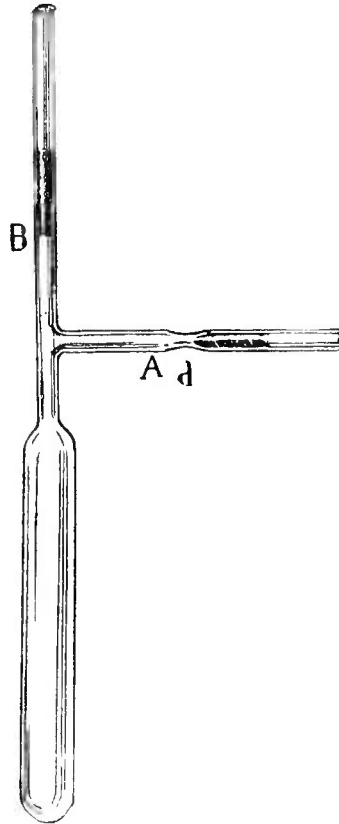
ce tube
une pla
ches mi
et on p
lonies
veloppé
Celle m
toujour
que les
semen
beauc
Un
rable
ou cel
kel. I
est u
deux
41).
gela
on
vid
bar
d'h
séc
de
u
l'

ce tube et on reçoit la gélose ou la gélatine dans une plaque de Petri stérilisée. On coupe en tranches minces le milieu de culture ainsi transvasé et on procède à l'examen systématique des colonies qui se sont développées isolément. Cette méthode n'est pas toujours applicable lorsque les anaérobies ensemencés développent beaucoup de gaz.

Un procédé préférable est celui de Roux ou celui de C. Fraenkel. Le tube de Roux est un tube muni de deux tubulures (*fig. 41*). On y verse de la gélatine, on stérilise, on sème et on fait le vide après avoir fait barboter un courant d'hydrogène ; puis on scelle dans le courant

de gaz. On couche ensuite le tube. On a ainsi une gouttière de gélatine, que l'on examine et où l'on peut puiser les colonies, après avoir coupé

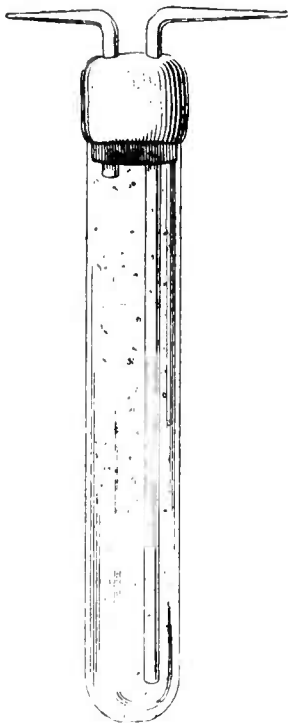
Fig. 41



le verre parallèlement à l'axe du tube, de chaque côté de la gouttière de gélatine.

C. Fænkel remplace par un bouchon à deux

Fig. 42



trous les deux tubulures soudées du tube de Roux.

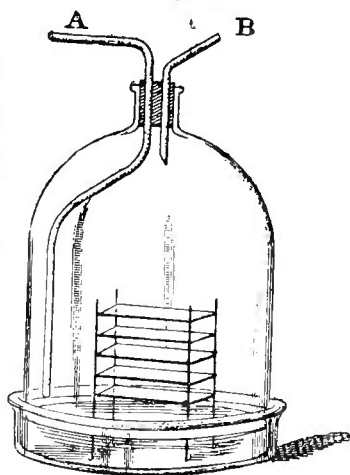
La *fig. 42* montre l'appareil sans qu'il y ait besoin d'en donner une description. On fait barboter de l'hydrogène pendant quatre minutes à travers ce tube, après avoir ensemencé dans la gélatine liquide, et on roule cette gélatine sous un courant d'eau froide à l'intérieur du tube.

Si l'on veut faire des plaques proprement dites, des cultures sur plaques de Petri, dans le vide, on peut employer l'appareil de Bot-

kine. Cet appareil se compose d'une cloche en verre (*fig. 43*) présentant à sa partie supérieure, au lieu d'un bouton, un orifice que l'on bouche avec un bouchon à deux trous où passent deux tubes A et B munis de robinets. La cloche repose dans un cristalliseur plat, plein de glycé-

rine. On place au centre de ce cristalliseur un petit triangle en fer porté par trois pieds, qui émerge de la glycérine. On met sur ce support les plaques de Petri l'une sur l'autre, ou un échafaudage fait avec des baguettes de verre (*fig. 43*) où l'on met les plaques de verre ordinaires recouvertes de gélatine ensemencée. On fait passer un courant de gaz inerte de A en B, après avoir chargé la cloche d'une lourde couronne de plomb, pour empêcher la pression du gaz de la soulever et de faire saillir ses bords en dehors de la glycérine. On ferme les robinets au bout d'une demi-heure ⁽¹⁾.

Fig. 13



(1) Pour s'exercer à la culture des anaérobies, le commençant peut essayer d'obtenir du premier coup des cultures pures de *Vib. septique*. Pour cela, on inoculera à un cobaye sous la peau du ventre, que l'on décolle après y avoir fait au bistouri une petite incision; on met une pincée de terre de jardin dans la petite poche ainsi pratiquée. Pour plus de sûreté, on peut employer le procédé de M. Pasteur qui consiste à léviger cette terre et à inoculer sous la peau le produit de la lévigation chauffé pendant dix minutes, à 100°

Rappelons enfin qu'on a utilisé la chaleur pour obtenir, autant que possible du premier coup, des cultures pures de certaines espèces anaérobies. C'est en employant ce procédé de séparation que Kitasato, en particulier, a réussi à obtenir, le premier, des cultures pures de tétanos (1).

Au bout de 36 heures, le cobaye meurt. Onensemencera avec pureté la sérosité péritonéale. Il y aura de grandes chances pour qu'on ait le *vib. septique* à l'état de pureté, quelle que soit la terre qu'on ait inoculée. On peut encore essayer d'obtenir une culture pure de *bac. amylobacter* en procédant comme nous l'avons dit p. 68.

(1) Le procédé de Vignal (qui s'applique d'ailleurs à toutes les espèces anaérobies) est particulièrement commode pour conserver longtemps les cultures de tétanos. Il consiste en ceci : Dans une pipette de 7 à 8 millimètres de diamètre, munie d'un étranglement (*fig. 53 AB*) ou aspire jusqu'en B le bouillon, ou la gélatine fondueensemencés préalablement avec le tétanos. On fait le vide avec la trompe (après avoir fermé à la lampe la pointe effilée de la pipette), en ajustant un caoutchouc en A, puis on scelle à la lampe l'étranglement en B.

CHAPITRE V

ÉTUVES

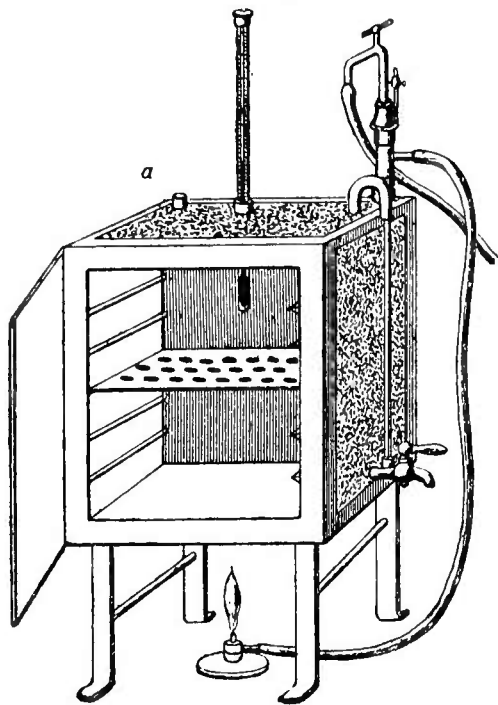
La très grande majorité des microorganismes se cultive entre 20 et 38°. On conçoit qu'il importe d'avoir des étuves dont la température puisse être maintenue constante, sans être influencée par les variations de la température extérieure ni par les changements de pression du gaz.

Pour atteindre ce but, on a construit un grand nombre d'étuves. Nous n'en décrivons que trois types, suffisant à tous les besoins.

1. Étuve de Gay-Lussac avec régulateur de Raulin. — C'est une caisse (*fig. 44*) dont toutes les parois sont doubles, sauf la porte qui est vitrée; elle est portée sur quatre pieds en fer. On remplit l'intervalle des deux parois avec de l'eau ou mieux avec de l'huile introduite par l'orifice

a, on chauffe avec un tout petit bec de Bunsen à flamme bleue, pour éviter les dépôts de noir de fumée sur le fond de la caisse, dépôts qui tom-

Fig. 41



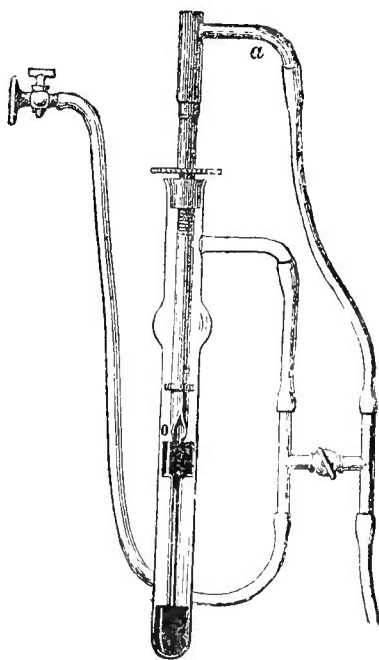
bent sur le brûleur au bout d'un certain temps et peuvent l'éteindre. Ce bec est branché sur le tuyau du régulateur (fig. 45) dont le tube partant du robinet *b* est branché sur la conduite. Voici comment on règle l'étuve.

On dévisse le tube en fer jusqu'à ce que la pointe en sifflet qui le termine sorte du mercure. On allume le gaz à plein canal et on note la température intérieure de l'étuve, où l'on a placé un thermomètre ; lorsqu'on arrive à $\frac{1}{2}$ ou à 1 degré au-dessous de la température que l'on dé-

sire
flam
viron
est re
peu p
ainsi
ment
vite e
tube
son r
tube
Grâce
qui
veille
ne p
s'été
vira
laiss
de g
ner
veil
O p
plét
pou
bru
les
Cet

sire obtenir, on visse le tube jusqu'à ce que la flamme ait la hauteur d'un travers de doigt environ et on attend pour voir si la température est restée constante. Si elle baisse, on donne un peu plus de flamme et inversement. On arrive ainsi par tâtonnement à régler très vite cette étuve. Le tube en **H** avec son robinet, est un tube de sûreté. Grâce à ce robinet qui fait office de veilleuse, l'étuve ne pourra jamais s'éteindre. On l'ouvrira de façon qu'il laisse passer assez de gaz pour donner une flamme de veilleuse, le sifflet **O** plongeant complètement dans le mercure; cette précaution a pour but de parer aux inconvénients d'une trop brusque ascension du mercure, lorsqu'on ouvre les gazomètres en ville, un peu avant la nuit. Cette étuve ainsi réglée donne d'assez bons résul-

Fig. 15



tats (1). Le régulateur tout en fer, n'est point fragile, il est seulement un peu dispendieux. On peut le remplacer par le régulateur Chancel qui est à peu près fondé sur le même principe, qui est peu coûteux et dont nous nous bornerons à donner la figure (fig. 46).



Fig. 46

A, arrivée du gaz.

B, sortie du gaz.

V, vis en fer permettant de faire monter ou descendre le mercure

2. **Étuve de d'Arsonval** (fig. 47). — Cette étuve se compose de deux vases cylindro-coniques limitant deux cavités : l'une centrale, qui est l'enceinte qu'on veut maintenir constante; l'autre annulaire, que l'on remplit par la douille et qui constitue le matelas liquide soumis à l'action du foyer; ce matelas d'eau distribue régulièrement la chaleur autour de l'enceinte et empêche celle-ci de subir de brusques variations de température. La paroi externe de l'étuve porte une tubulure latérale qui, communiquant avec l'espace annulaire, se trouve fermée à

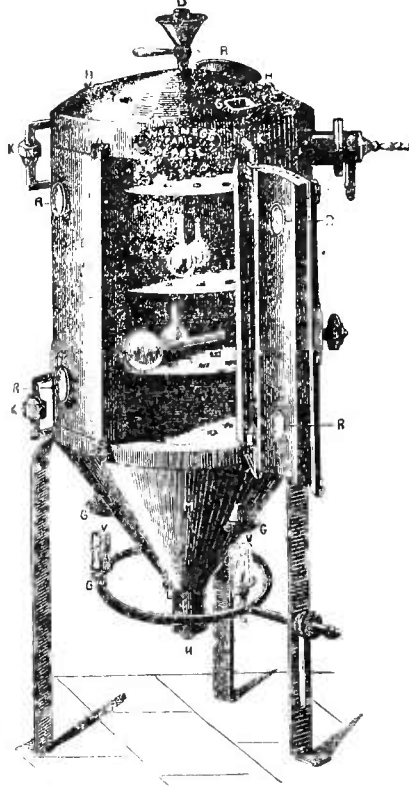
(1) Néanmoins on a des ascensions ou des abaissements de température de 1^o,5 à 2^o,5 dus aux changements de pression du gaz avant la nuit et vers deux heures du matin.

l'extérieur par une membrane verticale de caoutchouc qui constitue, lorsque l'appareil est clos, la seule portion de paroi susceptible de traduire à l'extérieur, en les totalisant, les variations de volume du matelas d'eau.

Or, le gaz qui doit alimenter le brûleur est amené par un tube qui débouche normalement au centre de cette membrane et à une faible distance de sa surface externe, dans l'intérieur d'une boîte métallique, d'où il ressort par

un autre orifice qui le conduit au brûleur : tube et membrane constituent de la sorte un robinet très sensible dont le corps d'ouverture est sous la dépendance des variations de volume du matelas d'eau et qui ne laisse aller au brûleur que

Fig. 17



la quantité de gaz strictement nécessaire pour compenser les causes de refroidissement.

Supposons qu'on veuille régler cette étuve à 37°. On la remplit d'abord d'eau bouillie et privée d'air, on laisse l'orifice D ouvert, on allume les becs après avoir dévissé le tube V, de façon à ce que la flamme soit au maximum. L'eau, par dilatation, sort par l'orifice D, on la recueille par un petit trop plein qu'on branche sur un tube de caoutchouc, pour ne pas oxyder l'étuve. On place le thermomètre en T et quand la température a atteint 36°,5 on bouche hermétiquement l'orifice avec un bon bouchon de caoutchouc plein. On visse le tube V, jusqu'à ce que son extrémité touche la membrane en caoutchouc ; on ne s'en aperçoit que lorsque la flamme baisse et tombe brusquement. Alors, on dévisse le tube V jusqu'à ce que la flamme ait une hauteur d'un travers de doigt environ (1). L'étuve est ainsi réglée ; la flamme montera ou descendra automatiquement, suivant les diminutions ou les augmentations de la température extérieure et de la pression du gaz.

(1) Si la chambre a une température de 15 à 20 degrés, cette hauteur de flamme est suffisante. Si elle est plus froide ou plus chaude on donnera plus ou moins de flamme.

Si l'on veut porter la température d'une étuve déjà réglée à 37°, à 39° par exemple, il faudra enlever le bouchon qui est en D. Immédiatement, la flamme des brûleurs montera au maximum, l'eau débordera par l'orifice. On surveillera le thermomètre, et quand il marquera 39° on rebouchera solidement l'orifice avec le bouchon. L'étuve sera réglée. Pour passer de 37 à 30° par exemple, on éteint le gaz, on débouche l'orifice. On attend que le thermomètre marque 30° on ajoute de l'eau jusqu'au ras de l'orifice, on bouche et on rallume. Si le gaz ne passe pas, on dévisse légèrement le tube V jusqu'à ce que la flamme ait atteint la même hauteur qu'auparavant. Ces étuves sont excellentes et commodes. Il faut éviter de les placer le long des fenêtres ; car elles pourraient s'éteindre pendant la nuit. Il faudra aussi avoir grand soin de vérifier, au moins une fois par mois, les caoutchoucs qui amènent le gaz à l'étuve ; ils peuvent, en effet, se fendiller autour des robinets et des ajutages, quand ils sont en usage depuis longtemps, et donner ainsi lieu à un incendie (1). Cette

(1) Les tubes métalliques flexibles qu'on vend pour empêcher cette cause d'incendie ne peuvent être recommandés. Leurs extrémités sont en caoutchouc. Par conséquent, ils ne pourront donner qu'une fausse sécurité.

précaution s'applique du reste à toutes les étuves.

On a construit des étuves d'Arsonval à membrane métallique, qui, si elles étaient bien construites, pourraient rendre des services, particulièrement pour la tyndallisation et pour la coagulation du sérum. On peut, en effet, les régler à des températures très élevées, tandis qu'à ces températures, les étuves avec membrane de caoutchouc se détériorent très vite. Cette étuve à membrane métallique se règle comme la précédente.

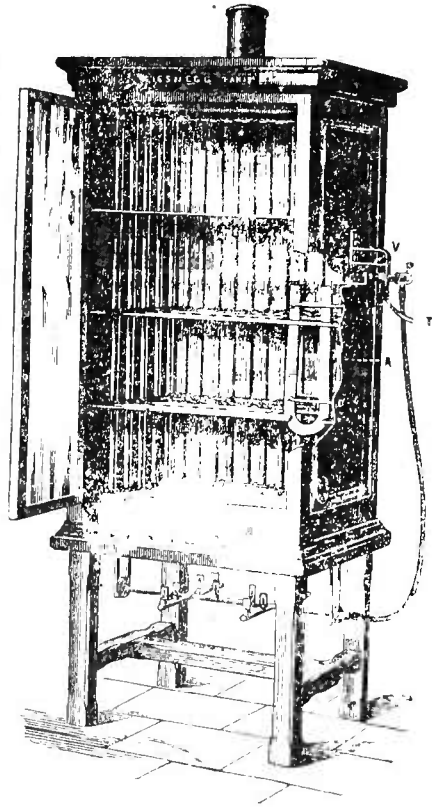
3. Étuve de M. Roux. — Un troisième modèle d'étuve, plus grande que les autres, est l'étuve de M. Roux; c'est l'étuve Scribeaux, munie d'un thermo-régulateur métallique.

La chaleur s'obtient au moyen de l'air qui circule tout autour de l'étuve. L'entrée du gaz est réglée par un piston dont les mouvements de va et-vient sont actionnés par le régulateur métallique. Une vis V (*fig. 48*) permet de régler l'entrée du gaz en éloignant le piston. On la règle de la façon suivante : on allume le gaz à plein canal en tournant l'écrou A en sens inverse des aiguilles d'une montre, jusqu'à fin de course. Quand la température intérieure de l'étuve a atteint le degré voulu, on règle la hau-

teur du gaz en tournant l'écrou dans le sens des aiguilles d'une montre, jusqu'à ce que la température reste constante. Cette étuve, spacieuse et commode, donne, comme constance de température, de très bons résultats.

Quelque modèle que l'on choisisse, deux étuves sont indispensables à tout bactériologiste : l'une réglée à 37° pour les cultures dans le bouillon, le sérum et la gélose, l'autre réglée à 20 ou 22° pour les tubes et les plaques de gélatine. On peut cependant, à la rigueur, laisser les tubes et les plaques de gélatine à la température de la chambre où l'on travaille, particulièrement en été, mais les colonies s'y développeront plus lentement et d'une façon plus irrégulière.

Fig. 48



CHAPITRE VI

—

CONTENTION DES ANIMAUX MATÉRIEL NÉCESSAIRE AUX INOCULATIONS

1. Moyens de contention. — Les animaux sur lesquels on a le plus souvent l'occasion de pratiquer des inoculations en bactériologie sont le cobaye, le lapin, les souris et les rats, les poules et les pigeons ; les chiens, les chats, les moutons servent plus rarement.

Les inoculations peuvent être faites, sous la peau, dans le sang, dans les cavités pleurale ou péritonéale, par ingestion ou par inhalation.

Quel que soit le mode d'inoculation employé, les animaux doivent être maintenus immobiles pendant qu'on les inocule. On emploie, pour cela, différents moyens de contention dont nous indiquerons les principaux.

Le plus simple est de faire maintenir l'ani-

mal,
qui se
tête et
une t
la col
empêc
des
qu'on
Ce
emplo
culati
intra-p
rales,
ne se
pin ou
ple.
Pou
on dev
(fig. 4
pédicu
Un an
dans s
gue p
corps
dessus
et il e
Pou

mal, quand il est de petite taille, par un aide, qui saisit le train de derrière d'une main, la tête et le train de devant de l'autre, en exerçant une traction suffisante sur la colonne vertébrale pour empêcher l'animal de faire des soubresauts pendant qu'on l'injecte.

Ce procédé ne peut être employé que pour les inoculations sous-cutanées et intra-péritonéales ou pleurales, chez les animaux qui ne se défendent point, le lapin ou le cobaye par exemple.

Pour les rats et les souris, on devra employer un clamp (*fig. 49*) c'est une pince à pédicule de kyste de l'ovaire. Un aide prendra l'animal dans sa cage, avec cette longue pince, par la peau de la nuque et fixera son corps le long de la pince et en tirant légèrement dessus (*fig. 50*). L'animal ne peut se débattre et il est hors d'état de nuire.

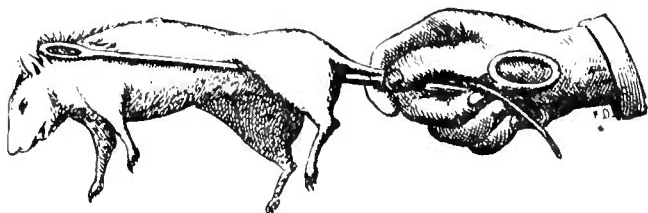
Pour les animaux plus gros, tel que le cobaye

Fig. 49



et le lapin, si l'on veut les attacher, on emploie, de la façon la plus simple, des planches en bois

Fig. 50



de hêtre, de dimension variable suivant l'animal ⁽¹⁾, portant sur leur tranche quatre pitons en fer vissés aux extrémités des deux côtés les

Fig. 51



plus longs (*fig. 51*). On y attache l'animal par les quatre pattes ; pour cela, un aide qui tient l'ani-

mal est nécessaire. On prend de simples bouts de ficelle dont on fait des nœuds cou-lants ; on les passe autour des pattes, immédia-tement au-dessus des pieds ou au-dessus des jar-rets et on pose l'animal sur la planche, sur le dos ou sur le ventre, suivant le besoin ; on attache d'abord une patte de derrière, puis la patte de devant du côté opposé, en diagonale.

(1) Pour le lapin : 50^{cm} × 30^{cm}

" cobaye : 40^{cm} × 20^{cm}

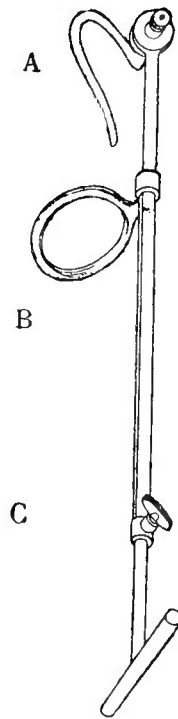
En passe
quatre co
elle une
puisse p
palle de
Quand
lisie, cou
faire les
neuses e
alors un
pliqué.
C'est u
gue, sou
fer et pe
distances
Elle pu
tige en
porte-tig
dans ce
mors de
de l'anim
mode es
est ext
voici le
Le cr
l'anima
est ame

En passant la ficelle dans les pitons qui sont aux quatre coins de la planche, on devra exercer sur elle une traction suffisante pour que l'animal ne puisse plus bouger ; on attache ensuite l'autre patte de derrière, puis l'autre patte de devant.

Quand la tête doit être immobilisée, comme par exemple pour faire les inoculations intra-veineuses chez le lapin, on utilise alors un appareil un peu plus compliqué.

C'est une planche carrée oblongue, soutenue par quatre pieds en fer et percée de trous à différentes distances, le long des côtés longs. Elle porte à une extrémité une tige en fer verticale, munie d'un porte-tige mobile à écrou. C'est dans ce porte-tige qu'on fixe le mors destiné à immobiliser la tête de l'animal : le mors le plus commode est celui de M. Malassez qui est extrêmement pratique ; en voici le dessin (*fig. 52*).

Fig. 52



Le crochet A est passé derrière la nuque de l'animal, l'anneau B, mobile le long de la tige, est amené autour du museau de l'animal, dont la

tête doit être serrée et rendue immobile entre l'anneau qui fait muselière et le crochet ; un écrou C assure cette immobilité. On passe la tige du mors dans une pince à vis fixée sur la tige verticale de l'appareil décrit plus haut, et on la fixe, après avoir tendu la tête de l'animal de façon à ce qu'il ne puisse plus bouger.

Pour attacher les chiens, nous indiquerons un moyen simple ne nécessitant ni mors, ni muselière. Il faut avoir à sa disposition une table solide de 1 mètre de longueur sur 60 centimètres de largeur, garnie de plomb et munie d'un tube d'écoulement pour les liquides. Cette table, facile à désinfecter, pourra de plus servir pour les autopsies.

On commence par museler l'animal. Pour cela, on emploie une cordelette, de la grosseur d'une plume de corbeau ; un aide assis, maintient l'animal entre ses jambes, lui tenant les pattes de devant et lui élevant la tête. On passe la corde dans la gueule de l'animal, le milieu de la corde derrière les canines inférieures, les deux chefs de la corde pendant en bas. On fait un premier nœud sous le menton, on ramène les deux chefs de la corde sur la mâchoire supérieure et on fait un second nœud à la racine du nez, puis un troisième nœud sous le menton et un qua-

trième
les mu
trém
l'anim
pliera

On a
plaçant
cordele
de deva
rière. C
autour
un X a
une pa
côté op

2. M

fois at
lequel

On
l'avon
l'aide
cette p
ture. C
pneun

Dar

(1)

trième derrière la nuque. Ce procédé vaut toutes les muselières que l'on a inventées et il est extrêmement pratique. Dans les opérations où l'animal doit avoir la gueule ouverte on emploiera le mors de Malassez ⁽¹⁾.

On attache ensuite l'animal sur la table, en plaçant des nœuds coulants faits avec une solide cordelette au dessus du poignet pour les pattes de devant, au-dessus du pied pour celles de derrière. On attache les chefs des nœuds coulants autour des quatre pieds de la table en formant un X autour des montants; on attachera d'abord une patte de devant, puis la patte de derrière du côté opposé.

2. Matériel d'inoculation. — L'animal une fois attaché, il faut préparer l'instrument avec lequel on va l'inoculer.

On peut inoculer un animal, comme nous l'avons déjà dit, par une simple plaie faite à l'aide d'un bistouri ou de ciseaux; on touche cette plaie avec le fil de platine chargé de culture. C'est ainsi qu'on inocule les souris avec le pneumocoque.

Dans certains cas, on emploie, pour inoculer,

(1) *Archives de médecine expérimentale*, 1890.

la pipette Pasteur (*fig. 53*) (1). C'est un tube de 5 millimètres de diamètre environ, effilé à une

Fig. 53



des extrémités qui est fermée, ouvert à l'autre, et qui porte un bouchon de ouate. Pour se servir de cette pipette, qui a dû être stérilisée d'abord au four Pasteur, on flambe la pointe, on la casse avec les doigts ou avec une pince, on en refflambe soigneusement l'extrémité et on y introduit par aspiration la culture que l'on veut inoculer.

(1) Pour faire une pipette, il faut prendre un tube de 5 millimètres de diamètre intérieur; on en coupe un morceau de 25 centimètres de long. On fond ce tube en son milieu, dans la flamme de la lampe d'émailleur, en le tournant constamment entre les doigts pour chauffer également toutes les parties du cylindre de verre. Quand il est au rouge sombre, on le retire de la flamme et on l'étire, de façon que la partie effilée atteigne sa longueur primitive du tube; on fond, d'un trait de flamme, l'effilure à son milieu. On a ainsi deux pipettes, on les bouche avec un bouchon de ouate, à leur extrémité ouverte, puis on les stérilise au four Pasteur.

La seringue
plus commode
Il est su
nécessité qu
servir. les s
podermique
expériences
simple et le
rilsation es
de Pravaz s
pas ce mod
seringue es
tion de la
que l'instr
d'être étar
part, pour
piston, on
une condi
outre la s
qu'elle a
exemple,
graisses.
Pour
de diver
des ser
sables.
avait pe

La *seringue* est de beaucoup l'instrument le plus commode pour inoculer.

Il est superflu aujourd'hui d'insister sur la nécessité qu'il y a de stériliser, avant de s'en servir, les seringues destinées aux injections hypodermiques chez l'homme, aussi bien qu'aux expériences de laboratoire. Le procédé le plus simple et le plus efficace pour effectuer cette stérilisation est l'emploi de la chaleur. La seringue de Pravaz si répandue et si commode ne supporte pas ce mode de stérilisation. Le piston de cette seringue est en cuir, qui se racornit sous l'action de la chaleur, sèche ou humide, de sorte que l'instrument, après la stérilisation, cesse d'être étanche et ne peut plus servir. D'autre part, pour maintenir la souplesse du cuir du piston, on est obligé de le graisser, ce qui est une condition permanente de souillure et met en outre la seringue de Pravaz hors d'usage, lorsqu'elle a servi à des injections d'éther, par exemple, ou d'autres liquides qui dissolvent les graisses.

Pour ces motifs, depuis plusieurs années, et de divers côtés, on s'est appliqué à construire des seringues facilement et sûrement stérilisables. Dans le laboratoire de M. Pasteur, on avait pendant longtemps renoncé à l'emploi des

seringues pour les inoculations, et l'on se servait de la pipette en verre de Pasteur, préalablement flambée. Mais, l'extrémité effilée de cette pipette est très fragile; elle traverse difficilement la peau et les tissus un peu résistants; en outre, il est malaisé de doser exactement la quantité de liquide injectée par ce moyen.

M. Koch se servait autrefois d'une seringue stérilisable composée d'un cylindre en verre et d'une monture métallique assujettie par un pas de vis. Le piston était en coton tassé à l'aide d'un fil. La seringue était stérilisée à la chaleur sèche à 150°; puis, avant de s'en servir, on humectait le piston avec de l'eau stérilisée. Depuis, il a renoncé à cette seringue et lui a substitué une seringue toute en verre, où le piston est remplacé par un ballon de caoutchouc.

Cette seringue présente certains inconvénients; il n'en est pas de même de la seringue de Straus-Collin dont nous allons donner la description et qui, comme sûreté et commodité, ne laisse place à aucune critique.

L'originalité de cette seringue, construite sur le modèle de la seringue de Pravaz, est la substitution d'un piston en moelle de sureau au piston en cuir. La moelle de sureau supporte parfaitement l'action de l'eau bouillante ou de la vapeur

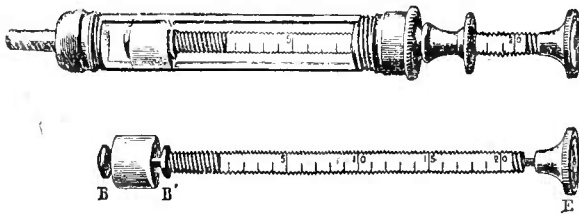
d'eau;
comprim
l'humid
trument
dans l'e
vient qu
de moel
son élas
sur le c
le long d
Le pis

d'un di
deux bo
sureau
bien dé
l'axe, p
Ce disq
par une
inférie
B' fait
Wtr

d'eau ; quand elle a été préalablement un peu comprimée, elle a la propriété de se gonfler par l'humidité, de sorte que l'herméticité de l'instrument, loin d'être compromise par l'ébullition dans l'eau ou le séjour à l'autoclave, n'en devient que plus parfaite. D'autre part, le piston de moelle de sureau, grâce à sa souplesse et à son élasticité, tout en se moulant exactement sur le cylindre, glisse aisément et sans ressaut le long de la paroi de verre.

Le piston de la seringue (*fig. 54*) se compose

Fig. 54



d'un disque de moelle de sureau serré entre deux boutons métalliques B et B'. La moelle de sureau doit être choisie bien souple et doit être bien décortiquée ; on la tasse transversalement à l'axe, par une pression modérée avec les doigts. Ce disque de sureau est traversé, suivant l'axe, par une broche de section carrée dont le bout inférieur se termine par le bouton B. Le bouton B' fait corps avec la tige creuse du piston, et la

broche, enfilée dans cette tige, est munie à son extrémité supérieure d'un pas de vis qui reçoit le bouton-écrou E.

Grâce à ce dispositif, le piston de moelle de sureau peut être serré à volonté, dans le sens de sa hauteur, par le rapprochement des deux boutons B et B' d'où il résulte un élargissement de son diamètre ; on assure ainsi le contact étanche du piston avec la paroi de la seringue. Ce serrage est opéré par le jeu du bouton-écrou E et, par conséquent, en agissant du dehors, sans que l'on soit obligé de démonter la seringue ou de toucher au piston.

Dans la seringue de Pravaz ordinaire, entre chaque extrémité du cylindre de verre et la monture métallique de la seringue, se trouve interposée une rondelle de cuir qui assure l'herméticité de l'instrument, mais qui offre les mêmes inconvénients que le piston de cuir et ne supporte pas l'action de la chaleur. Ces rondelles de cuir sont remplacées par des rondelles faites également avec de la moelle de sureau fortement tassée.

La seringue de Straus-Collin se compose ainsi exclusivement de métal, de verre et de moelle de sureau.

Elle peut donc, en toute sécurité, se stéri-

liser par la chaleur humide (eau bouillante, vapeur d'eau à 100° ou vapeur d'eau sous pression). Il ne faut pas employer la chaleur sèche, qui racornit la moelle de sureau. Pour les injections hypodermiques médicamenteuses, chez l'homme, et pour les opérations ordinaires du laboratoire, il suffit de faire bouillir la seringue pendant quelques minutes dans un vase quelconque contenant de l'eau. Il est bon de remplir préalablement la seringue de ce liquide, avant de la faire bouillir. Si, pour des recherches bactériologiques spéciales, on veut obtenir une stérilisation plus particulièrement rigoureuse, on met la seringue à l'autoclave à 115 ou 120°, pendant un quart d'heure.

Le piston et les rondelles de moelle de sureau peuvent servir pendant plusieurs mois sans être mis hors d'usage. Quand il sera nécessaire de les renouveler, rien n'est plus facile que de le faire soi-même, sans recourir au fabricant. Voici comment il faut procéder : on décortique avec soin un cylindre de moelle de sureau ; on le tasse perpendiculairement à son axe, par pression entre les doigts et on l'introduit dans le cylindre de verre ; on l'embroche sur la tige pleine ; on enfile la tige creuse sur la tige pleine, on visse le bouton-écrou et le piston est prêt à

servir. Entre chaque extrémité du cylindre de verre et la monture métallique, on interposera de même une rondelle de sureau fortement tassée (1).

Pour remplir la seringue de la culture que l'on veut inoculer, il faut procéder de la façon suivante.

1° *La culture à injecter est un milieu liquide (bouillon).* On prend une pipette, on prélève avec cette pipette, dans le tube de bouillon, à peu près la quantité nécessaire à l'inoculation et on la décante dans une capsule en platine préalablement stérilisée sur la flamme du bec de gaz et refroidie (2). C'est dans cette capsule qu'on puisera avec la seringue.

2° *La culture à injecter est sur milieu solide.* On commencera par introduire, dans la capsule de platine, avec la pipette, une quantité suffisante d'un liquide stérile (bouillon ou eau stérilisée), et avec l'anse de platine on y délaiera

(1) Les aiguilles de cette seringue devront être en platine iridié (aiguilles de M. Debove). Elles sont d'une commodité extrême et ont remplacé les aiguilles en acier ou en or.

(2) On fera bien de la recouvrir d'un verre de montre pendant le refroidissement; on ne versera le bouillon que lorsque le platine sera froid, ce dont on s'assurera en touchant l'extérieur de la capsule.

la quantité de culture qu'on jugera nécessaire. S'il y a de trop gros grumeaux et que l'on craigne qu'ils ne bouchent le calibre de l'aiguille, on les dissociera avec l'anse de platine avant de remplir la seringue. On procédera alors, comme précédemment, en aspirant soit par la pointe, soit par l'extrémité du corps de pompe, et on pratiquera l'inoculation.

Pour transporter commodément la seringue de Straus, il est bon de la placer dans un tube à essais ordinaire, bouché avec un bouchon de ouate. L'on stérilise le tout à l'autoclave et on peut ainsi transporter commodément la seringue. De même, lorsqu'on a fait avec les précautions voulues, un prélèvement de sang, de pus ou d'un liquide quelconque, au lit du malade, on replace la seringue, pleine ou à moitié pleine, avec son aiguille dans le même tube stérile qui a servi à l'apporter et l'on peut, de retour au laboratoire, procéder immédiatement avec une sécurité absolue, aux ensemencements, et aux inoculations.

CHAPITRE VII

—

INOCULATIONS

Les inoculations peuvent être faites de différentes façons : sous la peau, dans le tissu cellulaire sous-cutané, dans les cavités pleurale et péritonéale, dans le sang, dans la chambre antérieure de l'œil, sous la dure-mère, etc.

De plus, on peut introduire des microbes dans l'économie par ingestion et par inhalation.

1. Inoculations sous-cutanées. — Elles se font de la façon la plus simple, avec la seringue stérilisée (seringue de Straus). Supposons qu'on veuille inoculer un cobaye sous la peau du ventre.

La peau doit être rasée, soit avec des ciseaux ⁽¹⁾ soit même avec un rasoir ; puis, ainsi dénudée, lavée avec la solution de sublimé à 1 pour

(1) La tondeuse ne donne pas de bons résultats.

1000 (1), ou brûlée légèrement avec une lame de platine ou une baguette de verre, chauffée au rouge sombre sur le bec de gaz.

Un aide tenant l'animal, on prend, entre le pouce et l'index de la main de gauche, la peau, au voisinage de l'endroit rasé et cautérisé et non à cet endroit même, on la tire en faisant un pli perpendiculaire à la surface du ventre; puis, on enfonce l'aiguille de la seringue à la base de ce pli (après avoir flambé cette aiguille qui est en platine iridié), perpendiculairement, c'est-à-dire parallèlement à la surface du ventre. En perçant la peau, il faut prendre garde de ne pas piquer trop fort, et ne pas la transpercer. On s'assure en tâtant avec le doigt, à travers la peau, qu'on est bien dans le tissu cellulaire sous-cutané et on pousse l'injection. On retire la seringue et on cautérise avec une lame de platine, le point d'inoculation. On inoculera de la même façon n'importe quelle partie du corps. La souris doit être inoculée sous la peau du dos, à la racine de la queue : on la prend de la main gauche, par la peau de la nuque, avec le clamp, dans son bocal ou sa cage ; on la maintient en tirant lé-

(1) Sublimé : 1 gramme, sel marin : 1 gramme, eau : 1000 grammes.

gèrement la queue le long de la tige du clamp, et on l'inocule (1).

La seringue ne peut être employée que si l'on injecte sous la peau un liquide quelconque ou une dilution de culture solide. Pour inoculer par la voie sous-cutanée, des substances solides, de la terre par exemple, on procède de la façon suivante : On incise la peau, puis on la décolle avec une sonde cannelée, ou le manche du scalpel, de façon à faire une petite poche, dans le tissu cellulaire sous-cutané. On y loge la terre à l'aide de la spatule en platine et on fait un point de suture pour empêcher l'issue de la terre. C'est ainsi, par exemple, qu'on inocule à des cobayes le vibrion septique de Pasteur. On peut enfin inoculer par scarification ou en écorchant la peau, en faisant une petite plaie que l'on touche avec l'anse de platine chargée de traces de la culture que l'on désire inoculer. Pour inoculer le pneumocoque à une souris, par exemple, on fera, à la base de la queue, une petite coupure avec un bistouri bien tranchant, et on la touchera avec le fil de platine chargé de pneumocoques.

(1) Les injections intra-musculaires ne présentent aucune difficulté et ne nécessitent aucune description, on inoculera dans les masses charnues.

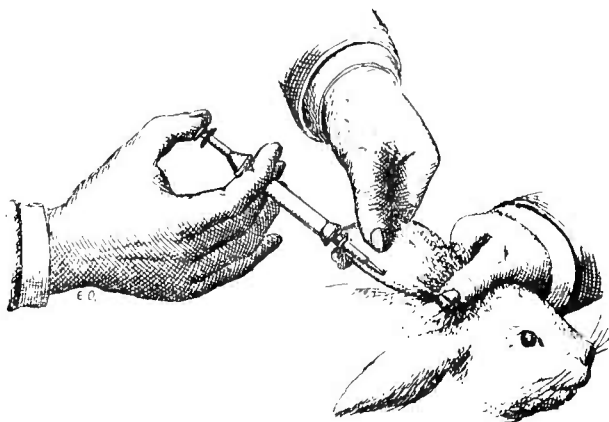
2. Inoculations intra-veineuses. — Pour le lapin, on choisit la veine marginale de l'oreille; pour le chien, la saphène; pour les gros animaux, la jugulaire. On la fait saillir en comprimant la base du cou, dans la gouttière formée par la trachée et le sterno-cléido-mastoïdien et on la voit se gonfler et saillir. On y plonge alors le trocart la pointe dans la direction du cœur; pour la poule et les pigeons, on choisira la veine axillaire; pour les cobayes, la jugulaire.

Nous décrirons seulement en détail la technique à suivre pour le lapin et le chien. Quand on sait les faire chez ces animaux, les autres inoculations intra-veineuses ne présentent plus aucune difficulté.

La veine que l'on doit choisir de préférence chez le *lapin*, pour y faire une inoculation, est la veine marginale de l'oreille. Cette veine est située sur le bord externe de l'oreille, du côté le plus mince et le plus garni de poils. On attache l'animal sur le ventre et on lui passe le mors Malassez; on coupe de très près, avec des ciseaux, les poils de l'oreille sur 5 à 6 centimètres en amont et en aval du point où l'on va pratiquer l'injection. La veine doit se dessiner en violet sur le fond blanc de la peau, surtout si on pince avec les doigts la base de l'oreille. On lave

avec la solution de sublimé à 1 pour 1000 l'endroit rasé, on place l'animal devant soi, le museau le plus près de l'opérateur, le train de derrière le plus éloigné ; on prend de la main gauche l'extrémité de l'oreille, de façon à ce que l'on puisse piquer d'arrière en avant, en suivant le cours du sang veineux (*fig. 55*). On pique la

Fig. 55



veine (qu'un aide peut rendre saillante en comprimant la base de l'oreille) à travers la peau, la pointe de l'aiguille étant naturellement dirigée vers la base de l'oreille et parallèlement à son plan ; on tend l'oreille, à ce moment, sur l'index de la main gauche de façon à avoir un point d'appui pour piquer sûrement.

Il faut piquer avec l'aiguille déjà emmanchée sur le corps de la seringue. Lorsqu'on est dans

la veine on pousse doucement le piston et, l'injection faite, on cautérise avec la lame de platine le point où la veine a été piquée. S'il faut injecter le contenu de plusieurs seringues, on fixe l'aiguille en pinçant l'oreille avec une pince à mors plats garnis de caoutchouc.

On verra qu'on n'est pas dans la veine, s'il se produit une boule d'œdème autour de la pointe de l'aiguille. D'ailleurs, l'animal soubresaute presque toujours, par suite de la douleur que lui cause l'injection dans le tissu cellulaire sous-cutané serré de l'oreille.

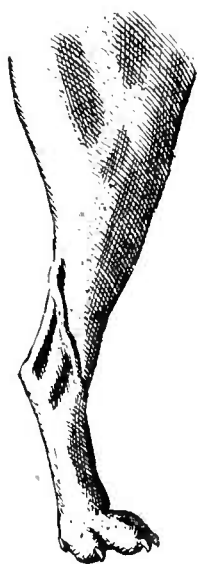
Il est bon d'ajouter que si l'on n'a qu'une injection de 1 centimètre cube à faire, il n'est pas nécessaire d'attacher l'animal, ni même de lui faire fixer la tête par un aide. On le place sur la table, en liberté, on lui prend l'oreille, comme nous avons indiqué, et on arrive le plus souvent à pratiquer l'injection sans qu'il secoue seulement la tête.

L'injection dans la veine saphène d'un *chien* est un peu plus compliquée, car il faut dénuder la veine; elle n'offre cependant pas de difficultés.

On musèle le chien, on l'attache sur le ventre comme nous l'avons indiqué, de façon que les pattes de derrière présentent leur face externe. La veine saphène se trouve sur cette face ex-

terne. Il faut la dénuder au-dessus du jarret (*fig. 56*). On incise environ vers le milieu de

Fig. 56



la patte, longitudinalement; on dénude sur un espace de 1 à 2 centimètres, et on passe, avec l'aiguille de Cooper, un double fil, l'un pour pratiquer une ligature en aval, un second pour lier la canule du trocart, si on emploie cet instrument.

L'injection une fois faite, on enserme le point piqué entre deux ligatures et on recoud la peau de la plaie que l'on lave bien avec la solution de sublimé. Un pansement est inutile. Si on emploie une seringue à injection ordinaire, il suffit simplement de dénuder la veine, de la piquer, de pousser l'injection et de cautériser légèrement le point d'inoculation.

Les injections intra veineuses chez les *oiseaux* se font par la veine axillaire. On soulève l'aile de l'oiseau, que tient un aide, on enlève les quelques plumes duveteuses qui cachent la peau et la veine apparaît; on la pique à travers la peau que l'on aura soigneusement désinfectée auparavant.

Chez
faire pe
peu à
le dos.
L'opér
3 Ir
de l'oc
plus d
le lap
jecter
de coc
pointe
nutes
on en
rotiq
fixar
sible
La
On
le t
co

in
l'a
u
d
V

Chez les *cobayes*, ces injections peuvent se faire par les veines jugulaires. Il faut inciser la peau à côté de la trachée, l'animal étant fixé sur le dos, comme si l'on voulait lier la carotide. L'opération ne présente pas de difficultés.

3. Injections dans la chambre antérieure de l'œil. — Cette injection ne présente pas non plus de difficultés. Elle se fait généralement sur le lapin. On met, dans l'œil que l'on veut injecter, une très petite quantité de chlorhydrate de cocaïne en poudre (ce qui peut en tenir sur la pointe d'un scalpel). On attend trois ou quatre minutes et quand l'anesthésie de l'œil est complète, on enfonce la seringue entre la cornée et la sclérotique, perpendiculairement à l'axe de l'œil, en fixant le globe oculaire, qui est devenu insensible, entre le pouce et l'index de la main gauche. La tête est naturellement maintenue par un aide. On voit si l'injection a réussi lorsqu'on constate le trouble opalescent qui se produit derrière la cornée.

4. Injections sous la dure-mère. — On incise la peau sur le frontal, parallèlement à l'arcade sourcilière, puis le périoste et on pose une couronne de trépan de 5 millimètres de diamètre, immédiatement en arrière de l'orbite. Lorsqu'on sent que la résistance de l'os cesse, on

retire l'axe du trépan pour ne pas perforer la dure-mère. L'hémorragie qui se produit s'arrête généralement assez vite. On enlève la couronne. On perce la dure-mère avec l'aiguille de la seringue, obliquement, pour ne pas toucher le cerveau, et on pousse l'injection. On lave la plaie et on fait un point de suture. Le chien doit être trépané à la fosse temporale où le crâne est le plus mince, après ablation du muscle temporal.

5. Injections intra-péritonéales. — Les injections intra-péritonéales peuvent être faites avec la seringue de Pravaz. Il faut avoir soin de ne pas piquer l'intestin. Pour cela, après avoir rasé la peau et l'avoir désinfectée, on fera tendre fortement la peau du ventre par l'aide qui tient l'animal et qui devra pour cela exercer une certaine traction sur la colonne vertébrale. En piquant franchement, sans à-coup, on ne lèse jamais les intestins. On peut encore opérer de la façon suivante : un aide présente le ventre de l'animal sans faire saillir l'abdomen, on pince alors entre le pouce et l'index de la main gauche les muscles de l'abdomen, en même temps que la peau, et l'on enfonce l'aiguille dans ce bourrelet en la faisant passer entre le pouce et l'index. Quel que soit le procédé que l'on emploie, avant de pousser l'injection, il faut toujours s'assurer

que la pointe de l'aiguille est bien dans la cavité abdominale.

Pour cela, on ramène la pointe à plat contre la paroi du ventre et on s'assure, en palpant cette paroi, que la pointe de l'aiguille n'est pas immédiatement sous la peau.

Lorsqu'on a à faire des inoculations de liquides visqueux, de crachats tuberculeux, par exemple, dans la cavité péritonéale, on ne saurait employer la seringue ; il faut alors se servir de la pipette Pasteur. On aspire les crachats dans cette pipette dont on aura cassé l'effilure tout près du corps de la pipette. On fait avec des ciseaux désinfectés une toute petite boutonnière à la peau du ventre, rasée et flambée préalablement en ce point.

Les muscles du ventre apparaissent alors à travers cette boutonnière ; on y enfonce doucement la pipette en faisant un mouvement de vrille. La cassure toujours irrégulière de la pipette fait office de pointe et l'effilure entre dans la cavité abdominale, ce dont on est averti par une brusque cessation de la résistance. On insuffle alors les crachats dans la cavité péritonéale, on cautérise la plaie faite à la paroi musculaire et on fait une petite suture, si c'est nécessaire, avec un fil de soie et l'aiguille de Reverdin.

6. Injections intra-pleurales ou intrapulmonaires. — Elles n'offrent point de difficultés : il faut raser la peau tout près du creux axillaire et piquer assez haut, dans les premiers espaces intercostaux ; sans quoi l'on s'expose, surtout chez les cobayes, à perforer le diaphragme et à faire une injection intra-péritonéale au lieu d'une injection intra-pleurale.

7. Inoculations par ingestion. — Le procédé le plus simple pour faire ingérer des substances virulentes à des animaux est de mélanger ces substances à leurs aliments, soit en arrosant les aliments avec les cultures de microorganismes, soit en incorporant les microbes dans un milieu solide quelconque, comme une pomme de terre, que l'on fait ensuite avaler à l'animal en expérience.

Ces deux procédés ont été employés, le premier par Pasteur, le second par Koch dans leurs expériences célèbres sur le charbon.

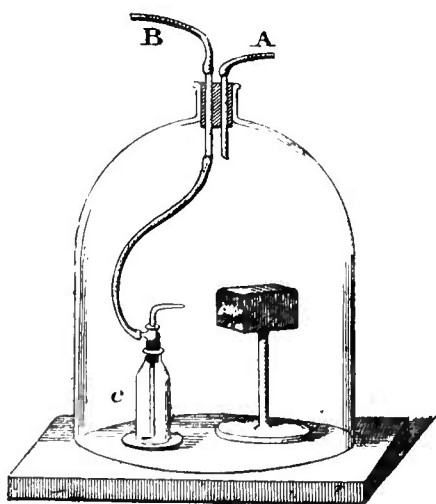
M. Pasteur faisait mâcher par des moutons des épis chargés de cultures de bactéries charbonneuses. Koch leur faisait avaler des morceaux de pomme de terre creusés d'une cavité dans laquelle il avait placé de la culture de charbon. Cette cavité était recouverte d'un petit couvercle fait avec de la pomme de terre.

On peut porter directement dans l'estomac, à l'aide d'une sonde, la substance que l'on désire faire ingérer. Pour cela, un aide est indispensable. Il s'agit d'un lapin, par exemple. Cet aide doit s'asseoir, maintenir l'animal, en serrant son train de derrière entre ses deux genoux ; de la main gauche, il tient les pattes de devant ; de la main droite, les oreilles et la tête. Il est nécessaire, auparavant, de rouler l'animal dans un torchon, de façon que sa tête seule dépasse ; on évitera ainsi d'être égratigné. Pour ouvrir la bouche et la maintenir béante, on prendra simplement deux ficelles ; la première est passée derrière les deux incisives du maxillaire supérieur de l'animal ; ses deux chefs sont réunis dans la main droite de l'aide, main qui tient les deux oreilles et la tête ; la seconde ficelle doit passer derrière les incisives du maxillaire inférieur ; on passe les deux chefs de cette ficelle dans la main gauche de l'aide qui maintient les deux pattes de devant. L'aide ouvre alors, de force, la gueule de l'animal en tirant fortement sur chaque ficelle, et en ayant soin de relever le nez de l'animal tout en lui tenant la gueule ouverte. Si l'on maintient la tête fléchie sur le thorax, on s'expose à entrer avec la sonde dans la trachée. L'opérateur passe alors la sonde dans

l'œsophage (n° 16 pour le lapin, n° 14, de la filière Charrière, pour le cobaye). Pendant la durée de l'injection, il ne faut pas laisser l'animal mâcher la sonde et bien lui maintenir les mâchoires écartées. Quand on est averti, par une certaine résistance et par la longueur de sonde que l'on a fait avaler à l'animal, qu'on est bien dans l'estomac, on emboîte le bout de la seringue dans l'orifice supérieur de la sonde et on pousse doucement l'injection.

7. Inoculations par les voies respiratoires. — L'inoculation par les voies respira-

Fig. 57



toires est beaucoup moins usitée que les précédentes ; il faut, pour la pratiquer pulvériser les substances contenant les micro-organismes que l'on veut inoculer dans l'air d'une chambre ou d'un récipient clos

dans lequel on a placé l'animal en expérience. Voici un procédé commode qui permet d'ino-

culer un petit animal (lapin, souris ou cobaye) par les voies respiratoires. On place l'animal sous une cloche en verre percée d'un trou à son sommet, et reposant sur une platine en verre rodé (*fig. 57*). On bouche l'orifice de la cloche avec un bouchon en caoutchouc à deux trous. Dans ces trous passent : 1° un tube de verre A que l'on branche à l'aide d'un tube de caoutchouc sur une trompe à vide. 2° Un tube B ouvert à l'air libre à son extrémité supérieure et plongeant par son extrémité inférieure dans la cloche. Cette extrémité est jointe par un tube de caoutchouc à un petit pulvérisateur.

Pour faire inhaler à un animal des poussières en suspension dans un liquide ou une culture de microbes, on verse avec pureté dans le pulvérisateur, stérilisé préalablement à l'autoclave avec son bouchon, le liquide à pulvériser.

On relie la tétine du pulvérisateur par un tube de caoutchouc, à l'extrémité du tube B. On place l'animal sous la cloche, dont on a bien suiffé les bords et on fait le vide par le tube A. Il se produit immédiatement une pulvérisation du liquide contenu dans le pulvérisateur. Il est facile d'imaginer un dispositif pour placer le bec du pulvérisateur vis-à-vis du museau de l'animal. Il suffit pour cela de l'immobiliser en le plaçant

dans une boîte d'où sa tête sorte seule. Si les gouttes ainsi pulvérisées sont trop grosses, il suffit, pour y remédier, de faire pratiquer un petit trou à la partie supérieure du tube *c* de l'aspirateur, tube qui plonge dans le liquide qu'on pulvérise.

On obtiendra ainsi, suivant les dimensions de ce petit orifice, une pulvérisation aussi fine que l'on voudra.

Buchner verse les cultures liquides sur des spores de *Lycoperdon giganteum* (vesse de loup) et les laisse se dessécher dans une cloche sur le chlorure de calcium, il insuffle ensuite, avec un soufflet, ces spores chargées de matières virulentes dans les cages des animaux à inoculer.

On peut, avec la cloche à vide que nous venons de décrire, employer ce procédé ; il suffira simplement d'enlever l'aspirateur, de mettre un petit entonnoir en B, et de verser les spores de *Lycoperdon* bien sèches par cet entonnoir ; elles seront entraînées par l'aspiration, voltigeront dans la cloche en verre et seront inhalées dans une certaine proportion par l'animal.

En terminant ce chapitre nous indiquerons la *manière de mettre à mort*, sûrement et rapidement, un animal. Pour les lapins et les cobayes, ainsi que pour les oiseaux, on pique le bulbe :

pour cela, on prend, non pas une aiguille à dissocier, mais un scalpel à lame très mince et courte; on cherche avec le doigt de la main gauche la saillie osseuse qui sépare l'occipital de l'atlas, et on enfonce le scalpel immédiatement derrière cette saillie, le plat de la lame étant perpendiculaire à l'axe de la colonne vertébrale. Si l'on a bien opéré, l'animal doit tomber raide mort.

On peut aussi chloroformer les animaux, si l'on veut, jusqu'à ce qu'ils meurent.

Enfin, les chiens et les chats pourront être empoisonnés, presque instantanément, avec la nicotine. On leur en met deux ou trois gouttes dans la gueule avec une pipette, entre les gencives et la joue. Ils déglutissent immédiatement, ont quelques convulsions et meurent en quelques minutes.

CHAPITRE VIII

—

AUTOPSIES

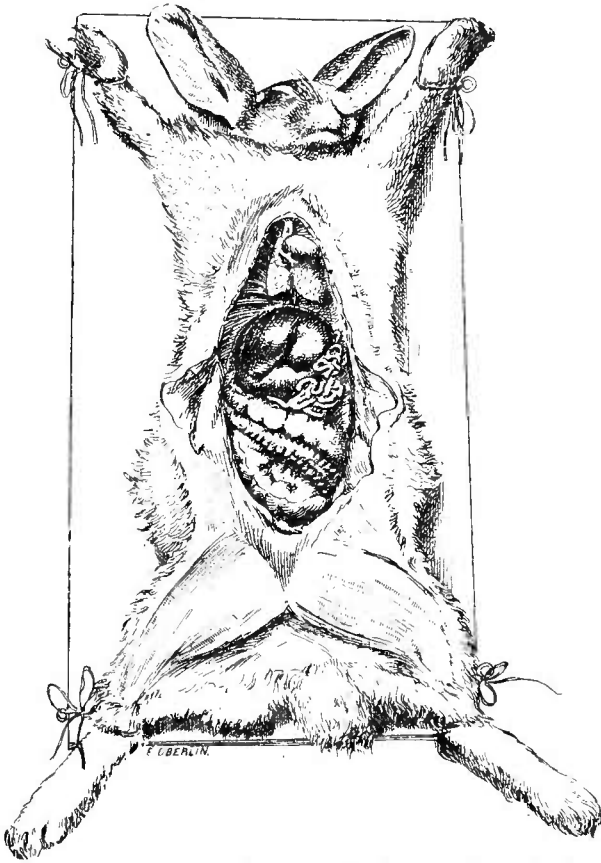
COMMENT IL FAUT RECUEILLIR LE SANG ET LES LIQUIDES PATHOLOGIQUES

I. SUR LE CADAVRE

L'autopsie d'un animal, mort après qu'on l'a inoculé, doit être faite avec certaines précautions. On devra opérer avec la plus grande propreté, se servir d'instruments qui ont été soigneusement désinfectés et ne jamais toucher avec ses doigts le cadavre de l'animal. Celui-ci devra être attaché sur le dos à une planchette de bois, munie de quatre pitons à ses quatre angles et placée sur un plateau en zinc à bords inclinés qui la contienne entièrement. L'animal devra être absolument fixé et immobile, le ventre bien tendu

par la traction des ficelles qui l'attachent par les pattes à la planche (*fig. 58*). On découpera avec

Fig. 58



des ciseaux, sur la ligne médiane, depuis le cou jusqu'à la base de la queue, les poils s'ils sont trop longs comme dans certaines races de lapins et chez les cobayes dits « griffons ».

S'il y a une plaie, un abcès ou un chancre

d'inoculation sur la peau, on abrasera tout autour les poils avec le plus grand soin et on contournera la lésion cutanée en incisant la peau. La première incision doit aller du pubis au haut du cou, et n'intéresser que la peau, surtout dans toute la région abdominale. Il faut prendre garde, en effet, de ne pas crever du premier coup les muscles de l'abdomen et les intestins, surtout s'il y a un épanchement intrapéritonéal. L'incision faite, on prend la peau avec les pinces et on la dissèque jusque sur les flancs, de façon à bien découvrir tout le thorax et tout le ventre. Il est bon de faire quatre incisions, aux aines et aux aisselles, parallèles à l'axe des quatre pattes et de rabattre de chaque côté du corps les tabliers de peau qui ont été ainsi libérés et qui pourraient gêner.

On incise ensuite avec précaution les muscles de l'abdomen, de façon à ne pas ouvrir les intestins, et on libère ces muscles en haut et en bas, comme on a fait pour la peau, afin de bien découvrir tous les viscères. Après avoir noté, s'il y a lieu, les différentes particularités macroscopiques qui se présentent, il faut procéder à l'examen bactériologique des viscères et des exsudats. Pour cela, on doit les prélever avec pureté, et sans y introduire de germes étrangers.

1. Examen du sang du cœur. — Pour prélever le sang du cœur, la pipette Pasteur est l'instrument le plus commode ; il ne faut pas que son effilure soit trop mince ni trop longue. Avant de la plonger dans les cavités cardiaques, on enlèvera avec des ciseaux le péricarde et on grillera avec la lame de platine, chauffée au rouge, le myocarde, de façon à y laisser une trace blanche.

C'est à cette place, ainsi désinfectée et stérilisée, que l'on devra plonger la pipette. On la casse donc après l'avoir préalablement passée dans la flamme, on flambe de nouveau la pointe et on la plonge franchement dans le cœur. Lorsque les cavités de cet organe ne contiennent pas de caillots trop volumineux, le sang monte par capillarité dans l'effilure à une certaine hauteur. Si le sang ne monte pas immédiatement, on aspire doucement en imprimant à la pipette, sans qu'elle quitte la bouche, un mouvement de va-et-vient dans l'intérieur des cavités du cœur. Il faut prendre garde de ne pas enfoncer la pointe de la pipette trop loin et de pénétrer ainsi dans le médiastin postérieur.

Quand on a recueilli une quantité de sang suffisante, on procède à son examen microscopique, puis à l'ensemencement, et, s'il y a lieu, à l'inoculation.

L'examen microscopique, à l'état frais, se fait de la façon suivante : Sur une petite lamelle de verre de 18 millimètres de côté, on met une trace de sang. Avant que le sang ne soit desséché, on place la lamelle sur une lame de verre de façon que le sang adhère à la lame et à la lamelle. On procède alors à l'examen microscopique.

Il ne faut pas mettre sur la lamelle que l'on va examiner une trop grande quantité de sang. On en met toujours trop : une goutte doit suffire pour faire cinq à six préparations. Nous recommanderons donc de déposer une goutte de sang sur une lame bien propre, et, avec l'anse du fil de platine, de prélever du sang dans cette goutte et l'étaler en stries sur des lamelles. On pourra pratiquer d'abord l'examen sans coloration ; puis ensuite colorer la préparation, d'après les méthodes que nous indiquons plus loin.

Gros vaisseaux. — Les artères, après la mort, contiennent toujours assez de sang pour un examen bactériologique lorsqu'ils sont d'un calibre assez gros pour qu'on puisse y introduire la pointe d'une pipette.

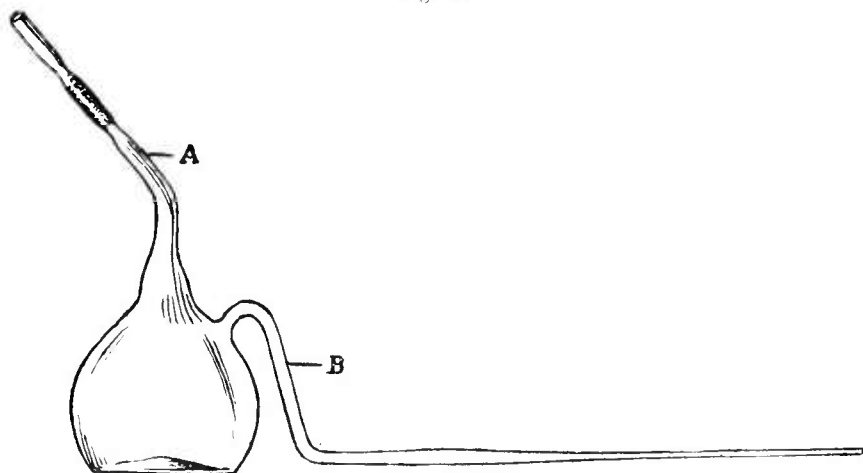
On emploiera ici les mêmes précautions que pour le cœur.

La surface du vaisseau sera brûlée légèrement

au point voulu et l'on aura soin de le maintenir en place, à l'aide d'une pince flambée et encore chaude au moment où l'on pratique la piqûre. La pipette devra être extrêmement effilée et enfoncée sûrement, car si on fait une déchirure aux parois de l'arbre, et surtout de la veine, on est exposé à perdre la petite quantité de sang qui y est renfermée.

Dans ces cas, au lieu de casser la pointe de la pipette comme habituellement, il vaut mieux

Fig. 59



effiler d'abord, à la lampe, l'effilure elle-même de façon à la séparer en deux parties réunies par un fil de verre excessivement fin. On cassera ce fil sans y toucher du côté du corps de la pipette, et l'on aura ainsi une pointe extrêmement fine et acérée.

On est parfois obligé de piquer une artère et une veine en différents points avant de pouvoir recueillir une quantité de sang suffisante.

De même que le sang du cœur, les liquides contenus dans les réservoirs naturels, tels que la vessie, seront recueillis avec la pipette (ou avec la seringue de Straus, si l'on désire inoculer immédiatement le sang ou l'urine recueillis). Il ne faudra jamais négliger de cautériser la place où l'on enfonce la pointe de l'aiguille ou la pipette. De grandes quantités de liquide pourront être recueillies avec le ballon Pasteur (*fig.* 59).

2. Examen des exsudats. — Tous les exsudats, tels que ceux de la pleurésie, de la péritonite, devront être également recueillis avec la pipette, immédiatement après qu'on les aura mis en contact avec l'air libre, de façon à se mettre autant que possible à l'abri de toute contamination par les germes de l'air.

On peut conserver ces produits dans la pipette et ne les examiner qu'au bout d'un certain temps ; il faut alors fermer l'effilure dans la flamme. Si, lorsqu'on veut en pratiquer l'examen, le sang ou la fibrine se sont coagulés et que l'on ne peut plus, par insufflation, faire sortir quoi que ce soit de la pipette, il faut procéder de la façon suivante : on casse la pipette, un

peu au-dessus du niveau du liquide, en y faisant un trait de lime et en appuyant sur ce trait une effilure de verre rougie au bec de gaz (le charbon de Berzélius est également commode pour cet usage) ; on peut alors plonger dans le tube, maintenu horizontal, l'anse de platine, et pratiquer l'examen microscopique ou l'ensemencement.

On peut encore casser l'effilure, avec une pince stérilisée, et y plonger le fil de platine ; il va sans dire que, dans ce cas, il faut un fil mince, droit et non muni d'une anse à son extrémité.

Si l'on veut conserver à l'abri de l'air, le sang ou les exsudats recueillis, on fermera la pipette en étirant le tube à la lampe d'émailleur entre la bourre de ouate et le liquide. Il faudra prendre garde, en fondant le verre, de ne pas trop le chauffer au voisinage du liquide que l'on veut conserver.

3. Examen des viscères. — Pour pratiquer l'examen bactériologique des viscères eux-mêmes, tels que le foie, la rate ou les reins, la pipette Pasteur rendra de bons services. On pourra aussi employer l'aiguille de platine, rigide et épaisse. Par exemple, si l'on veut ensemer des fragments de tissu hépatique ou splénique, on devra, après avoir cautérisé la surface du viscère, y

plonger assez profondément l'aiguille de platine, préalablement stérilisée sur la flamme du gaz, et remuer en tournant dans la profondeur. On recueillera assez de tissu pour pouvoir l'étaler sur la lamelle de verre (c'est ce qu'on appelle des « frottis d'organe ») ou pour l'ensemencer. Dans les autopsies humaines, en particulier, si l'on veut examiner la rate, le foie et les reins, dont le parenchyme est assez dur, il faudra employer une forte aiguille de platine d'un millimètre de diamètre ; l'extrémité en sera aplatie d'un coup de marteau de façon à la terminer en forme de coin, ce qui facilitera la pénétration de l'aiguille dans ces tissus résistants. On peut aussi employer, comme nous l'avons dit, la pipette à effilure assez forte, ou la seringue, avec lesquelles on pourra retirer une quantité suffisante de sucs et de tissus, en leur imprimant un mouvement de va-et-vient dans la profondeur de l'organe.

II. COMMENT IL FAUT RECUEILLIR LES LIQUIDES PATHOLOGIQUES SUR LE VIVANT

Sang. — On peut recueillir le sang sur le vivant, chez l'homme, de deux façons :

A. Par piqûre du doigt.

B. Par aspiration du sang d'une veine de l'avant-bras.

A. — La *piqûre du doigt* est un procédé extrêmement simple, qui a été employé par un grand nombre de bactériologistes. Il faut savoir cependant qu'elle expose à des causes d'erreur nombreuses, que nous allons exposer tout à l'heure.

Faire une piqûre aseptique, de façon à ne pas contaminer la goutte de sang que l'on veut recueillir, tel est le but à atteindre. Pour cela, il faut un instrument stérile. La lancette que l'on emploiera sera donc soigneusement stérilisée dans le sublimé, puis flambée au moment de la piqûre. Ceci est très simple. Il n'en est pas de même de la stérilisation de la surface cutanée où l'on va enfoncer la lancette ; ici la stérilisation doit être également absolue. Or, la peau porte à l'état normal, à sa surface, ou dans ses plis et ses dépressions, une quantité considérable de microorganismes. Il est difficile de les détruire complètement en peu de temps, et c'est probablement pour avoir désinfecté trop hâtivement la peau que l'on a commis un certain nombre d'erreurs dans l'examen bactériologique du sang.

Kummel a démontré que les mains d'une personne pouvant passer pour propre dans la vie habituelle n'étaient pas stériles après un lavage de trois minutes de durée, à la brosse, à l'eau

chaude et au savon noir. Pour obtenir un résultat satisfaisant, elles devaient être frottées pendant une minute encore, avec la solution phéniquée à 5 ‰. Or, on sait qu'à l'hôpital, les mains des malades sont, en général, fort sales. Il faudra donc opérer de la façon suivante :

Laver à la brosse pendant cinq minutes avec savon noir et eau chaude. Frotter la peau avec de la gaze imbibée d'alcool, pour permettre au sublimé de bien pénétrer. Placer sur l'endroit que l'on doit piquer un morceau de ouate hydrophile imbibée d'une solution au millième de sublimé. On laissera ce tampon de ouate en place pendant *dix minutes*.

Laver à l'alcool pour dissoudre et enlever les traces de sublimé qui peuvent rester sur la peau.

Faire un dernier lavage à l'éther pour enlever les dernières traces d'alcool.

Flamber la lancette et piquer. On opère soit à la pulpe du doigt, soit sur la face dorsale de la seconde phalange.

On recueillera le sang avec le fil de platine ou bien avec la pipette.

Malgré toutes les précautions, il peut rester, dans certains cas, à l'orifice des glandes de la peau, des germes à l'état d'unités isolées, qui pourront être enfoncés par la lancette jusqu'aux

premiers capillaires qu'elle rencontrera, et qui pourront être ramenés sur la goutte de sang que l'on va recueillir, et fausser les résultats de la recherche. La pression exercée sur le doigt facilite encore la souillure du liquide que l'on va ensemencher. De plus, le sang est aussi exposé à être contaminé, fut ce pendant un laps de temps très court, par les germes de l'air, si nombreux dans une chambre de malade et surtout dans une salle d'hôpital.

Pour parer à ces inconvénients, on a proposé de laisser un pansement au sublimé pendant vingt-quatre heures ou même de piquer la peau à travers une mince couche de collodion. Enfin, au lieu de piquer la pulpe du doigt, où la peau est épaissie et creusée de sillons, on a conseillé de piquer le lobule de l'oreille où la peau est plus fine et la piqûre moins douloureuse.

Weichselbaum a conseillé d'employer les ventouses scarifiées pour obtenir une quantité considérable de sang, ce qui est indispensable dans la recherche du bacille de la tuberculose. La longueur des incisions rend ici les causes de contamination encore plus grandes.

Le manuel opératoire qui donne le plus de sécurité est l'aspiration directe dans la cavité d'une veine superficielle (Straus).

B. *Aspiration du sang d'une veine de l'avant-bras.* — Ce procédé a l'avantage d'être plus sûr que le précédent au point de vue des causes d'erreur. Il a, de plus, celui de donner des quantités de sang beaucoup plus considérables, ce qui est inappréciable dans la circonstance, le sang ne contenant, en général, quand il est infecté, qu'un petit nombre de germes difficiles à mettre en évidence. De plus, la prise de sang ne se fait pas au contact de l'air, et la peau fine du coude est bien plus facile à désinfecter que la pulpe du doigt.

Voici comment il faut opérer : « Le bras du malade est serré au dessus du coude par une bande, comme pour l'opération de la saignée. On peut faire contracter le poing du malade pour faire saillir les veines. La peau du pli du coude est soigneusement désinfectée. On pique la veine, avec la seringue de Straus préalablement stérilisée par ébullition, la pointe de l'aiguille dirigée dans la direction de la main, et on aspire le sang dans la seringue. Celle-ci remplie, on défait la bande qui serre le bras, on retire l'aiguille de la veine et on referme le point de la piqûre avec un peu de collodion ».

Rate. — Pour ponctionner la rate, on fera coucher le malade sur le flanc droit. On stérili-

sera la peau avec minutie, on déterminera la matité avec soin et on ponctionnera après avoir prié le malade de suspendre sa respiration, afin d'éviter les mouvements de l'organe, et sa déchirure possible suivant les conseils de M. Cornil.

On ponctionne avec la seringue de Straus et l'on recueille ainsi, en général, une ou deux gouttes de sang, pas davantage.

Poumons. — On recueillera de la même façon le suc pulmonaire, après désinfection soigneuse de la peau, en plongeant l'aiguille au niveau des portions hépatisées.

Urine. — On peut, sur le vivant, recueillir l'urine de deux façons : l'une consiste à aller la chercher directement dans la vessie. Pour cela, on stérilise soigneusement des sondes à l'autoclave, on aseptise le méat, en laissant tremper le gland dans une solution au deux millième de sublimé pendant dix minutes. On nettoie le méat avec l'alcool et l'éther et on sonde le malade en ayant soin de recueillir l'urine dans un récipient stérilisé.

Il faudra préalablement, ainsi que le conseille Enriquetz, introduire dans la lumière de la sonde, avant la sortie de l'urine, un fil de platine stérilisé, avec lequel onensemencera un tube témoin afin de vérifier l'asepsie de la sonde

La seconde méthode, qui a été conseillée par M. Duclaux et employée par Enriquez, consiste à stériliser le méat et la partie antérieure du canal de l'urèthre, puis à faire uriner le malade, en recevant dans un tube stérilisé les dernières portions du jet de l'urine, les premières portions pouvant être contaminées par les saprophytes qui existent normalement dans la fosse naviculaire et dans tout l'urèthre antérieur.

Autres produits pathologiques. — Les autres exsudats liquides, tels que les sérosités pleurales, péritonéales, seront recueillis avec les mêmes précautions à l'aide de la seringue de Straus.

Fausse membranes. — Pour recueillir des fausses membranes dans la bouche des malades, par exemple, on emploiera les écouvillons de ouate décrits précédemment. On en retire un, du tube où il est contenu, et on introduit ce petit pinceau dans le pharynx en ayant soin de ne toucher ni les joues, ni la langue, ni le palais.

On essuie, en faisant tourner légèrement le pinceau entre ses doigts, les amygdales et les piliers, en le chargeant de l'exsudat qui couvre la muqueuse. Puis, on le replace dans un tube à essai stérile tout chargé, et on peut ainsi le transporter au laboratoire sans crainte de contamination. On fera ainsi autant de prélève-

ments qu'on voudra, en se servant de plusieurs pinceaux.

Au laboratoire, on secoue fortement dans un tube de bouillon le pinceau pour le dépouiller des particules solides qu'on a recueillies, et c'est avec ce bouillon ainsi ensemencé que l'on procédera à l'examen microscopique, aux ensemencements et aux inoculations.

On pourra également se servir d'un fil de platine, assez rigide pour ne pas se ployer lorsqu'on le promène à la surface des amygdales. Tous les autres exsudats solides devront être recueillis de la même façon.

CHAPITRE IX

EXAMEN MICROSCOPIQUE COLORATIONS

1. Examen microscopique. — Les microbes exigent, pour être étudiés commodément sous le microscope, des grossissements considérables, variant de 200 à 1 500 diamètres. Le microscope dont on veut se servir pour examiner les microbes devra être muni des trois objets suivants :

1° Un objectif à immersion homogène, à huile.

2° Un condensateur Abbe.

3° Un diaphragme iris.

Ce diaphragme n'est pas absolument indispensable, mais il est extrêmement commode.

Nous renverrons pour la description de ces trois appareils aux catalogues des opticiens ⁽¹⁾; nous parlerons seulement de leur emploi.

Pour se servir de l'*objectif à immersion*, la préparation étant placée sur la platine du microscope, on dépose une goutte d'huile de cèdre, au centre de la préparation, sur la lamelle couvre-objet, et on amène doucement la lentille frontale au centre de cette goutte. On place alors son œil sur l'oculaire et on met au point avec la vis micrométrique. (Il ne faut pas employer indifféremment, avec un objectif à immersion, telle ou telle huile, mais bien celle qui a été fournie par le fabricant). Quand on a fini de se servir de l'objectif, il faut soigneusement essayer avec un linge très fin (batiste) l'huile de cèdre qui y adhère, puis passer, avec le même linge et en frottant doucement, une goutte de benzol; sans cette précaution, l'objectif se détériorerait rapidement. De plus, il faut toujours le remettre dans son étui en cuivre, que l'on vissera soigneusement, et ne jamais le laisser à demeure sur le tube du microscope, car les vapeurs acides qui

(1) BEAUREGARD. — *Le microscope et ses applications*. Encyclopédie scientifique des Aide-Mémoire. Masson et Gauthier-Villars, éditeurs.

existent dans l'air de tous les laboratoires, suffiraient à le mettre rapidement hors d'usage.

Le *condensateur* Abbe qui se place sous la platine, à l'aide de dispositifs de constructions variables, plus ou moins commodes, ne devra s'employer que pour les préparations colorées. Les microbes non colorés ne donnent aucune image, avec l'éclairage Abbe, sauf si l'on rétrécit fortement avec le diaphragme iris. De plus, il faut toujours se servir du miroir plan avec le condensateur Abbe.

Le *diaphragme iris* est un appareil extrêmement ingénieux qui permet, à l'aide d'un simple bouton, de rétrécir ou d'augmenter le faisceau lumineux que le miroir du microscope envoie sur la lentille frontale. On devra se servir du diaphragme avec les préparations peu ou point colorées. En rétrécissant le diaphragme, les microbes qui n'ont pas bien fixé la matière colorante, apparaissent avec beaucoup plus de netteté ; moins la préparation est colorée, plus il faut rétrécir l'iris. Ce diaphragme, inutile pour les préparations bien colorées, est donc indispensable dans l'examen de microbes étudiés à l'état frais ou à l'état vivant, sans coloration, lorsqu'on se sert de l'éclairage et de l'objectif à immersion à huile.

Cultures sous le microscope.

Nous avons déjà indiqué comment on faisait une préparation à l'état frais ; nous dirons maintenant quelques mots sur les procédés à employer pour la culture sous le microscope.

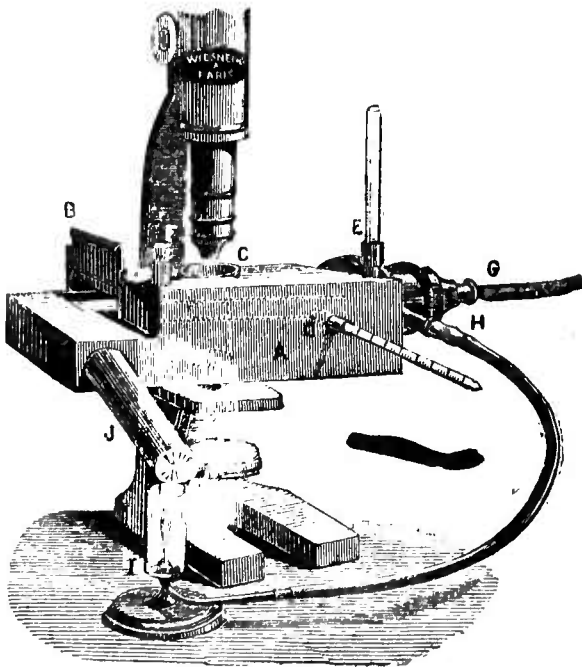
Si l'on veut se rendre compte du développement d'un microbe en l'observant d'une façon continue, pendant plusieurs heures ou plusieurs jours, on emploie une *chambre humide* (culture en cellules) dont il existe différents modèles.

Koch employait le procédé de la gouttelette suspendue pour observer la sporulation de la bactériodie charbonneuse, en dehors de l'organisme vivant. C'est une lame ordinaire creusée d'une cupule. On place la lamelle sur laquelle on a déposé une goutte de la culture que l'on désire examiner, sur cette cupule, et on lute avec un peu de vaseline pour empêcher l'évaporation. Il va sans dire que lames et lamelles ont été stérilisées à la chaleur sèche, auparavant, dans une plaque de Petri mise au four Pasteur.

Cette méthode n'est pas des plus commodes : certaines parties de la goutte peuvent être d'un examen difficile, à cause de la brièveté du foyer de l'objectif. La chambre humide de Ranvier remédie à cet inconvénient. C'est une lame de

verre creusée à son centre d'une rainure profonde circonscrivant un disque rond, dont la surface est inférieure de $\frac{1}{10}$ de millimètre à celle de la lame. La goutte de culture est placée sur cette partie centrale et les bords de la rainure garnis de vaseline ; on applique alors la lamelle, en appuyant un peu, et la goutte se trouve hermé-

Fig. 60



quement isolée entre deux surfaces planes parallèles, la rainure servant de chambre à air.

Si la température de la chambre est trop basse

pour le développement du microbe que l'on étudie, on pourra employer avec avantage l'ingénieuse platine chauffante de M. Vignal, dont nous donnons ici un dessin (*fig.* 60). Elle se règle avec un régulateur de d'Arsonval, de la façon que nous avons décrite au chapitre des étuves, et donne de bons résultats ; elle se place sur la platine du microscope.

Si l'on n'a point de chambre humide de Ranvier, il est facile d'en faire une, ainsi que le conseille M. Salomonsen, en découpant un carré dans un morceau de carton assez épais ; on colle ce carton sur une lame, on le recouvre d'une lamelle puis d'une autre lame, on ficelle le tout et on stérilise à l'autoclave. On s'en servira comme de la lame de Koch ou de celle de Ranvier.

2. Colorations. — Les microorganismes fixent énergiquement certaines couleurs d'aniline ; c'est Weigert qui a fait cette importante découverte ; Ehrlich a distingué dans les couleurs d'aniline les couleurs acides et les couleurs basiques.

Couleurs d'aniline

1° *Couleurs acides.* — Éosine, tropéoline, fluorescéine, purpurine, acide picrique et picrates, etc.

2° *Couleurs basiques.* — Fuchsine, violet de gentiane, bleu de méthylène, violet de méthyle, violet 5B et 6B, brun de Bismarck, cristal-violet, etc.

Les couleurs acides qui n'ont aucune élection et colorent indistinctement toutes les parties de la cellule ne sont presque pas utilisées en bactériologie. Seules, les couleurs basiques qui ont une élection pour les noyaux des cellules servent couramment pour la coloration des microbes, pour lesquels elles ont une élection remarquable.

On se sert surtout, dans les laboratoires de bactériologie, de la fuchsine, du violet de gentiane, du bleu de méthylène et du violet de méthyle.

On peut employer ces couleurs en solution aqueuse ou hydro-alcoolique. Pour préparer ces dernières, il est bon d'avoir des solutions alcooliques saturées toutes faites, qui ne s'altèrent pas. Quelques gouttes de ces solutions, versées dans un peu d'eau (environ 10 gouttes dans 10 centimètres cubes d'eau), donneront des solutions hydro-alcooliques qui peuvent servir pour colorer la plupart des microbes. Nous recommandons de faire, autant que possible, extemporanément ces solutions hydro-alcooliques. C'est

une préparation facile et rapide ; elle est préférable à l'emploi de vieilles solutions aqueuses qui s'altèrent facilement, et doivent, en tous cas, être filtrées chaque fois qu'on s'en sert.

COLORATION ET EXAMEN DES MICROBES

Les microbes peuvent être examinés :

1° Dans les milieux de culture ; dans les liquides ou les exsudats : on fait alors des lamelles.

2° Dans les organes durcis : on les colore dans les coupes de ces organes.

I. COLORATIONS SUR LAMELLES

Matériel nécessaire à la coloration des lamelles

Ce matériel se compose des objets suivants :

1° Lames et lamelles : les *lames* ont 6 centimètres de long sur $2 \frac{1}{2}$ de large ; les *lamelles* devront avoir 16 ou 18 millimètres de côté⁽¹⁾.

(1) Les lamelles carrées de 16 à 18 millimètres de côté sont très suffisantes comme dimension pour la bactériologie ; ainsi que les lames elles devront être absolument propres et essuyées avec un linge fin, immédiatement avant de s'en servir. On fera bien de les conserver dans un cristallisoir fermé par un verre rodé et plein d'alcool.

2° Une pissette Salet (*fig. 61*).

3° Trois flacons à compte-gouttes, placés dans un support en bois (*fig. 62*), contenant : *a*, le li-

Fig. 61

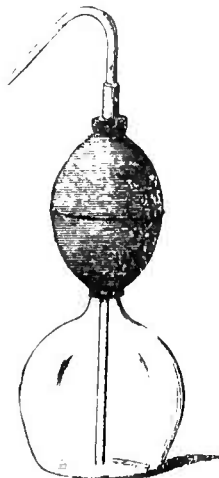
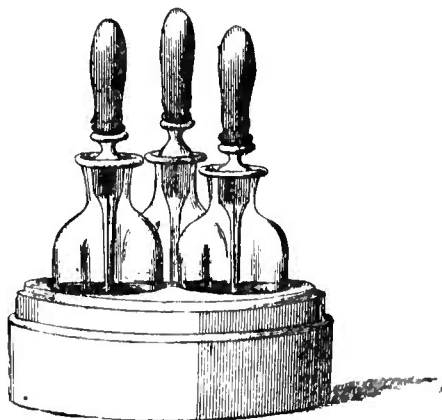


Fig. 62



quide de Ziehl ; *b*, la solution de Lœffler ; *c*, une solution hydro-alcoolique de violet de gentiane.

a. Liquide de Ziehl. — Pour le préparer, on prend une éprouvette graduée de 100 centimètres cubes dans laquelle on met :

Fuchsine ou Rubine	1gr
Phénol.	5gr
Alcool à 90°.	10gr

On agite jusqu'à dissolution avec une baguette de verre et on ajoute :

Eau	90 ^{cm} ³
-----	--------------------

Il est bon d'attendre jusqu'au lendemain et de filtrer la solution avant de la décantier dans le flacon à compte-gouttes. Le liquide de Ziehl ainsi préparé doit être d'un rouge foncé. Dans un tube à essais ordinaire, il ne doit pas laisser passer la lumière s'il est transparent, c'est que la fuchsine employée était de mauvaise qualité.

Cette solution est excellente pour toutes les cultures de microbes : elle les colore toutes à froid, en quelques secondes, sauf celle du bacille de la tuberculose.

Elle ne saurait être employée pour les liquides pathologiques, pour les humeurs, sang, pus, etc., car, tout en colorant fort bien les microbes qui y sont contenus elle y détermine des grumeaux, des coagulats, dus à l'action du phénol et qui défigurent la préparation (1).

b. Solution de Læffler.

Eau	100 ^{cm} 3
Potasse	0,01
Solution saturée alcoolique de bleu de méthylène	30 ^{cm} 3

(1) Néanmoins pour colorer instantanément le pneumocoque avec sa capsule, dans le sang du cœur d'une souris ou d'un lapin mort après l'injection de pneumocoques ou dans les crachats de pneumoniques, le liquide de Ziehl, étendu d'eau, donne particulièrement de bons résultats.

c. Solution hydro-alcoolique de violet de gentiane.

Eau distillée stérilisée.	100 ^{cm} ³
Solution alcoolique de violet de gentiane.	100 gouttes

Solution de Kühne. — Nous indiquerons encore, comme colorant bien les préparations de microbes, la solution suivante :

Bleu de méthylène	1
Phénol	5
Eau	: 100

C'est, en somme, une solution de Ziehl où la fuchsine est remplacée par le bleu de méthylène.

Avec ces quatre matières colorantes, on peut faire toutes les préparations de microorganismes qui n'exigent pas une technique de coloration spéciale. Quelques petits godets, de cristal ou de porcelaine, seront utiles dans certains cas, pour contenir la matière colorante.

Préparation des lamelles colorées

On peut colorer les microorganismes de deux façons.

1° sans les dessécher.

2° à l'état sec.

1. Examen sans dessiccation. — On place sur la lame porte-objet, *et non point sur la lamelle*, une trace de la culture si elle est solide, ou une goutte si elle est liquide. On ajoute avec l'anse de platine, une trace d'une solution hydro-alcoolique d'une couleur basique d'aniline (formule c, p. 144). On recouvre avec une lamelle (la matière colorante servant à faire adhérer la lame et la lamelle) et on examine.

C'est ainsi qu'il faudra toujours procéder, quand on veut savoir si l'organisme qu'on étudie est mobile ou non, et, à plus forte raison, quand on sait déjà que le microbe qu'on désire colorer est mobile.

2. Examen à l'état sec. — On étale sur la lamelle couvre-objet, avec l'anse de platine, une trace de la culture. On laisse sécher à l'air libre (on peut hâter cette dessiccation à basse température en soufflant de l'air sur la préparation, avec une poire en caoutchouc). On prend la lamelle avec une pince en fer⁽¹⁾, le côté enduit de culture tourné vers le plafond, et on passe la lamelle trois fois, rapidement, dans la flamme du bec Bunsen. Cette manœuvre a pour but de coa-

(1) La pince de Cornet est d'un usage particulièrement commode.

guler les matières albuminoïdes et de faire adhérer la préparation au verre (1).

On repose la lamelle à plat sur la table, et avec un compte-gouttes, on met sur la préparation une goutte de la solution colorante ; on la laisse une à deux minutes, on lave avec la pissette, on essuie la face non colorée de la lamelle avec un linge fin, on pose la face colorée et humectée d'eau sur la lame, puis on l'examine au microscope. La préparation ainsi faite est dite « montée dans l'eau » ; on ne peut la conserver.

Si l'on désire avoir des préparations durables, il faut retirer la lamelle de dessus la lame, bien la dessécher à l'air libre ou à l'étuve, puis, l'eau étant évaporée complètement, mettre bien au centre de la préparation, une petite goutte de baume de Canada dissous dans du xylol (cette solution de baume se vend toute faite dans des tubes à couleurs).

(1) On peut également fixer la préparation sans employer la chaleur. Pour colorer le microbe du chancre mou, par exemple, on laisse sécher et on fixe par la solution de Meyer :

Sublimé	7 ^{gr}
Eau distillée.	100 ^{gr}
Acide acétique cristallisé	1 ^{gr}

Puis on colore avec le violet de gentiane pendant une demi minute.

On place alors la lamelle sur la lame, en ayant soin de ne pas emprisonner de bulles d'air entre les deux verres. Les préparations ainsi faites se conservent bien pendant six mois. Après ce laps de temps, elles se décolorent, le xylol dissolvant les matières colorantes employées (1).

La manière d'opérer, telle que nous venons de la décrire, s'applique à tous les bacilles en général, sauf à quelques espèces, comme, par exemple, à celui de la tuberculose. Nous allons décrire la méthode de coloration spéciale au bacille de la tuberculose, ainsi que la méthode de Gram.

Coloration du bacille de la tuberculose. — On laisse les lamelles, enduites de parcelles de crachats tuberculeux, ou de culture de tuberculose, pendant vingt minutes à froid en contact avec le liquide de Ziehl (on fera bien d'employer ici un petit godet de verre ou de porcelaine qu'on remplira de ce liquide et dans lequel on immergera les lamelles).

On les retire après vingt minutes (2), on lave à

(1) On emploiera le baume dissous dans le xylol de préférence au baume dissous dans le chloroforme.

(2) En chauffant la matière colorante, contenue dans une capsule de platine au-dessus d'un bec de gaz, le bacille de la tuberculose est coloré en deux minutes; or, la décoloration se fait de la même façon qu'après la coloration lente.

l'eau pour enlever l'excès de matières colorantes et on met la préparation dans l'acide sulfurique au quart.

Eau.	3
SO ³ H ²	1

Quand on fait ce mélange, surtout si on opère sur de grandes quantités, il faut toujours verser l'acide sulfurique dans l'eau et non pas l'eau dans l'acide, pour prévenir le bris de l'éprouvette et possiblement des brûlures.

On laisse les lamelles dans l'acide pendant quelques minutes, on les retire, et on les lave bien à l'eau avec la pissette. Si la couleur rose revient trop foncée, on immerge de nouveau la lamelle dans l'acide sulfurique. Quand elle est bien décolorée, on monte dans l'eau et on examine.

Au lieu de décolorer avec les acides minéraux dilués, sulfurique ou nitrique, on peut employer le chlorhydrate d'aniline en solution à 2 %. Il faut laisser la préparation pendant un temps très court (une à cinq secondes dans le bain décolorant).

L'eau bouillante, au cas où l'on n'aurait pas d'acides sous la main, peut également servir d'agent décolorant.

On peut encore, pour colorer le bacille de Koch, employer la solution d'Ehrlich, mais le procédé est plus lent. On laisse la lamelle de douze à vingt-quatre heures dans cette solution ; on décolore avec l'acide nitrique au tiers, en solution aqueuse ou alcoolique, on lave à l'eau et on monte.

Méthode de Gram. — Certains microorganismes traités par cette méthode, ne se colorent point : tels, le choléra, la fièvre typhoïde, le bacillus coli communis, le gonocoque, etc. ; d'autres, au contraire, se coloreront. Cette méthode constitue donc un procédé utile, pouvant servir, dans certains cas, à donner un caractère différentiel.

La méthode de Gram nécessite : la solution d'Ehrlich ; la solution de Lugol ; de l'alcool absolu.

a) *Solution d'Ehrlich.* — Dans la composition de cette solution entre l'eau d'aniline. Pour faire cette eau d'aniline, on met dans le fond d'un tube à essai trois gouttes d'huile d'aniline, fraîche, c'est-à-dire blanche ou jaune paille, et non brunie par le séjour prolongé à la lumière. On ajoute de 6 à 10 centimètres cubes d'eau. On bouche le tube avec le pouce et on secoue vivement. On filtre l'émulsion ainsi formée : le fil-

trat constitue l'eau d'aniline. On devra la préparer extemporanément avant de s'en servir.

L'eau d'aniline étant préparée, la solution d'Ehrlich sera obtenue de la façon suivante :

Eau d'aniline	10 ^{cm} ³
Solution alcoolique concentrée de violet de gentiane.	1 ^{cm} ³

b) *Solution de Lugol.* — Cette solution est ainsi composée :

Eau	300 ^{cm} ³
Iodure de potassium	2 ^{cm} ³
Iode	1 ^{cm} ³

Pour employer la méthode de Gram, on laisse la lamelle séjourner pendant cinq minutes dans la solution d'Ehrlich, puis, pendant une minute dans la solution de Lugol. On passe ensuite à plusieurs reprises dans l'alcool absolu.

Les microbes qui se colorent par la méthode de Gram doivent rester colorés et résister à l'action décolorante de l'alcool (on peut ainsi colorer le charbon, le pneumocoque, le streptocoque, etc.).

Modification de la méthode de Gram par M. Nicolle. — Coloration sur lamelles. Elle nécessite l'emploi des réactifs suivants :

1°) *Violet de gentiane phéniqué.*

Solution saturée de violet dans l'al-	
cool à 95°.	10 ^m ³
Eau phéniquée à 1 0/0.	100 ^m ³

2°) *Liquide de Gram fort.*

Iode	1 ^{gr}
Iodure de potassium.	2 ^{gr}
Eau distillée.	200 ^{gr}

3°) *Alcool absolu additionné d'un tiers d'acé-*
tone.

4°) Alcool	} <i>aaa</i>
Éther	

S'il s'agit d'une culture, l'étaler sur la lamelle d'après les procédés ordinaires. Puis fixer à l'alcool-éther, verser du violet phéniqué et laisser en contact quatre à six secondes. Rejeter le violet, et, sans laver, faire agir le liquide de Gram quatre à six secondes aussi, mais en le renouvelant une ou deux fois; décolorer par l'alcool acétone au tiers. Examiner dans l'eau ou monter dans le baume après dessiccation.

Si l'on a affaire à un produit pathologique, il est préférable de faire une double coloration. On fait alors, après la décoloration par l'alcool-acétone, agir rapidement la solution suivante :

Éosine alcoolique au tiers.

Solution saturée d'éosine à l'alcool	
dans l'alcool à 95°	50 ^{cm} ³
Alcool à 95°	100 ^{cm} ³

Quand il se trouve, dans un produit pathologique, un *organisme prenant le Gram* et un *organisme décoloré* par cette méthode (par exemple du pus blennorrhagique avec des staphylocoques), on emploiera, après la décoloration par l'alcool acétone, la fuchsine hydro-alcoolique au lieu d'éosine.

Fuchsine hydro-alcoolique.

Solution saturée de fuchsine dans l'alcool à 95°	5 ^{cc}
Eau distillée	100 ^{cc}

Méthode directe de Nicolle. — Cette méthode est applicable à tous les microorganismes, mais on doit en réserver l'usage aux bactéries qui se décolorent par les méthodes de Gram et d'Ehrlich.

Coloration sur lamelles. — S'il s'agit de cultures, faire agir le violet phéniqué une demi-minute au plus, après fixation à l'alcool-éther. On lave à l'eau et on examine. S'il s'agit de produits pathologiques, on choisira, suivant les cas, entre le violet et la thionine, qui définit admira-

blement les contours des organismes et des éléments cellulaires sans jamais surcolorer.

Thionine phéniquée.

Solution saturée de thionine dans	
l'alcool à 90°	10 ^{cm} ³
Eau phéniquée à 1 0/0.	100 ^{cm} ³

La coloration par le violet demande quelques secondes, la coloration par la thionine, une à deux minutes suivant l'espèce microbienne et suivant l'épaisseur du produit étalé sur la lamelle.

Pour colorer par cette méthode les capsules du pneumocoque et du pneumobacille, on colore d'abord pendant quatre à six secondes avec le violet de gentiane phéniqué, puis on passe rapidement à l'alcool acétone au tiers.

Coloration des coupes. — Ici la thionine constitue le seul colorant à employer. La coupe est débarrassée de la paraffine à l'aide du xylol, puis traitée par l'alcool absolu. On fait alors agir la thionine une demi-minute ou une minute, suivant le cas. Puis on lave à l'eau, on déshydrate par l'alcool absolu et on monte dans le baume après éclaircissement par le xylol.

3. Doubles colorations. — Tous ces procédés ne donnent que des colorations simples : tous les

microbes sont colorés de la même façon que les cellules en bleu ou en rouge, suivant le réactif employé. Voici une méthode qui donne une coloration double, dans les crachats tuberculeux, par exemple.

Méthode de B. Frænkel. — Elle s'applique aux bacilles de la tuberculose et de la lèpre et sert également à différencier les spores charbonneuses du protoplasma des filaments ; les spores devront se colorer en rouge, les filaments en bleu. Dans les crachats, les bacilles de Koch seront colorés en rouge, les saprophytes et les cellules de pus en bleu. Cette méthode est aussi excellente pour colorer les bacilles tuberculeux dans les coupes. Voici en quoi elle consiste :

Séjour de vingt-quatre heures ⁽¹⁾ dans une solution d'Ehrlich à la fuchsine.

Eau d'aniline	1 cm ³
Fuchsine (solution alcoolique concentrée)	1 cm ³

Séjour de une à deux minutes dans la solution suivante ⁽²⁾ :

(1) On fera bien de mettre les lamelles immergées dans cette solution, à l'étuve à 37° pendant vingt-quatre heures.

(2) Cette solution, dite solution de Frænkel, se conserve indéfiniment.

Acide nitrique pur.	20 ^{cm} ³
Eau distillée.	30
Alcool à 90°	50
Bleu de méthylène en saturation	66

Lavage à l'eau, jusqu'à atténuation de la coloration bleue; montage dans l'eau.

Méthode de Möller. — I. Fixer par l'alcool absolu cinq minutes. Ne pas laver ensuite.

II. Faire agir l'acide chromique à 5 % pendant cinq minutes.

Laver à l'eau, vingt-quatre heures pour le charbon, colorer au Ziehl, cinq à six heures à froid, 5' à 10' à chaud, puis décolorer, soit par l'alcool absolu (ne suffit pas toujours), ou bien par le chlorhydrate d'aniline à 2 %.

SO⁴H² à 5 %, quelques secondes, puis traiter par l'alcool absolu. Laver et colorer les bactéries avec un bleu.

Méthode de Mérieux. — On colore par le violet phéniqué. On rejette le violet et on laisse agir quatre à six secondes, en la renouvelant une à deux fois, la solution suivante :

Solution iodo-iodurée d'éosine :

Iode	1
Iodure de potassium	2
Solution saturée d'éosine à l'eau, dans	
l'alcool à 90°	20 ^{cm} ³
Eau distillée	200 ^{cm} ³

Puis on décolore par l'alcool acétone au sixième.

MÉTHODES DE COLORATION DES CILS

Il est indispensable d'employer des cultures jeunes ayant douze à dix-huit heures seulement de séjour à l'étuve à 37° depuis l'ensemencement.

Méthode de Van Ermengen. — Cette méthode consiste (comme celle de Golgi), à imprégner la matière organique par de l'argent à l'état métallique. Les cils étant fixés de préférence au moyen d'un bain à l'acide osmique ou au tanin, on y provoque un dépôt de particules métalliques en soumettant les préparations à l'action simultanée de corps réducteurs et du nitrate d'argent.

1. — Un premier point, c'est la nécessité où l'on se trouve de ne se servir que de couvre-objets d'une propreté absolue. La moindre trace de matières grasses, de souillures organiques, donne des voiles qui gâtent les préparations.

Pour les nettoyer, on les fait bouillir dans la solution suivante :

Bichromate de potasse	60 ^{gr}
Acide sulfurique concentré	60 ^{gr}
Eau	1000 ^{gr}

On lave ensuite à l'eau plusieurs fois, on passe à l'alcool absolu et on laisse sécher en position verticale sous cloche, sans essuyer.

2. — Pour avoir de bonnes préparations, il faut recourir à des cultures récentes (sur agar, de dix à dix-huit heures), et diluer les organismes considérablement, de manière à n'en déposer qu'un très petit nombre et à éviter que les matières organiques dissoutes n'y forment une couche enrobant les bactéries. La préparation séchée est passée trois fois par la flamme, en la tenant entre les doigts.

3. — Le bain fixateur qui a donné les meilleurs résultats est le suivant :

Acide osmique (solution à 2 %).	1 partie
Tanin (solution de 10 à 25 %).	2 parties

On fait bien d'ajouter à la solution de tanin quatre à cinq gouttes d'acide acétique cristallisable par 100 centimètres cubes.

Ce mélange constitue une sorte d'*encre de coloration* noir bleu foncé. On en dépose une goutte sur le couvre-objet et on le laisse agir pendant une demi-heure à froid. A la température de 50 à 60° il suffit d'un contact de cinq minutes.

4. — Les préparations, après avoir été lavées très soigneusement dans de l'eau et de l'alcool,

sont plongées ensuite quelques secondes dans un bain sensibilisateur au nitrate d'argent très peu concentré de 0,5 à 0,25 ‰.

5. — Puis, sans laver les lamelles, on les passe dans le bain réducteur et renforçateur suivant :

Acide gallique	5gr
Tanin.	3gr
Acétate de soude fondu	10gr
Eau distillée	350gr

Méthode Nicolle-Morax. — Cette méthode est un perfectionnement de celle de Lœffler. Voici comment les auteurs conseillent de procéder :

Prendre une parcelle de culture récente sur gélose et la diluer dans un verre de montre rempli d'eau ordinaire, de manière à obtenir un liquide à peine trouble.

Répartir ce liquide avec une pipette à la surface de lamelles propres et fortement flambées par des passages réitérés dans la flamme chauffante d'un bec Bunsen. On tient ces lamelles par un de leurs angles à l'aide d'une pince de Cornet. Le liquide étant étalé sur toute l'étendue, les incliner et aspirer avec la pipette l'excès de la dilution qui se rassemble au niveau de l'angle inférieur.

Laisser sécher à l'abri de la poussière.

Déposer à la surface d'un des couvre-objets une grosse goutte d'encre de fuchsine et chauffer une dizaine de secondes sur une petite flamme (flamme veilleuse d'un bec de Bunsen, par exemple).

Lorsque des vapeurs apparaissent, jeter le mordant, incliner la lamelle et faire tomber sur l'angle supérieur le jet d'une pissette pour bien laver la préparation sans détacher la couche de microbes. Recommencer encore deux et trois fois le mordantage et les lavages.

Avoir soin, après chaque lavage, d'essuyer la face inférieure du couvre-objets et l'extrémité de la pince de Cornet sans quoi, lors du mordantage suivant, l'encre de fuchsine s'écoulerait le long de la pince et sous la lamelle.

Colorer en versant la fuchsine de Ziehl à la surface de la préparation et en chauffant une ou deux fois pendant un quart de minute. Laver une dernière fois à l'eau et examiner dans ce liquide si la coloration est réussie, faire sécher la lamelle et monter dans le baume au xylol.

Méthode de Ramon y Cajal. — 1° Placer la lamelle dans la solution suivante filtrée, puis chauffer trois minutes.

Tanin à 20 %	10 ^{cm} ³
Sulfate ferreux à saturation	5 ^{cm} ³
Sol. aq. saturée de fuchsine	1 ^{cm} ³

2° Colorer une à deux minutes dans la solution suivante filtrée :

Eau d'aniline fraîchement faite.	10 ^{cm} ³
Sol. aqueuse saturée de fuchsine	10 gouttes
Sol. de soude caustique à 1 0/0.	10 ^m ³,1

II. COLORATIONS DANS LES COUPES

Les pièces dans lesquelles on veut colorer des microbes devront être recueillies à l'autopsie, avec le plus grand soin. On les divisera en petits cubes d'environ 1 centimètre de côté ; les pièces plus grosses durcissent mal. On les mettra dans des flacons bouchés à l'émeri et remplis d'alcool absolu, en les séparant du fond du flacon par une couche de ouate, ou en les suspendant par un hameçon. De cette façon, toutes les faces du petit cube que l'on met à durcir seront baignées dans l'alcool.

Le durcissement se fait dans un laps de temps de vingt-quatre à quarante-huit heures. Il faut éviter l'emploi de tout réactif durcissant autre que l'alcool absolu, comme par exemple la liqueur de Müller et même l'alcool à 90°.

Les pièces seront coupées au microtome mécanique. Si elles sont bien durcies, l'inclusion dans

la paraffine ou dans le collodion n'est pas nécessaire ; elle est même nuisible, car ces substances d'occlusion gênent toujours la coloration. Si pourtant on inclut les pièces, il faudra se servir de collodion ou de paraffine.

Les coupes devront être *extrêmement minces*. La minceur est beaucoup plus importante que la grande étendue des coupes, pour la bactériologie, à l'inverse de ce qui est nécessaire, en histologie, pour bien apprécier la topographie des lésions. On recueillera les coupes, au fur et à mesure qu'on les aura pratiquées, dans l'alcool, et non dans l'eau, puis on procédera à leur coloration.

1. Coloration simple. — Par cette méthode, on colore, de la même teinte, les microbes et les tissus. Voici comment il faut procéder :

1° Laisser séjourner la coupe dix minutes dans la solution hydro-alcoolique de violet de gentiane, ou de bleu de méthylène.

2° Décolorer par l'alcool à 90° jusqu'à ce que la pièce redevienne grise.

3° Déshydrater par l'alcool absolu, puis ajouter une goutte de xylol et examiner au microscope.

Si l'on veut conserver la coupe, on mettra une goutte de baume entre la lame et la lamelle, après avoir enlevé le xylol avec un petit mor-

ceau de papier buvard ou de papier à filtre.

Méthode de Weigert. — Cette méthode comporte les opérations suivantes :

1° Plonger la coupe, pendant 10 minutes, dans la solution suivante :

Violet de méthyle 6 B (sol. alc. sat.).	68 ^{cm} 3
Huile d'aniline.	3
Alcool absolu	11

2° plonger la coupe pendant 1 minute dans la solution de Lugol ;

3° sécher à l'air ou sur papier à filtre ;

4° décolorer, jusqu'à disparition de la teinte violette, avec :

Huile d'aniline	2 parties
Xylol.	1

5° éclaircir au xylol, puis examiner ;

6° monter au baume.

2. Colorations doubles. — Ces colorations ont pour but de colorer d'une façon différente, d'une part, les microbes qui se trouvent dans la coupe et, d'autre part, les éléments histologiques qui constituent cette coupe.

On devra colorer le fond avec le carmin boracique de Grenacher, ou le carmin lithiné de

Orth qui sont préférables au picrocarmin et au carmin aluné.

Carmin boracique à l'alcool de Grenacher :

Carmin n° 40.	3
Borax	4
Eau	100
Alcool à 90°	100

Carmin lithiné de Orth :

Solution saturée aqueuse de carbonate de lithine	97,5
Carmin n° 40.	2,5

La méthode des colorations doubles consiste dans les opérations suivantes :

1° Mettre les coupes dans l'une ou l'autre des deux solutions ci-dessus et les y laisser 24 heures,

2° Les retirer et les laver rapidement dans la solution :

Alcool.	100
Acide acétique.	1

3° Les passer rapidement à l'eau.

Le fond étant ainsi coloré, on procède à la coloration des microbes par la méthode de Weigert, ou par la méthode de Gram, en opérant exactement pour les coupes comme pour les lamelles.

Coloration des bacilles de la tuberculose et de la lèpre, dans les coupes. — Pour cette coloration, on emploie la méthode de B. Fränkel, pour les coupes, exactement comme pour les lamelles.

1° On met la coupe pendant 24 heures dans la solution d'Ehrlich à la fuchsine ; les bacilles de Koch s'y coloreront en rouge.

2° On lave à l'eau.

3° On met ensuite la coupe pendant une à trois minutes dans la solution de B. Fränkel, qui colore le fond en bleu.

4° On lave à l'eau jusqu'à atténuation de la teinte bleue.

5° On déshydrate avec l'alcool, on éclaircit avec le xylol et on monte dans le baume.

Coloration des coupes par la méthode de Nicolle. — Les coupes devront être faites après inclusion dans la paraffine et collées sur les lames à l'aide de l'albumine glycérimée de Mayer : le procédé de choix est la triple coloration. On opère comme il suit : débarrasser la coupe de la paraffine à l'aide du xylol. Enlever le xylol par l'alcool absolu. Laisser un quart d'heure dans le carmin de Orth alcoolisé. On ajoute un sixième d'alcool à 95° au carmin de Orth ordinaire ; laver à l'eau. Faire agir le violet phéniqué quatre à six secondes et ensuite le liquide de Gram quatre à

six secondes en le renouvelant une ou deux fois, décolorer par l'alcool acétone au tiers. Passer rapidement dans l'alcool picrique. Déshydrater par l'alcool absolu. Éclaircir par le xylol et monter dans le baume.

CHAPITRE X

—

ANALYSE DE L'AIR

Les procédés employés pour la détermination et la numération des germes de l'air sont très nombreux. L'exposé de tous ces procédés nous entraînerait trop loin, nous indiquerons seulement les plus importants, renvoyant pour les détails à la Monographie remarquable de M. Miquel et au mémoire de M. Petri, où l'histoire de la question est traité avec soin.

Les méthodes actuellement employées peuvent, en somme, être ramenées à deux types fondamentaux.

1° On peut recueillir l'air que l'on veut analyser sur un filtre (coton de verre, amiante, ouate ou poudres diverses).

2° On peut le faire barboter dans un liquide, dans lequel on opère ensuite la séparation des microbes qui se sont déposés.

Les premières recherches précises sur les organismes de l'air sont dues à M. Pasteur ; elles sont consignées dans son Mémoire célèbre *Sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère*. M. Pasteur faisait passer, à l'aide d'un aspirateur, de l'air à travers des bourres de coton nitrique ; ces bourres étaient ensuite dissoutes dans un mélange d'alcool et d'éther, et donnaient un collodion, laissant déposer, par décantation, les poussières atmosphériques arrêtées au passage. Ce sédiment était examiné au microscope et révélait la présence de spores, de champignons. En outre, en introduisant ces bourres dans un bouillon nutritif dûment stérilisé, M. Pasteur y constata le développement de bactéries et de moisissures. Plus tard, il imagina une méthode plus parfaite, consistant à faire arriver, dans un certain nombre de ballons renfermant du bouillon stérilisé, et dont on cassait la pointe au moment de l'expérience, un volume déterminé d'air ; d'après la proportion des ballons qui se troublaient et de ceux qui restaient stériles, on concluait au nombre de germes contenus dans l'air.

La méthode de M. Miquel inspirée de celle de M. Pasteur revient, en dernière analyse, à faire barboter, à travers des ballons à deux tubulures,

une quantité déterminée d'air. Le nombre des ballons pour chaque essai d'air est d'environ une trentaine ; et il importe de faire passer, à travers chacun de ces ballons, une quantité d'air telle que, sur la totalité de ces ballons placés ensuite à l'étuve, la moitié seulement se trouble. On suppose que chacun des ballons troublés n'a reçu qu'un seul germe, et du nombre des ballons qui se sont troublés, on déduit le nombre des germes que renferme le volume d'air ayant traversé tous les ballons.

Dès que M. Koch eut imaginé la culture sur milieux solides, il l'appliqua à l'analyse bactériologique de l'air. Une capsule de verre renfermant de la gélatine stérilisée et ayant fait prise, est exposée, pendant un temps indéterminé, à l'air, puis on laisse aux colonies le temps de se développer, on les compte et on les examine. Utile comme moyen d'orientation, ce procédé ne peut servir à une détermination précise du nombre des microbes de l'air.

Le procédé de M. Hesse dérivé de celui de M. Koch constitue un progrès notable. Il consiste à faire cheminer une quantité d'air déterminée à l'intérieur d'un tube de verre, sur la paroi interne duquel a été étalée et a fait prise une mince couche de gélatine nutritive. L'air

doit progresser assez lentement à l'intérieur du tube, et celui-ci doit avoir une longueur suffisante pour que tous les germes aient le temps de se déposer.

Les défectuosités de cette méthode en ont fait naître d'autres, parmi celles-ci nous mentionnerons seulement celle de M. Percy Frankland et celle de M. Petri ; toutes deux sont basées sur le principe suivant : employer une bourre filtrante et incorporer ensuite cette bourre à du bouillon gélatinisé. M. Frankland emploie une bourre de coton de verre disposée dans un tube à essais portant deux étranglements (fig. 63). En B et B', sont deux bourres de coton de verre. C'est une bourre de sûreté. L'aspiration se fait en C à l'aide d'un bouchon à un trou et d'un tube de verre qu'on branche sur l'aspirateur de la trompe. Pour se servir de cet appareil, on place les bourres filtrantes B et B'. On met en A et C deux bouchons de ouate ordinaire et on stérilise au four Pasteur. Au moment de faire l'analyse, on met en C le bouchon muni de son tube, qu'on relie à la trompe, on enlève la bourre et on fait le vide. M. Frankland place les bourres ainsi chargés de

Fig. 63



germes dans un ballon de 100 centimètres cubes avec cinq à dix centimètres cubes de gélatine. On écrase avec une baguette de verre stérilisée les bourres, de façon à répartir les germes dans

Fig. 64



la gélatine liquéfiée que l'on enroule à l'intérieur du ballon, à la façon d'un tube d'Esmarch.

Ce procédé offre aussi quelques désavantages; la division complète de la bourre de coton de verre est difficile à obtenir, et son mélange avec la gélatine forme une couche laiteuse au milieu de laquelle les colonies sont difficiles à apercevoir.

M. Petri (*fig. 64*), au lieu d'une bourre de coton de verre, emploie un double filtre, formé de sable fin, emprisonné entre 2 culots de toile de cuivre à mailles très fines, le tout engagé dans un tube de verre. L'air, aspiré par une trompe ou une pompe à main, est obligé de traverser le filtre de sable, et s'y dépouille de tous ses germes. Le sable ainsi que les culots de toile de cuivre sont ensuite répartis dans des godets de verre et arrosés de gélatine nutritive; on compte les colonies qui se développent, comme

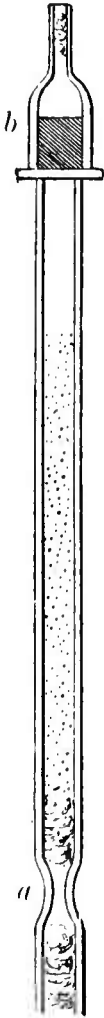
dans une culture sur plaques. On trouvera dans le travail très complet de M. Petri la description minutieuse de son procédé et la comparaison qu'il en fait avec les procédés antérieurement employés. Nous l'avons nous-mêmes appliqué et nous lui avons aussi reconnu quelques inconvénients ; le dispositif de l'appareil ne laisse pas que d'être compliqué, les culots de toile de cuivre devant être minutieusement calibrés et ajustés pour ne pas permettre la fuite du sable. Mais, l'objection principale que l'on peut faire à cette méthode est la suivante : le passage de l'air à travers deux filtres de sable fin de 3 centimètres de hauteur chacun, nécessite, pour avoir une vitesse convenable, une aspiration puissante d'où l'impossibilité de recourir à un seul aspirateur, et la nécessité de recourir à la pompe à main ou à une trompe.

M. Miquel a eu l'ingénieuse idée d'employer des poudres solubles qui ne présentent pas les inconvénients du coton de verre ou du sable, lorsqu'on les incorpore à la gélatine. Il emploie le sucre de canne ou mieux le sulfate de soude anhydre. Ces deux substances peuvent être pulvérisées et stérilisées sans perdre pour cela leur caractère hygroscopique. On place ces poudres porphyrisées dans un tube de verre (*fig. 65*) de

20 centimètres de longueur, bouché par un capuchon de verre rodé *b*. Ce tube est muni à son extrémité *a* d'un étranglement, en avant et en

Fig. 65

Fig. 66



arrière duquel sont deux bouchons de ouate. On fait l'aspiration de *b* en *a*. Il faut tenir le tube vertical après avoir enlevé le capuchon de verre.

M. Salomonsen a simplifié cette méthode en employant simplement un tube effilé (*fig. 66*).

On incorpore, à de la gélatine fondue, les poudres chargées de germes. Elles s'y dissolvent et ne gênent pas l'examen ultérieur des colonies.

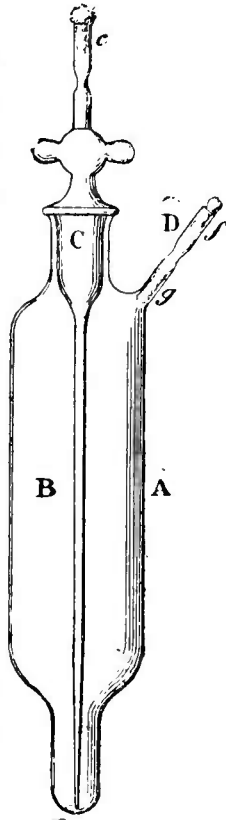
Appareil de Straus et Wurtz.

— La méthode que nous avons imaginée, M. le Professeur Straus et moi, consiste, en dernière analyse, à faire barboter un volume déterminé d'air à travers de la gélatine nutritive. L'idée de recourir à un procédé analogue avait été déjà plusieurs fois émise. Il existe même

des essais tentés dans cette direction, notamment par M. von Sehlen dans ses recherches sur l'air des régions palustres en Italie ; mais, les résultats ainsi obtenus ont été peu satisfaisants pour plusieurs raisons qui seront développées plus loin, et les procédés basés sur la méthode du barbotage à travers la gélatine nutritive ont été presque universellement délaissés.

Notre appareil à barbotage (*fig. 67*) se compose d'un tube de verre A avec un fort renflement cylindrique à sa partie moyenne et mesurant 15 millèmes de diamètre à ses deux extrémités. Ce tube reçoit la gélatine nutritive. Au fond de ce tube plonge un second tube B, de petit calibre, dont l'extrémité inférieure est finement effilée ; à la partie supérieure, il porte un renflement rodé C qui ferme hermétiquement le tube A. Celui-ci porte latéralement une tubulure de dégagement D, munie d'un étranglement pour maintenir les bourres.

Fig. 67



Pour se servir de l'appareil, on garnit de ouate l'orifice supérieur *c* du tube B, ainsi que de la tubulure de dégagement D de chaque côté de l'étranglement et on stérilise l'appareil par la chaleur sèche. Après avoir retiré le tube intérieur B, on verse, dans le tube A, 10 centimètres cubes de gélatine liquéfiée à une douce chaleur. On a soin d'ajouter à cette gélatine une goutte d'huile stérilisée ; cette dernière précaution est absolument indispensable, car elle empêche la gélatine de mousser pendant le barbotage et de sortir par le tube de dégagement. Le tout est stérilisé à l'autoclave à 115° pendant un quart d'heure, et l'appareil est dès lors prêt à fonctionner.

On tient, pendant toute la durée de l'opération, l'appareil à la main, pour que la chaleur de la main empêche la gélatine de se solidifier. Par un tube de caoutchouc, on relie le tube latéral D à un aspirateur, puis on enlève la bourre qui ferme l'extrémité *e*. On fait alors fonctionner l'aspirateur à la vitesse voulue, et on fait barboter à travers la gélatine un nombre déterminé de litres d'air. Grâce à la présence de l'huile, les bulles formées par le passage de l'air à travers le liquide sont très fines, et la mousse très peu accusée, quelle que soit la vitesse de ce

pas-àge. Il en résulte que l'on peut ainsi faire barboter un volume assez considérable d'air pendant un temps relativement court (50 litres en un quart d'heure). L'opération terminée, on replace la bourre en *e*, puis, en soufflant par la tubulure latérale D, on fait monter, à diverses reprises, la gélatine à l'intérieur du tube A pour entraîner les germes qui ont pu y rester adhérents. Cela fait, on retire la bourre de sûreté *f* et à l'aide d'un fil de platine stérilisé on pousse à l'intérieur du tube A la bourre *g*. On replace la bourre de sûreté et on agite doucement et à diverses reprises l'appareil pour répartir dans la gélatine les germes qui, ayant échappé au barbotage, ont été retenus par la bourre *g*.

On peut alors procéder de deux façons, selon que l'on veut employer la méthode de culture sur plaques, d'après M. Koch, ou que l'on veut utiliser le tube A à la façon d'un tube d'Esmarch.

Dans le premier cas, on aspire par le tube B, gradué à cet effet, 2 centimètres cubes de gélatine que l'on étale sur une plaque; la gélatine totale donne ainsi cinq plaques. On laisse les colonies se développer et on procède à leur numération, absolument comme cela se fait pour l'analyse de l'eau. En additionnant les colonies

développées au bout de quatre à cinq jours sur les cinq plaques, on a le nombre de germes de schizomycètes et de moisissures (susceptibles de se développer sur la gélatine), que renferme le volume d'air ayant traversé l'appareil (1).

L'autre procédé est plus expéditif et a l'avantage de mettre à l'abri de toute contamination ultérieure par les germes de l'air. Il consiste à répandre la gélatine, après le barbotage, à la face interne du tube A et à la faire prendre rapidement en plaçant l'appareil horizontalement et en le faisant tourner sous le jet d'un robinet d'eau froide. C'est alors une variante du tube d'Esmarch ; mais, nous donnons la préférence à la méthode des plaques qui permet mieux l'examen des colonies.

Si l'on veut faire une analyse qualitative de l'air, en vue de l'isolement d'un microbe donné, du bacille d'Eberth, par exemple, nous recommanderons la méthode de Frankland qui permet de filtrer commodément des volumes d'air con-

(1) Pour que la numération soit absolument rigoureuse, il faut avoir soin de laisser la très petite quantité de gélatine qui reste dans l'appareil faire prise et compter les quelques colonies qui peuvent encore s'y développer. On ajoutera ce chiffre à celui qui est fourni par les plaques.

sidérables. On peut laisser 8 à 10 jours, marcher jour et nuit, au voisinage d'une salle d'hôpital, par exemple, une trompe aspirant l'air à travers le tube de Frankland.

On pourra ensuite placer les bourres dans des tubes contenant un peu d'eau stérilisée et les y laisser séjourner quelque temps, à une température de 0°, dans la glace fondante, en agitant de temps en temps avec une baguette de verre stérilisé. On sèmera cette eau chargée de germes, que l'on décantera avec des pipettes stérilisées, puis la bourre elle-même, dépouillée ainsi le plus possible de ces germes, dans des tubes de gélatine que l'on étalera sur des plaques de Petri. On pourra encore, si l'on veut, additionner l'eau ainsi chargée de germes de diverses substances antiseptiques. L'inoculation de cette eau à des animaux pourra, dans certaines recherches, donner des résultats intéressants.

CHAPITRE XI

ANALYSE DE L'EAU, DE LA TERRE ET DES POUSSIÈRES

1. Analyse de l'eau. — L'analyse bactériologique de l'eau peut être quantitative, c'est-à-dire avoir pour but la numération des microbes contenus dans un volume donné d'eau, ou bien qualitative, c'est-à-dire ne porter que sur la recherche de telle ou telle bactérie. Les méthodes que nous allons indiquer permettent d'atteindre ces deux buts par une seule opération.

On peut les distinguer en deux classes, suivant qu'on emploie les *milieux solides*, ou les *milieux liquides*. Nous ne décrirons que la méthode de Miquel, pour les milieux liquides, et celle de Koch, pour les milieux solides.

Règles générales. — Pour procéder à l'analyse bactériologique d'une eau quelconque, il faut

d'abord que cette eau ait été recueillie avec pureté et, autant que possible, immédiatement avant de l'ensemencer, car l'on sait avec quelle prodigieuse rapidité certaines bactéries aquatiques se multiplient dans l'eau, à une température même assez basse.

Si l'eau que l'on doit analyser est envoyée de loin, il faudra la faire recueillir

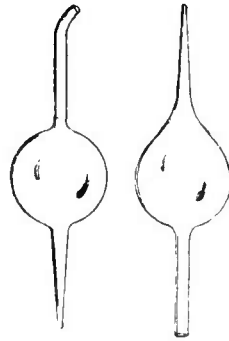
dans des petites boules en verre. Pour faire ces boules de verre on prend une pipette Pasteur, on y souffle une boule (*fig. 68*)

de 2 centimètres de diamètre environ tout près de l'effilure, et on étire le tube immédiatement, pendant que la boule est encore chaude. Le refroidissement détermine un vide partiel dans la boule.

Pour la remplir, on chauffe au rouge l'extrémité d'une des effilures et on la plonge brusquement dans l'eau dont on veut prélever un échantillon. La pointe se casse, par brusque refroidissement, et l'eau monte par aspiration dans la boule. On la ferme à la lampe, puis on la met dans une caisse remplie de glace.

On devra expédier ainsi l'échantillon à analyser sans que les germes que l'eau contient puissent

Fig. 68



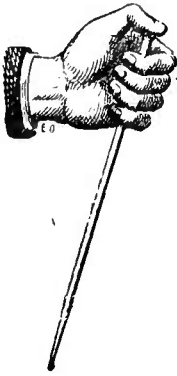
se développer. En effet, outre que la pullulation des germes fausserait les résultats de l'analyse au point de vue de la numération de ces germes, s'il existe, en unités peu abondantes dans cette eau, des microbes pathogènes, ils ne pourraient être décelés par l'analyse : la pullulation des bactéries banales empêcherait leur développement.

1. Méthode de Koch. — Pour analyser une eau par cette méthode, il faut :

- 1° Deux pipettes, de 2 centimètres cubes chacune, graduées en dixièmes de centimètre cube ;
- 2° un ballon jaugé de 100 centimètres cubes ;
- 3° des tubes de gélatine, et des plaques de Petri stérilisées, en nombre suffisant.

On stérilise les pipettes et le ballon au four

Fig. 69



Pasteur, puis on remplit le ballon, jusqu'au trait, avec de l'eau distillée et on le stérilise à l'autoclave pendant 15 minutes à 115°. D'autre part, on fait fondre les tubes de gélatine dans l'étuve à 37°.

On casse la boule (décrite précédemment) dans une capsule de platine, préalablement stérilisée.

et on prélève, avec une des pipettes, 1 centimètre cube de l'échantillon à analyser. On fait débou-

cher le ballon par un aide et, tenant l'orifice de la pipette bouché avec le ponce, pour être plus sûr de la manipulation (*fig. 69*), on laisse tomber, dans le ballon, $\frac{1}{10}$ de centimètre cube de l'échantillon. L'aide rebouche immédiatement le ballon.

On a ainsi une dilution au millième; c'est dans cette dilution qu'on prélèvera avec la seconde pipette graduée, $\frac{1}{10}$ de centimètre cube que l'on répartit dans un tube de gélatine préalablement liquéfiée ⁽¹⁾, de la sorte chaque tube contiendra $\frac{1}{10000}$ de centimètre cube de l'eau à examiner; il faudra donc, quand on aura compté les colonies qui se seront développées sur chaque plaque, multiplier leur nombre par 10 000 pour avoir le nombre de germes contenus dans 1 centimètre cube de l'échantillon examiné. On agite bien le tube et on verse la gélatine, ainsi ensemencée, sur une plaque de Petri.

On devra faire vingt ou trente plaques de la même façon. On les mettra à l'étuve à 20 ou 22°

(1) On pourra faire de même une dilution au 100^e si l'eau est très pure. Suivant la richesse de l'eau en germes, on devra faire des dilutions de plus en plus grandes. On peut encore, si l'on veut augmenter le nombre de colonies dans chaque plaque, semer dans chaque tube 2, 3 ou 4 dixièmes de centimètre cube de la dilution primitive au 100^e.

et on surveillera attentivement le développement des colonies ; généralement, il aura atteint son maximum au bout de trois jours.

On procédera alors : à la numération et à la détermination des colonies.

Pour la *numération*, on place la plaque sur une lame de verre quadrillée qui permet de compter systématiquement les colonies, comme on compte les globules dans l'hématimètre.

Si l'on n'a pas de plaque quadrillée, on arrive à un résultat tout aussi bon en traçant avec une plume et de l'encre, sur le fond de la plaque de Petri, un quadrillage, qui n'a même pas besoin d'être très régulier.

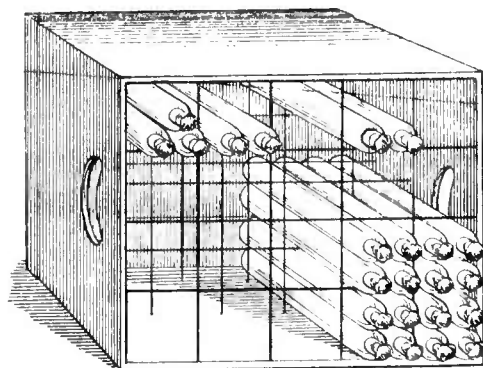
On effectue ainsi la numération :

Supposons que sur une des plaques, on trouve trois colonies avec la dilution que nous avons indiquée, il faudra multiplier par 10 000 le nombre des colonies trouvées sur chaque plaque pour avoir le chiffre d'unités microbiennes contenues dans 1 centimètre cube, soit 30 000. On prendra la moyenne de vingt à trente plaques, faites de la même façon, pour avoir un résultat plus précis. Pour éviter les causes d'erreur, dues aux germes de l'air et aux moisissures en particulier, il est bon de faire six plaques avec des tubes de gélatine non ensemencés, plaques dont on ôtera le

couvercle une fois (comme celui des plaques ensemencées). S'il pousse par exemple, deux colonies en moyenne sur chacune de ces plaques, on défalquera deux colonies sur chaque plaque ensemencée.

Il y a avantage à se servir, pour l'analyse de l'eau, des tubes que j'ai recommandés (*fig. 37*) et qui sont une modification des tubes d'Esmarch. On y verse 7 à 8 centimètres cubes de gélatine, que l'on ensemence à la manière ordinaire, et que l'on place horizontalement pendant que la gélatine refroidit. On les coiffe d'une capote de caoutchouc et on peut les conserver ainsi pendant le temps voulu. La *fig. 70* montre

Fig. 70



un dispositif commode pour placer à l'étuve à 22° les tubes d'une même analyse d'eau. C'est une boîte en bois blanc, ouverte d'un côté,

et divisée en compartiments par des fils de fer.

La *détermination* des colonies exige la connaissance approfondie des caractères des colonies de chaque microorganisme en particulier. Nous renverrons pour cela aux ouvrages qui traitent de l'étude des microorganismes ; nous rappellerons seulement que quand on a cru reconnaître, avec l'objectif o, une colonie, on la prélève avec l'anse de platine ainsi qu'il a été indiqué, puis on l'examine au microscope ; s'il y a lieu, on la repique ensuite dans les milieux appropriés.

2. Méthode de M. Miquel. — La méthode de dilution de M. Miquel est beaucoup plus précise, pour la numération des bactéries, que la méthode de Koch ; mais, pour la recherche de tel ou tel microorganisme, elle est moins commode. Voici comment il faut opérer si l'on emploie cette méthode :

On prépare une centaine de tubes contenant chacun 10 centimètres cubes de bouillon stérilisé.

Dans un premier tube T_1 , on introduit, avec une pipette, un centimètre cube du liquide à analyser.

Dans un second tube T_2 , on introduit 1 centimètre cube du contenu T_1 .

Le tube T_2 contient 11 centimètres cubes ; on

les répartit dans onze nouveaux tubes T_3 , T^1 , T^2 , etc.

Ou répartit le contenu du tube T_3 dans onze tubes (T_4 , T^1_4 , etc.).

Les vingt-deux tubes ainsi préparés, c'est-à-dire tous les tubes manipulés, sauf T_2 et T_3 qui ont été vidés complètement, sont mis à l'étuve pendant quelques jours, ou mieux quelques semaines.

Si le bouillon se trouble dans tous les tubes, il faut répéter l'analyse et pousser la dilution plus loin. Si quelques-uns seulement poussent, on peut calculer approximativement le nombre des germes contenus dans la prise d'essai, d'après le principe suivant :

On suppose que la dilution a été assez faible pour que chaque tube ne contienne qu'un seul germe. D'après M. Miquel, lorsqu'un tube sur deux est resté stérile, les bouillons troublés l'ont été par un seul germe. On voit que cette méthode repose sur une sorte de postulat, mais elle a donné à M. Miquel des résultats très précis.

M. Miquel pratique actuellement ce qu'il appelle le procédé mixte. Il dilue l'eau à analyser au $\frac{1}{100}$ ou au $\frac{1}{1000}$, suivant qu'il suppose l'eau plus ou moins riche en microbes. Cela fait, il l'introduit à la dose de une à deux gouttes dans un flacon

conique à large base (environ 9 centimètres de diamètre) dans lequel se trouve de la gélatine stérilisée et liquéfiée au bain-marie ; cette gélatine forme, au fond du tube, une couche d'environ 2 millimètres. Une fois les gouttes d'eau introduites, il secoue le vase horizontalement pour disséminer les germes et il le met à l'étuve. L'eau étant très diluée, chaque flacon ne contient que deux ou trois germes au plus et on n'a pas à craindre l'envahissement des colonies qui liquéfient la gélatine. On peut donc, ce qui est un avantage sérieux, laisser longtemps les tubes dans l'étuve à 22°

Un inconvénient de ce procédé, c'est que la forme du flacon, qui est conique et à large base, ne permet pas de repiquer facilement les colonies et encore moins de les examiner au microscope.

2. Analyse de la terre et des poussières.

— L'examen, au point de vue bactériologique, d'un échantillon de terre, peut porter sur les aérobies ou sur les anaérobies que cet échantillon contient.

Pour les *aérobies*, on emploiera la méthode de culture sur plaques comme nous l'avons indiquée : dans un tube de gélatine, liquéfié préalablement, on sème des traces de l'échantillon à examiner.

On fera des plaques de Petri ou des tubes d'Esmarch avec cette gélatine.

Pour séparer les microbes *anaérobies* contenus dans un échantillon de terre, on pourra employer la méthode de C. Frænkel décrite à la p. 76. Enfin, on pourra utiliser, comme moyen de séparation, la chaleur, pour isoler certains microbes déterminés, aérobies ou anaérobies (1).

Nous donnerons comme exemple, le procédé de M. Pasteur pour avoir une culture pure de vibrion septique, organisme anaérobie que l'on sait être des plus communs dans la terre.

Pour l'isoler et l'inoculer à un cobaye, M. Pasteur donne la méthode suivante : on triture avec de l'eau, l'échantillon ; on abandonne le liquide de façon à laisser la terre se déposer et on décante. L'eau trouble ainsi décautée, ne tarde pas à s'éclaircir en laissant un léger sédiment que l'on recueille et qu'on chauffe à 90°, pendant trois à quatre minutes. Ce chauffage tue la plupart des bactéries autres que le vibrion septique.

(1) C'est par ce moyen que j'ai pu mettre en évidence, avec M. Lodge, la présence de spores de charbon dans les poussières du plancher d'une fabrique de laine de Bradford.

Pour recueillir les poussières de l'air qui se sont déposées sur les murs ou sur les objets contenus dans une salle, M. Cornet recommande de frotter les murs avec de la mie de pain. C'est cette mie de pain, chargée de germes, qui servira aux inoculations, après qu'elle aura été répartie dans les milieux convenables.

CHAPITRE XII

SUBSTANCES SÉCRÉTÉES PAR LES MICROBES

Principales méthodes d'extraction. — Depuis un certain temps, l'intérêt des recherches bactériologiques s'est porté, non plus seulement sur la morphologie et les caractères biologiques des microorganismes, mais sur l'étude des produits qu'ils sécrètent. C'est dans cette voie que sont dirigés la plupart des travaux actuels ; nous donnerons donc brièvement quelques détails de technique sur ce genre de recherches, qui est présentement d'un intérêt capital.

La filtration des bouillons de culture a été la première étape de ces recherches. En dépouillant, par filtration, les liquides de culture des microorganismes qu'ils contiennent, on peut déjà expérimenter l'action physiologique, toxique

ou vaccinnante du liquide filtré. Nous avons déjà indiqué au Chap. I, la technique à suivre pour filtrer un milieu de culture. C'est à l'aide de cette méthode qu'ont été faites un grand nombre de recherches. Citons seulement les expériences de Salmon et Smith, Charrin, Woolridge, Roux et Chamberland, sur l'immunité conférée par les substances solubles, contre le vibrion septique (Roux et Chamberland), contre le charbon symptomatique (Roux), le *V. Metschnikovii* (Gamaleïa), contre la fièvre typhoïde (Chantemesse et Widal). Les effets toxiques et physiologiques des produits de culture du *Str. Erysipelatis*, obtenus par filtration, ont été étudiés par Manfredi Boccardi et Traversa, etc.

Mais, quand on a voulu aller plus loin, quand on a cherché à isoler et à définir, au point de vue chimique, quelle était, dans ces produits filtrés, la substance douée du pouvoir physiologique ou pathogène observé, on s'est heurté à des difficultés presque insurmontables. On peut dire qu'en dehors des produits qui cristallisent, des alcaloïdes (¹), on ne doit accepter qu'avec la plus

(¹) Nous citerons parmi les rares travaux qui sont à l'abri de toute objection à ce point de vue, les beaux Mémoires de M. Gautier sur les bases de la putréfaction, bases qui ont été définies et *analysées*.

extrême réserve la nomenclature si variée des corps albuminoïdes isolés depuis trois ans environ, des différents liquides de culture.

Nous nous contenterons donc d'indiquer brièvement, dans l'ordre historique, quels sont les microbes dont on a étudié les produits solubles, et quelle est la nature de ces produits. Puis, nous donnerons rapidement les propriétés générales des corps ainsi trouvés et leurs principales méthodes d'extraction. La technique de quelques opérations de laboratoire, indispensables à connaître pour employer ces méthodes, terminera ce chapitre.

Les produits de sécrétion qui ont été isolés jusqu'à présent des cultures pures, peuvent se diviser en deux classes : les alcaloïdes et les protéïdes. Certains de ces alcaloïdes étaient déjà connus.

Dans les protéïdes, on a isolé ou cru isoler les variétés suivantes :

Globuline (Sidney Martin).

Alcali-albumines (Buchner).

Diastases (Roux et Yersin).

Toxalbumines (Brieger et Frankel).

Albumoses (Hammerschlag, Hankin, Woolridge, Sidney-Martin).

Toxopectones (Scholl).

Les microorganismes desquels on a isolé ces substances sont, entre autres :

Le *bacille pyocyannique* (Fordos extrait du pus bleu la pyocyanine en 1859, Gessard isole du pus bleu le bacille pyocyannique en 1884).

Le *b. anthracis* : anthracoprotéine (Nencki) ; ptomaines (Hoffa, Sidney Martin) ; albumoses (Wooldridge, Hankin, Sidney Martin).

Tétanos : cinq alcaloïdes (Brieger) ; une diastase (Kitasato).

F. Typhoïde : un alcaloïde, typhotoxine (Brieger).

Diphthérie : une diastase (Roux et Yersin). Brieger et Frænkel la nomment toxalbumine.

Staph. pyogenes aureus : alcaloïde (Léber) ; diastase (Christmas).

Choléra : base volatile (Pouchet) ; toxoglobuline et toxopeptone (Scholl).

Bacille de Koch : albumose (Hammerschlag) ; quant à la substance précipitable par l'alcool, isolée de la tuberculine par M. Koch, sa nature est indéterminée ; elle se rapproche des alcali-albumines.

Répétons qu'en dehors des bases, on ne saurait affirmer qu'aucune de ces matières albuminoïdes dont les dénominations mêmes ne correspondent,

dans certains cas, à aucun corps chimiquement défini, ait été obtenue à l'état de pureté.

Nous indiquerons maintenant quelques méthodes d'extraction des principales d'entre elles.

1. Mode d'extraction des bases. — La méthode qui suit est celle que préconise M. le professeur Gautier, et dont voici la description :

Méthode de A. Gautier — Les matières fermentées, les tissus sont broyés et épuisés à l'eau bouillante (1). Le bouillon est filtré, et la liqueur privée d'ammoniaque libre par cette légère ébullition, est précipitée par l'acétate de plomb. On filtre et on ajoute au filtrat un léger excès d'acide oxalique, qui acidifie la liqueur et précipite l'excès du plomb. On filtre encore et on évapore pour chasser les acides gras, en ajoutant de temps à autre un peu d'acide oxalique si l'odeur d'acide acétique ou butyrique se manifeste dans la distillation. On traite alors la liqueur par un lait de chaux très clair, de façon à enlever la majeure partie, mais non la totalité de l'acide oxalique libre ; enfin, on concentre, s'il le faut, dans le vide, à l'état de sirop épais ; celui-ci est repris par l'alcool à 98° centésimaux qui dissout les oxalates des bases ; l'alcool est

(1) S'il s'agit de bouillon de culture, on les portera simplement à l'ébullition.

éaporé et l'extrait sirupeux, délayé dans un peu d'eau, est broyé avec son poids d'un mélange de deux parties de craie et de deux parties de chaux éteinte en poudre. On chauffe à 35 ou 40° tant qu'il se dégage de l'odeur d'ammoniaque et en recueillant, s'il le faut, les alcaloïdes volatils, puis on épuise par l'alcool à 83° centésimaux bouillant qui dissout les alcaloïdes. On précipite de cet extrait une trace de chaux par l'acide oxalique, on sature l'alcool par l'acide chlorhydrique et l'on évapore dans le vide sur la chaux éteinte. On obtient ainsi les chlorhydrates des bases cherchées.

Pour les séparer, on précipite par le chlorure mercurique les bases précipitables par ce réactif, en attendant vingt-quatre heures. Après ce temps, la liqueur filtrée est privée de mercure par H^2S (1). Elle contient les chlorhydrates des autres bases qu'on dissout dans l'alcool absolu, qui laisse quelques chlorures alcalins qu'on peut transformer en sulfate, et qu'on sépare ensuite

(1) Ce précipité mercurique peut contenir plusieurs familles d'alcaloïdes qu'on sépare après avoir enlevé le mercure par H^2S en précipitant la liqueur un peu concentrée successivement : 1° l'acétate de cuivre à froid, 2° l'acétate de cuivre à chaud (bases xantiques) 3° non précipitables par ce réactif.

généralement, soit par distillation en présence de magnésie (alcaloïdes volatils et fixes), soit à l'état de chloroplatinates solubles et insolubles, soit par les réactifs ordinaires des alcaloïdes.

Le résidu calcaire ci-dessus, d'où l'alcool à 83° centésimaux a extrait les bases libres, peut quelquefois contenir des bases fixes.

On l'acidule faiblement d'acide oxalique et on le reprend par l'eau bouillante. On neutralise par quelques gouttes d'eau de chaux, on filtre et on évapore ; les bases peu solubles dans l'alcool restent comme résidu.

Presque toutes les ptomaines précipitent par l'acide picrique et par les réactifs généraux des alcaloïdes. Pour leur classification, leurs propriétés générales et leurs réactions, nous renvoyons aux traités de chimie et en particulier à celui de M. Gautier (*Cours de chimie*, t. III, p. 264 où se trouve la méthode que nous venons de décrire).

2. Modes d'extraction et caractères des Protéides. — Le mot de protéides est synonyme de matières albuminoïdes. Ces corps appartiennent tous, sauf les peptones, à la classe des colloïdes, et ne dialysent pas. Celles qui ont été isolées jusqu'à présent des produits microbiens sont les :

Globulines. — Insolubles dans l'eau, solubles dans les alcalis et les acides dilués et dans les solutions étendues de chlorure de sodium ainsi que d'autres sels neutres.

Elles précipitent par le sulfate de magnésie *en poudre et en léger excès*.

Albuminates. — (Acide et alcali-albumines). Insolubles dans l'eau et dans une solution diluée de sel marin, solubles dans les alcalis et les acides étendus.

Voici quelle méthode Buchner employait pour extraire cette protéine des cadavres de bactéries. Il les faisait digérer dans une solution de potasse à $\frac{5}{1000}$ (méthode de Nencki pour la myco-protéine). La substance extraite est une matière albuminoïde appartenant à la classe des caséines (alcali-albumine). Elle se dissout dans les acides concentrés, dans les alcalis dilués d'où elle est précipitable par les acides dilués. Elle supporte sans décomposition une chaleur élevée et prolongée. Elle donne les réactions xantho-protéiques du réactif de Millon et la coloration violette avec l'acide acétique glacial et l'acide sulfurique concentré. Elle n'est pas précipitable par la chaleur ni par le chlorure de sodium concentré. Elle est précipitée par le sulfate de magnésie, le sulfate de cuivre, le chlorure de

platine, le chlorure d'or, les sels de plomb, l'acide picrique, l'acide tartrique et par l'alcool absolu.

Cette substance se rapproche beaucoup de l'an-thracoprotéine préparée par Nencki et Eyrmont.

Toxalbumines. — Insolubles dans un excès de sulfate d'ammoniaque en poudre, ajouté au liquide qui les contient en solution à froid, les toxalbumines s'altèrent à chaud et sous l'influence des moindres quantités d'alcalis, d'acides et de sels métalliques lourds.

Quand on veut séparer à la fois les ptomaïnes et les toxalbumines, après avoir précipité ces dernières comme on vient de le dire, on filtre la liqueur, on l'évapore dans le vide et on la reprend par l'alcool à 75° centésimaux bouillant qui laisse insoluble la majeure partie du sulfate d'ammoniaque et dissout les sulfates de ptomaïnes. On évapore cet alcool, on dissout le résidu dans l'eau et on continue par la méthode d'extraction des ptomaïnes, indiquée plus haut (p. 193).

Albumoses (propeptones). — Les corps que l'on a nommés albumoses ou propeptones et qui se forment durant la digestion, sous l'influence du suc gastrique ou de la pepsine chlorhydrique, sont intermédiaires entre les acidalbumines et

les peptones. Elles ne précipitent pas par la chaleur ; elles sont généralement solubles dans l'alcool froid ou chaud de 50 à 73° centésimaux. La plupart précipitent par le sulfate de magnésie et le sel marin en poudre et en excès. Elles sont précipitées, mais non rendues insolubles ou coagulées par l'alcool fort. Elles donnent la réaction rose du biuret. Elles précipitent par l'acide nitrique à froid, ce précipité se redissout à chaud.

Voici la méthode qu'emploie Hankin pour extraire des cultures de charbon, les albumoses qu'il a isolées.

A une solution au millième de bouillon Liebig, stérilisée, on ajoute une certaine quantité de fibrine pure ; on stérilise de nouveau en chauffant à 100°, à intervalles répétés, pendant peu de temps chaque fois. Si l'on chauffait trop longtemps, on peptoniserait la fibrine. On sème le sang d'un animal charbonneux et on laisse le tout à la température ordinaire pendant une semaine, puis on extrait l'albumose. Si le ballon est placé à l'étuve à 37°, la transformation de l'albumose en peptone se produit beaucoup plus vite. On acidule avec l'acide acétique et on sature par le sulfate d'ammoniaque, en poudre et en excès. Il se précipite de l'albumose ; on la dialyse après l'avoir additionnée de quelques gouttes de

thymol, et on place le boudin de dialyse dans un cristalliseur plein d'esprit de bois. Il n'est pas nécessaire de changer cet alcool méthylique. En une nuit, dit Hankin, j'ai réduit à 100 centimètres cubes une solution de 400 centimètres cubes d'albumose, à la température ordinaire. La solution concentrée est précipitée par l'alcool absolu. Pour précipiter les diastases qui pourraient agir sur l'albumose, Hankin, d'après le procédé de Cohnheim, ajoute à sa solution d'albumose de l'eau de chaux. En ajoutant une solution d'acide phosphorique, il se produit un précipité gélatineux de phosphate de chaux qui précipite les diastases. On filtre et on a une solution pure d'albumose.

Chacune des matières albuminoïdes donne une ou plusieurs albumoses au cours de sa peptonisation.

Diastases. — Solubles dans l'eau, dans la glycérine. Insolubles dans l'alcool. Précipitent par le sulfate d'ammoniaque en poudre et en excès.

Elles sont éminemment altérables par la chaleur et par la lumière (1). On peut les préparer :

(1) Il est bon de noter que certaines de ces diastases sont d'une fragilité telle que l'action de l'alcool peut les détruire ou atténuer notablement leur action physiologique.

1° Par précipitation par l'alcool ;
 2° par entraînement (phosphate de chaux ou alumine) ;

3° par digestion avec la glycérine et précipitation par l'alcool ;

4° par précipitation à l'aide du sulfate d'ammoniaque en poudre, en excès, puis on dialyse pour enlever ce sel.

3. Technique à suivre pour isoler une de ces substances. — Les opérations chimiques, à exécuter pour isoler dans un bouillon de culture les substances que nous venons de décrire brièvement, sont en petit nombre. Pour les exécuter il faut savoir :

Évaporer dans le vide ;
 dialyser ;
 faire une précipitation.

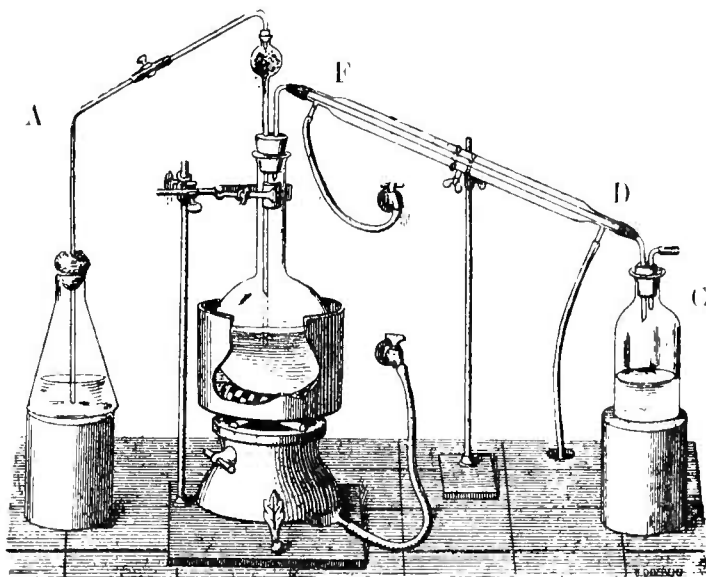
Nous allons donner, d'une façon résumée, les indications nécessaires.

1° **Évaporation dans le vide.** — Pour distiller une culture à basse température sans chance de contamination, l'appareil à distiller les liquides mousseux de M. Gautier rendra les plus grands services. C'est un appareil à distiller ordinaire représenté par la *fig.* 71.

Il est composé d'un bain-marie, d'un ballon et d'un réfrigérant de Liebig. Un flacon C, muni

d'un bouchon à deux trous, reçoit l'extrémité inférieure du réfrigérant et un tube qui communique avec la trompe par le tube D. Le bouillon de culture est aspiré dans le ballon par l'intermédiaire du tube A, qui plonge dans le milieu de culture, la rapidité de l'aspiration sera gra-

Fig. 71

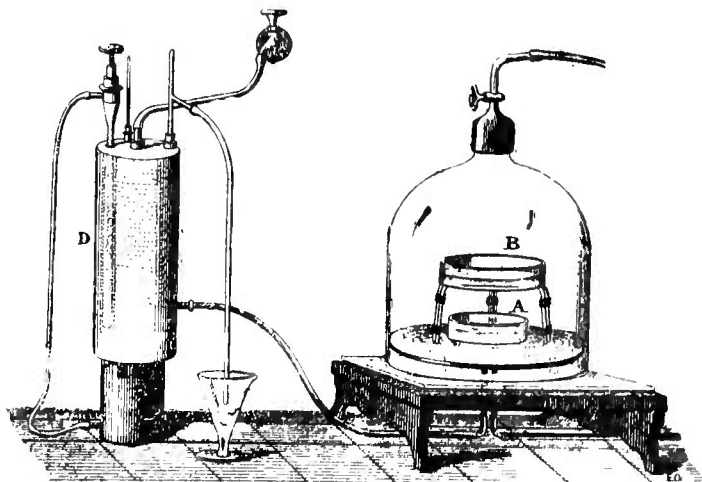


duée à l'aide du caoutchouc et de la pince de Mohr. Le renflement F, où arrive le liquide, sert à empêcher la mousse de se former à l'intérieur du ballon, et de passer à la distillation. La mousse se forme dans le renflement. Il faut avoir soin de chauffer et de faire le vide avant d'introduire une goutte de bouillon dans le ballon.

Le débit devra se faire goutte à goutte. Il est d'ailleurs facile de le régler avec la pince de Mohr.

M. Guinochet, a récemment imaginé un appareil très commode pour évaporer les liquides de culture à basse température (*fig. 72*). C'est une

Fig. 72



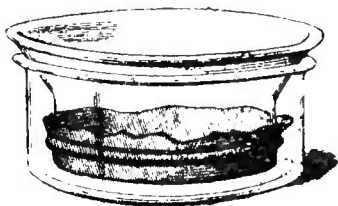
cloche à vide, reposant sur une platine en verre percée, à son centre, d'un orifice par où passe un tube de verre formant à l'intérieur de la cloche une spirale plate sur laquelle on pose le récipient, portant le liquide à évaporer. Un courant d'eau, chauffé à la température voulue à l'aide du bain-marie, permet d'obtenir une évaporation en peu de temps.

En B est un cristalliseur plein d'acide sulfurique.

2° **Dialyse.** — Dialyseur ordinaire (*fig. 73* et *74*).

Le dialyseur ordinaire se compose d'un cristalliseur contenant de l'eau distillée, et d'un cylindre de verre fermé par un tambour en papier parchemin, où l'on place la substance à dialyser; on

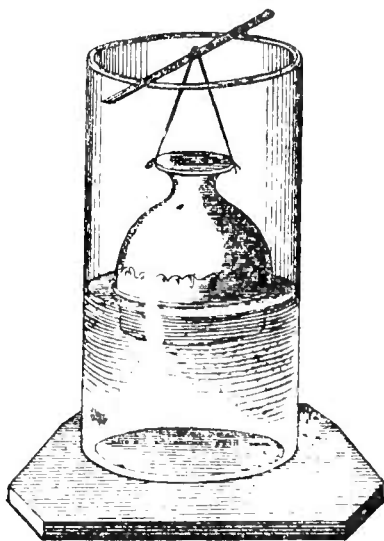
Fig. 73



commence par s'assurer que le papier parchemin ne contient pas de trous. Pour cela, après

Fig. 74

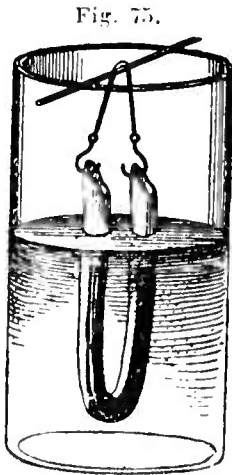
avoir découpé un morceau de grandeur suffisante, on le place sur du papier à filtre gris, et on le mouille abondamment avec une éponge. On regarde au bout d'un certain temps si le papier gris n'est pas mouillé. On attache, avec une ficelle, le papier mouillé et



souple autour du dialyseur et on laisse sécher.

On devra mettre dans le cristalliseur une quantité d'eau telle qu'en posant le dialyseur dans le cristalliseur la surface du papier affleure au niveau de l'eau distillée. Il faut changer l'eau distillée de temps en temps.

Dialyse au boudin (fig. 75). — Ce procédé consiste en l'emploi de cylindres de papier parchemin, que l'on remplit de



la substance à dialyser. On les ficelle fortement aux deux bouts, et on les laisse tremper dans un courant d'eau distillée. L'inconvénient de ce dispositif est que le parchemin peut contenir des trous ou des déchirures et qu'il est fort difficile de vérifier l'intégrité du papier.

Enfin, on peut employer l'appareil suivant, plus spécialement destiné aux recherches bactériologiques (*fig. 76*).

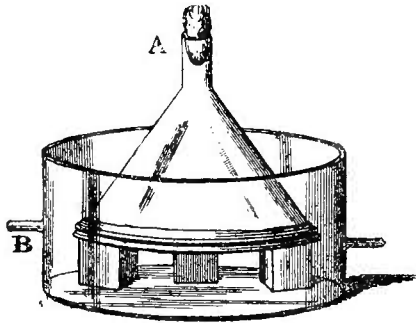
Le dialyseur A a la forme d'un entonnoir; il est porté par trois cubes de cristal, au-dessus du fond de la cuve B.

Un bouchon de ouate peut fermer son orifice supérieur. La cuve porte deux ajutages, par où passe un courant d'eau distillée.

Cet appare
boudin, il n'a
ordinaire: on
rifiera le pap
parchemin av
de le tendre
l'entonnoir.
peut se débarr
ser rapidement
l'aide de cet a
pareil, des su
stances telles q
sulfate d'amm
substances coll
lyseur met l'op
des germes de
Appareil à
toire de Strau
récipient mun
au goulot.
La pièce qui
A rodé égaleme
extrémité inféri
tubulaire latéra
l'on désire sou
pourvu d'un pe
veau d'une floe

Cet appareil n'a pas les inconvénients du boudin, il n'a pas non plus ceux du dialyseur ordinaire ; on vérifiera le papier parchemin avant de le tendre sur l'entonnoir. On peut se débarrasser rapidement, à l'aide de cet appareil, des sub-

Fig. 76



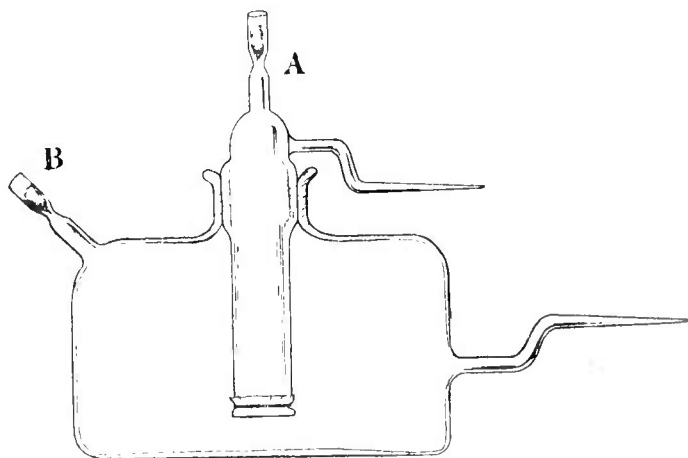
stances telles que le sulfate de magnésie ou le sulfate d'ammoniaque, qui ont précipité des substances colloïdes. De plus, la forme du dialyseur met l'opération à l'abri des impuretés et des germes de l'air.

Appareil à dialyse stérilisable du laboratoire de Straus. — Cet appareil se compose d'un récipient muni d'une tubulure latérale et rodé au goulot.

La pièce qui bouche ce récipient est un cylindre A rodé également au goulot, et qui porte à son extrémité inférieure la membrane de dialyse ; une tubulure latérale permet d'aspirer le liquide que l'on désire soumettre à la dialyse. Le tube A est pourvu d'un petit étranglement et muni à ce niveau d'une flochede ouate pour arrêter les germes.

Le récipient extérieur porte également un tube latéral B qui permet d'aspirer l'eau distillée.

Fig. 77



On remplit le récipient extérieur d'eau distillée jusqu'au niveau de la membrane et on stérilise à l'autoclave, puis on introduit avec pureté, par aspiration, le liquide que l'on désire dialyser.

Méthode des sacs. — Rappelons que cette méthode consiste à introduire dans le péritoine d'animaux, de petits sacs de collodion, véritables boudins de dialyse contenant un bouillon de culture d'un microorganisme dont on veut exalter la virulence.

Ces sacs se
un procédé
bons résultats
collodion, un
un autre verr

Le moule s
petit tube à e
bien arrondi à
tube est fin, p
procédera de
dement, deux
bien égoutter
d-ssiccation :
l'alcool au tie
sufflation, pu
tillée.

On n'a plus
moule, ce qui
cela, on affran
un bistouri ou
sage, en tiran
la main receo
suite les sacs
parois ne co
met dans l'e
indétiniment.
récipient ple

Ces sacs sont assez difficiles à exécuter. Voici un procédé qui, avec de l'habitude, donne de bons résultats. On a devant soi un flacon de collodion, un verre contenant de l'alcool au tiers, un autre verre contenant de l'eau distillée.

Le moule sur lequel on va faire le sac est un petit tube à essai de 9 millimètres de diamètre, bien arrondi à son extrémité inférieure (plus le tube est fin, plus le sac est difficile à faire). On procédera de la façon suivante : Tremper rapidement, deux fois à une seconde d'intervalle, bien égoutter, et souffler sur le tube jusqu'à dessiccation : Tremper trois ou quatre fois dans l'alcool au tiers, faire évaporer l'alcool par insufflation, puis immédiatement dans l'eau distillée.

On n'a plus qu'à détacher le petit sac de son moule, ce qui exige une certaine dextérité. Pour cela, on affranchit le bord supérieur du sac avec un bistouri ou un couteau bien affilé et on dégage, en tirant et en tournant légèrement avec la main recouverte d'un linge. On remplit ensuite les sacs d'alcool pour empêcher que les parois ne collent au fond du sac, puis on les met dans l'eau distillée, où ils se conservent indéfiniment. On les stérilisera à 120° , dans un récipient plein d'eau. Pour fermer ces sacs her-

méliquement, on a proposé différents procédés. Un des plus simples et des meilleurs consiste simplement à les fermer à l'aide de fils stérilisés dans un verre de montre, et que l'on tient avec des pinces flambées. On vernit ensuite au collodion. Il va sans dire qu'un aide est indispensable pour cette petite manœuvre. On peut encore pincer la partie supérieure du sac à un demi-centimètre de son extrémité (pince à pression continue) et on coule de la cire *noire* dans le godet formé par les parois du sac au-dessus de la pince. Puis on serre le bout supérieur, on le replie et on enduit de cire noire.

Voici, pour fermer les sacs, un autre procédé employé par M. Nocard et qui lui a donné, ainsi qu'à M. Massol, de bons résultats.

On fait le sac d'après le procédé indiqué plus haut. Lorsqu'il est détaché, on introduit doucement un tube de verre de plus gros calibre dont la tranche a été émoussée à la lampe. Ce tube a été étiré à la lampe et porte un étranglement.

Cette opération faite, on laisse le sac bien sécher à l'étuve ; par la dessiccation il se contracte et adhère fortement contre la paroi du tube. Quand le séchage est parfait on recouvre l'extrémité du sac adhérant au verre, d'une légère couche de collodion pour renforcer un peu le joint.

On intro
par l'extre
sac et l'on
un peu de
sacs absolu

3. Précipi

tres opérati
tion et la fil
connues pou
tage. Nous ne
nérale qui pe
diète complè
évident que
globulines, le
chées les pre
les sels neutre
met que l'ale
toutes les ma
les produits
dont l'un ren
ptomaines. C
plus ou moins
soit aux traité
tableau somm
corps que nou

On pourra a
de tâtonnemen

On introduit alors la culture avec une pipette par l'extrémité effilée du tube embouti dans le sac et l'on ferme l'étranglement à la lampe. Avec un peu de pratique, on obtient de cette façon des sacs absolument étanches.

3. Précipitation. Filtration. — Quant aux autres opérations chimiques, telles que la précipitation et la filtration, elles sont assez faciles et assez connues pour que nous n'y insistions pas davantage. Nous ne saurions donner ici une méthode générale qui permette de faire une analyse immédiate complète d'un bouillon de culture. Il est évident que les matières les plus altérables, les globulines, les diastases, etc., devront être recherchées les premières. On devra donc précipiter par les sels neutres, ou même par l'alcool (si l'on admet que l'alcool ne détruise pas leurs propriétés), toutes les matières protéiques. On divisera ainsi les produits solubles en deux grands groupes, dont l'un renferme les protéides et l'autre, les ptomaïnes. Chacun de ces deux groupes sera plus ou moins facile à analyser, en se reportant, soit aux traités spéciaux de chimie, soit même au tableau sommaire des propriétés de ces différents corps que nous avons donné plus haut.

On pourra aussi, en employant une méthode de tâtonnement, traiter une certaine quantité de

bouillon de culture, deux litres par exemple, en vue de la recherche d'un corps déterminé ; on fera de même successivement pour toutes les autres substances dont on soupçonne la présence dans le liquide qu'on analyse.

Préparation de la tuberculine et de la malléine. — Nous terminerons ce chapitre en donnant les formules de préparation de la tuberculine et de la malléine.

Tuberculine. — A. *Première méthode de Koch* (1890). — On prépare la tuberculine *brute* en évaporant, au dixième de son volume, des cultures en bouillon glyceriné et peptonisé du bacille de la tuberculose. L'opération se fait au bain-marie dans une capsule de porcelaine. On obtient ainsi un liquide brun, limpide, d'une odeur agréable et qui constitue la tuberculine brute.

La tuberculine *purifiée* s'obtient en mélangeant la tuberculine brute à une fois et demie son volume d'alcool à 60 %. Il se forme un précipité blanc floconneux qui se dépose bien après 24 heures de repos. On décante avec précaution, on ajoute de l'alcool à 60 %, on agite et on laisse de nouveau reposer. On répète ce lavage à plusieurs reprises jusqu'à ce que l'alcool ne se colore plus, puis on lave plusieurs fois à l'alcool absolu, on filtre à nouveau et on

dessèche c
tient ainsi
séchée à
donne une

B. *Nou*

cipe de cet
tion, l'écr
culeux bien

« On les

d'agate au

tance. Pou

de bacilles

sidu en le

soumet ce

dant trente

d'une puis

par minute

est divisée

supérieure,

opalescent

plus de ba

rière con

adhère forte

« On séch

mortier, on

et on obti

supérieure

dessèche dans l'exsiccateur dans le vide. On obtient ainsi une masse d'un blanc de neige qui, séchée à 100° (elle perd alors 7 à 9 % d'eau), donne une poudre légèrement teintée en gris.

B. *Nouvelle tuberculine* (1897). — Le principe de cette préparation consiste dans la trituration, l'écrasement de cultures de bacilles tuberculeux bien desséchés.

« On les triture longuement dans un mortier d'agate au moyen d'un pilon de même substance. Pour se débarrasser de la petite quantité de bacilles encore intacts, on émulsionne le résidu en le triturant dans l'eau distillée, et on soumet ce mélange à la centrifugation pendant trente à quarante-cinq minutes au moyen d'une puissante machine faisant 4 000 tours par minute. Au bout de ce temps, l'émulsion est divisée en deux couches distinctes : une supérieure, formée par un liquide blanchâtre, opalescent mais transparent, qui ne contient plus de bacilles tuberculeux ; la couche inférieure consiste en un précipité boueux qui adhère fortement aux parois du vase.

« On sèche ce précipité, on le retrituration dans le mortier, on le centrifuge comme précédemment et on obtient de nouveau deux couches, une supérieure de liquide transparent et un préci-

pité solide. En répétant plusieurs fois cette opération, on arrive à n avoir presque plus de précipité. La masse entière de la culture de bacilles tuberculeux se trouve transformée en une série de couches liquides absolument transparentes. »

Koch a appelé TO (tuberculine O), la couche supérieure (*obere*) obtenue à la suite de la première centrifugation et TR (tuberculine résiduaire) le résidu solide de la première centrifugation, résidu servant à la préparation de tous les liquides ultérieurs.

Pour la préparation de TR, il est nécessaire d'employer des cultures fortement virulentes. Ces cultures doivent être aussi jeunes que possible et tenues à l'abri de la lumière. Il faut les dessécher dans le vide à l'exsiccateur et les utiliser aussitôt après leur dessiccation complète.

Quand on broie les bacilles, on fera bien de recouvrir le mortier d'un papier percé, à son centre, d'un trou laissant passer le pilon et de se boucher les narines avec deux tampons de ouate. La préparation de cette tuberculine présente en effet le danger d'exposer à l'inhalation de bacilles. Il est impossible d'ailleurs de l'obtenir exempte d'impuretés (1), soit qu'elle ait été faite

(1) Celle de l'industrie est remplie d'impuretés, surtout de levures.

industriellement, soit qu'elle ait été faite dans un laboratoire en petite quantité.

Malléine. — La malléine est l'extrait glycé-
riné des cultures de morve. Voici comment on
la prépare d'après le procédé de M. Roux :

Il est indispensable d'employer des cultures
le plus virulentes possible (1).

On les ensemence dans le bouillon peptoné et
glycériné. Après un mois de séjour à l'étuve à
35°, on stérilise les cultures à 110° à l'autoclave.
On filtre sur papier, on concentre par évapora-
tion dans le vide à basse température en pré-
sence de l'acide sulfurique jusqu'à réduction au
dixième de leur volume primitif. On obtient
ainsi un liquide sirupeux, brun foncé, d'une
odeur spéciale un peu vireuse. On l'emploie en
dilution au dixième dans l'eau phéniquée à
5 pour 1 000 (Nocard).

(1) On injecte, dans la veine marginale de l'oreille,
d'un lapin, une émulsion de la culture de morve dont
on veut exalter la virulence. Le lapin mort, on prélève
du sang du cœur que l'on sème largement sur des
tranches de pomme de terre. La pulpe de rate donne
encore plus sûrement des cultures. Lorsque les cul-
tures ont acquis leur plein développement, on en fait
une émulsion que l'on injecte dans la veine d'un second
lapin et ainsi de suite. On obtient, après un certain
nombre de passages, un bacille très virulent capable
de tuer non seulement un lapin, mais la souris blanche
ordinairement réfractaire. C'est avec les cultures de ce
bacille que l'on fabriquera la malléine.

TABLE DES MATIÈRES

—

CHAPITRE PREMIER

	Pages
<i>Stérilisation</i>	5
1. Stérilisation par la chaleur sèche.	7
2. " " la chaleur humide	11
3. " " filtration.	16

CHAPITRE II

<i>Préparation et ensemencement des milieux de culture</i>	24
1. Récipients	24
2. Préparation du Bouillon	26
3. " de la Gélatine	28
4. " de la Gélose	29
5. " des Pommes de terre	31
6. " du Sérum.	33
7. Milieux de culture spéciaux à certains organismes.	43
8. Ensemencement des milieux précédents.	47

CHAPITRE III

<i>Culture sur plaques</i>	51
1. Plaques de Gélatine.	51
2. Plaques de Gélose	61

CHAPITRE IV

<i>Culture des anaérobies.</i>	66
1. Culture en tubes	68
2. Séparation des anaérobies	74

Études

1. Étude de
2. " de
3. " de

Opérations

1. Controllé
2. Matériel

Méthodes d'

1. Inoculati
2. "
3. "

4. Inoculati

5. Inoculati

6.

7.

8.

9.

10.

Autopsies

guides

1. Exame

2. "

3.

CHAPITRE V

	Pages
<i>Étuves</i>	79
1. Étuve de Gay-Lussac	79
2. " de d'Arsonval.	82
3. " de Roux.	86

CHAPITRE VI

<i>Opérations préliminaires à l'inoculation.</i>	83
1. Contention des animaux	88
2. Matériel d'inoculation	93

CHAPITRE VII

<i>Méthodes d'inoculation</i>	102
1. Inoculations sous-cutanées	102
2. " intra-veineuses.	105
3. " dans la chambre antérieure de l'œil.	109
4. Injection sous la dure-mère	109
5. Inoculations intra-péritonéales.	110
5. " intra-pleurales.	112
6. " par ingestion	112
7. " par inhalation	114

CHAPITRE VIII

<i>Autopsies — Comment on doit recueillir les li- quides pathologiques</i>	118
1. Examen du sang du cœur.	121
2. " des exsudats	124
3. " des viscères.	125

CHAPITRE IX		Pages
<i>Examen microscopique et colorations</i>		134
1. Examen microscopique.		134
2. Colorations		139
CHAPITRE X		
<i>Analyse de l'air</i>		166
1. Recherches de Pasteur.		167
2. Méthodes de Koch et de Hesse		168
3. " de Frankland et de Petri		169
4. " de Miquel.		171
5. Appareil de Straus et Wurtz		172
CHAPITRE XI		
<i>Analyse de l'eau, des terres et des poussières</i>		178
1. Règles générales		178
2. Méthode de Koch.		180
3. " de Miquel		184
CHAPITRE XII		
<i>Propriétés générales et extraction des substances sécrétées par les microbes.</i>		189
1. Bases		193
2. Protéïdes.		195
3. Technique de l'évaporation à basse température.		200
4. Dialyse		203
5. Précipitation, filtration		209
6. Préparation de la tuberculine et de la maléine		210

MASSON & C^{ie}, Éditeurs
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain, Paris
P. n^o 183.

EXTRAIT DU CATALOGUE

(Mars 1900)

VIENT DE PARAÎTRE

LA PRATIQUE DERMATOLOGIQUE

Traité de Dermatologie appliquée

Publié sous la direction de MM.

ERNEST BESNIER, L. BROCCQ, L. JACQUET

Par MM. AUDRY, BALZER, BARBE, BAROZZI, BARTHÉLEMY, BENARD, ERNEST BESNIER, BODIN, BROCCQ, DE BRUN, DU CASTEL, J. DARIER, DEHU, DOMINICI, W. DUBREUILH, HUDELO, L. JACQUET, J.-B. LAFFITTE, LENGLET, LEREDDE, MERKLEN, PERRIN, RAYNAUD, RIST, SABOURAUD, MARCEL SÉE, GEORGES THIBIERGE, VEYRIÈRES.

4 volumes richement cartonnés toile formant ensemble environ 3600 pages, très largement illustrés de figures en noir et de planches en couleurs. En souscription jusqu'à la publication du Tome II. 140 fr.

Les volumes paraîtront à des intervalles assez rapprochés pour que l'ouvrage soit complet à la fin de l'année 1901.

Chaque volume sera vendu séparément.

TOME PREMIER. 1 fort vol. in-8^o avec 230 figures en noir et 24 planches en couleurs. — Richement cartonné toile. 36 fr.

Anatomie et Physiologie de la Peau. — Pathologie générale de la Peau. — Symptomatologie générale des Dermatoses. — Acanthosis Nigricans. — Acnés. — Actinomycose. — Adénomes. — Alopecies. — Anesthésie locale. — Balanites. — Bouton d'Orient. — Brûlures. — Charbon. — Classifications dermatologiques. — Dermatites polymorphes douloureuses. — Dermatophytes. — Dermatozoaires. — Dermites infantiles simples. — Ecthyma.

Le Tome II contiendra les articles : *Eczéma*, par ERNEST BESNIER. — *Électricité*, par BROCCQ. — *Électrolyse*, par BROCCQ. — *Eléphantiasis*, par DOMINICI. — *Eosinophilie*, par LEREDDE. — *Epithélioma*, par DARIER. — *Eruptions artificielles*, par THIBIERGE. — *Érythème*, par BODIN. — *Érythrodermie*, par BROCCQ. — *Favus*, par BODIN. — *Folliculites*, par HUDELO. — *Furunculose*, par BAROZZI. — *Gale*, par DUBREUILH. — *Grefte*, par BAROZZI. — *Herpès*, par DU CASTEL. — *Ichtyose*, par THIBIERGE. — *Impétigo*, par SABOURAUD. — *Kératodermie*, par DUBREUILH. — *Kératose pileuse*, par VEYRIÈRES. — *Langue*, par BÉNARD. — *Lèpre*, par MARCEL SÉE. — *Leucokératose*, par BÉNARD. — *Lichens*, par BROCCQ.

Traité de Chirurgie

PUBLIÉ SOUS LA DIRECTION DE MM.

Simon DUPLAY

Professeur à la Faculté de médecine
Chirurgien de l'Hôtel-Dieu
Membre de l'Académie de médecine

Paul RECLUS

Professeur agrégé à la Faculté de médecine
Chirurgien des hôpitaux
Membre de l'Académie de médecine

PAR MM.

BERGER, BROCA, PIERRE DELBET, DELENS, DEMOULIN, J.-L. FAURE
FORGUE, GÉRARD MARCHANT, HARTMANN, HEYDENREICH, JALAGUIER
KIRMISSON, LAGRANGE, LEJARS, MICHAUX, NÉLATON, PEYROT
PONCET, QUÉNU, RICARD, RIEFFEL, SEGOND, TUFFIER, WALTHER

Ouvrage complet

DEUXIÈME ÉDITION ENTIÈREMENT REFOUNDUE

8 vol. gr. in-8° avec nombreuses figures dans le texte.

150 fr.

TOME I. — 1 vol. grand in-8° de 912 pages avec 218 figures 18 fr.

RECLUS. — Inflammations, traumatismes, maladies virulentes.

BROCA. — Peau et tissu cellulaire sous-cutané.

TOME II. — 1 vol. grand in-8° de 996 pages avec 361 figures 18 fr.

LEJARS. — Nerfs.

MICHAUX. — Artères.

QUÉNU. — Maladies des veines.

TOME III. — 1 vol. grand in-8° de 940 pages avec 285 figures 18 fr.

NÉLATON. — Traumatismes, entorses, luxations, plaies articulaires.

QUÉNU. — Arthropathies, arthrites sèches, corps étrangers articulaires.

TOME IV. — 1 vol. grand in-8° de 896 pages avec 354 figures 18 fr.

DELENS. — L'œil et ses annexes.

GÉRARD MARCHANT. — Nez, fosses

TOME V. — 1 vol. grand in-8° de 948 pages avec 187 figures 20 fr.

BROCA. — Face et cou. Lèvres, cavité buccale, gencives, palais, langue, larynx, corps thyroïde.

HARTMANN. — Plancher buccal, glan-

TOME VI. — 1 vol. grand in-8° de 1127 pages avec 218 figures 20 fr.

MICHAUX. — Parois de l'abdomen.

BERGER. — Hernies.

JALAGUIER. — Contusions et plaies de l'abdomen, lésions traumatiques et corps étrangers de l'estomac et de l'intestin. Occlusion intestinale, péritonites, appendicite.

TOME VII. 1 fort vol. gr. in-8° de 1272 pages, 297 fig. dans le texte 25 fr.

WALTHER. — Bassin.

FORGUE. — Urètre et prostate.

RECLUS. — Organes génitaux de l'homme.

TOME VIII. 1 fort vol. gr. in-8° de 971 pages, 163 fig. dans le texte 20 fr.

MICHAUX. — Vulve et vagin.

PIERRE DELBET. — Maladies de l'utérus.

SEGOND. — Annexes de l'utérus,

QUÉNU. — Des tumeurs.

LEJARS. — Lymphatiques, muscles, synoviales tendineuses et bourses séreuses.

TOME II. — 1 vol. grand in-8° de 996 pages avec 361 figures 18 fr.

RICARD et DEMOULIN. — Lésions traumatiques des os.

PONCET. — Affections non traumatiques des os.

TOME III. — 1 vol. grand in-8° de 940 pages avec 285 figures 18 fr.

LAGRANGE. — Arthrites infectieuses et inflammatoires.

GÉRARD MARCHANT. — Crâne.

KIRMISSON. — Rachis.

S. DUPLAY. — Oreilles et annexes.

nasales, pharynx nasal et sinus.

HEYDENREICH. — Mâchoires.

des salivaires, œsophage et pharynx.

WALTHER. — Maladies du cou.

PEYROT. — Poitrine.

PIERRE DELBET. — Mamelle.

TOME VI. — 1 vol. grand in-8° de 1127 pages avec 218 figures 20 fr.

HARTMANN. — Estomac.

FAURE et RIEFFEL. — Rectum et anus.

HARTMANN et GOSSET. — Anus contre nature. Fistules stercorales.

QUÉNU. — Mésentère. Rate. Pancréas.

TOME VII. 1 fort vol. gr. in-8° de 1272 pages, 297 fig. dans le texte 25 fr.

RIEFFEL. — Affections congénitales de la région sacro-coccygienne.

TUFFIER. — Rein. Vessie-Urètres. Capsules surrénales.

ovaires, trompes, ligaments larges, péritoine pelvien.

KIRMISSON. — Maladies des membres.

Traité
PU
BOUC
Membre de
40 volum
En souscripti
1 vol. gr. in-
Les Bactéries
médecine, profess
infectieuses, par
directeur du labor
Troubles et ma
Hôpital Tenon.
animaux, par G.
Labervilliers.
1 vol. grand
Fièvre typho
de Paris, médecin
professeur agrégé
tique, par L. H.
Vieilles érupti
pelle, par E. B.
A. Roudot. — R
docteur, par To
1 vol. grand
Maladies cu
Maladies vén
A. GUARNT, prof
de A. RICHARD
1 vol. grand
Maladies d
de l'estomac.
pancréas, par
médecin des hô

CHARCOT — BOUCHARD — BRISSAUD

BABINSEI, BALLEI, P. BLOQU, BOIX, BRAULT, CHANTEMESSE,
 CHARRIN, CHAUFFARD, COURTOIS-SUFFIT, DUTIL, GILBERT, GUIGNARD,
 L. GUINON, GEORGES GUINON, HALLION, LAMY, LE GENDRE, MARFAN,
 MATHIEU, NETTER, OETTINGER, ANOÛÉ PETIT, RICHARDIÈRE,
 ROGER, RUAULT, SOUQUES, THIBIERGE, THOINOT, FERNAND WIDAL.

Traité de Médecine

DEUXIÈME ÉDITION

PUBLIÉ SOUS LA DIRECTION DE MM.

BOUCHARD

Professeur à la Faculté de médecine
 de Paris,
 Membre de l'Institut.

BRISSAUD

Professeur à la Faculté de médecine
 de Paris,
 Médecin de l'hôpital Saint-Antoine.

10 volumes grand in-8°, avec figures dans le texte.

En souscription.

150 fr.

TOME I^{er}

1 vol. gr. in-8° de 845 pages, avec figures dans le texte. 16 fr.

Les Bactéries, par L. GUIGNARD, membre de l'Institut et de l'Académie de médecine, professeur à l'École de Pharmacie de Paris. — **Pathologie générale infectieuse**, par A. CHARRIN, professeur remplaçant au Collège de France, directeur du laboratoire de médecine expérimentale, médecin des hôpitaux. — **Troubles et maladies de la Nutrition**, par PAUL LE GENDRE, médecin de l'hôpital Tenon. — **Maladies infectieuses communes à l'homme et aux animaux**, par G.-H. ROGER, professeur agrégé, médecin de l'hôpital de la Porte-d'Aubervilliers.

TOME II

1 vol. grand in-8° de 894 pages avec figures dans le texte. 16 fr.

Fièvre typhoïde, par A. CHANTEMESSE, professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin des hôpitaux. — **Maladies infectieuses**, par F. WIDAL, professeur agrégé, médecin des hôpitaux de Paris. — **Typhus exanthématique**, par L.-H. THOINOT, professeur agrégé, médecin des hôpitaux de Paris. — **Fièvres éruptives**, par L. GUINON, médecin des hôpitaux de Paris. — **Erysipèle**, par E. BOIX, chef de laboratoire à la Faculté. — **Diphthérie**, par A. RUAULT. — **Rhumatisme**, par OETTINGER, médecin des hôpitaux de Paris. — **Scorbut**, par TOLLEMER, ancien interne des hôpitaux.

TOME III

1 vol. grand in-8° de 702 pages avec figures dans le texte. 16 fr.

Maladies cutanées, par G. THIBIERGE, médecin de l'hôpital de la Pitié. — **Maladies vénériennes**, par G. THIBIERGE. — **Maladies du sang**, par A. GILBERT, professeur agrégé, médecin des hôpitaux de Paris. — **Intoxications**, par A. RICHARDIÈRE, médecin des hôpitaux de Paris.

TOME IV

1 vol. grand in-8° de 680 pages avec figures dans le texte. 16 fr.

Maladies de la bouche et du pharynx, par A. RUAULT. — **Maladies de l'estomac**, par A. MATHIEU, médecin de l'hôpital Andral. — **Maladies du pancréas**, par A. MATHIEU. — **Maladies de l'intestin**, par COURTOIS-SUFFIT, médecin des hôpitaux. — **Maladies de la péritoine**, par COURTOIS-SUFFIT.

Traité de Pathologie générale

Publié par **Ch. BOUCHARD**

Membre de l'Institut

Professeur de pathologie générale à la Faculté de Médecine de Paris.

SECRÉTAIRE DE LA RÉDACTION : **G.-H. ROGER**

Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, Médecin des hôpitaux.

6 volumes grand in-8°, avec figures dans le texte.

Prix en souscription jusqu'à la publication du t. V. **112 fr.**

TOME I

1 vol. grand in-8° de 1018 pages avec figures dans le texte : **18 fr.**

Introduction à l'étude de la pathologie générale, par G.-H. ROGER. — Pathologie comparée de l'homme et des animaux, par G.-H. ROGER et P.-J. CADOT. — Considérations générales sur les maladies des végétaux, par P. VUILLEMIN. — Pathologie générale de l'embryon. Tératogénie, par MATHIAS DUVAL. — L'hérédité et la pathologie générale, par LE GENDRE. — Prédisposition et immunité, par BOURCY. — La fatigue et le surmenage, par MARFAN. — Les Agents mécaniques, par LEMARS. — Les Agents physiques. Chaleur. Froid. Lumière. Pression atmosphérique. Son, par LE NOIR. — Les Agents physiques. L'énergie électrique et la matière vivante, par D'ARSONVAL. — Les Agents chimiques : les caustiques, par LE NOIR. — Les intoxications, par G.-H. ROGER.

TOME II

1 vol. grand in-8° de 940 pages avec figures dans le texte : **18 fr.**

L'infection, par CHARRIN. — Notions générales de morphologie bactériologique, par GUIGNARD. — Notions de chimie bactériologique, par HUGOUNENQ. — Les microbes pathogènes, par ROUX. — Le sol, l'eau et l'air, agents des maladies infectieuses, par CHANTEMESSE. — Des maladies épidémiques, par LAVERAN. — Sur les parasites des tumeurs épithéliales malignes, par RUFFER. — Les parasites, par R. BLANCHARD.

TOME III

1 vol. in-8° de plus de 1400 pages, avec figures dans le texte, publié en deux fascicules : **28 fr.**

Fasc. I. — Notions générales sur la nutrition à l'état normal, par E. LAMBLING. — Les troubles préalables de la nutrition, par CH. BOUCHARD. — Les réactions nerveuses, par CH. BOUCHARD et G.-H. ROGER. — Les processus pathogéniques de deuxième ordre, par G.-H. ROGER.

Fasc. II. — Considérations préliminaires sur la physiologie et l'anatomie pathologiques, par G.-H. ROGER. — De la fièvre, par LOUIS GUINON. — L'hypothermie, par J.-F. GUYON. — Mécanisme physiologique des troubles vasculaires, par E. GLEY. — Les désordres de la circulation dans les maladies, par A. CHARRIN. — Thrombose et embolie, par A. MAYOR. — De l'inflammation, par J. COURMONT. — Anatomie pathologique générale des lésions inflammatoires, par M. LETULLE. — Les altérations anatomiques non inflammatoires, par P. LE NOIR. — Les tumeurs, par P. MENETRIER.

TOME IV

1 vol. in-8° de 719 pages avec figures dans le texte : **16 fr.**

Evolution des maladies, par DUCAMP. — Sémiologie du sang, par A. GILBERT. — Spectroscopie du sang. Sémiologie, par A. HÉNOQUE. — Sémiologie du cœur et des vaisseaux, par R. TRIPIER. — Sémiologie du nez et du pharynx nasal, par M. LERMOYER et M. BOULAY. Sémiologie du larynx, par M. LERMOYER et M. BOULAY. — Sémiologie des voies respiratoires, par M. LEBRETON. — Sémiologie générale du tube digestif, par P. LE GENDRE.

Pour paraître prochainement

TOME V

Par MM. ARNOZAN, CHABRIÉ, CHARRIN, CHAUFFARD, DÉJERINE, PIERRE DELBET, HALLÉ.

Traité élémentaire de Clinique Thérapeutique

Par le D^r Gaston LYON

Ancien chef de clinique médicale à la Faculté de médecine de Paris

TROISIÈME ÉDITION REVUE ET AUGMENTÉE

1 volume grand in-8° de VIII-1332 pages. Relié peau. 20 fr.

TRAITÉ DE PHYSIOLOGIE

PAR

J.-P. MORAT

Professeur à l'Université de Lyon.

Maurice DOYON

Professeur agrégé
à la Faculté de médecine de Lyon

5 vol. gr. in-8° avec figures en noir et en couleurs.

En souscription

50 fr.

- I. — **Fonctions de nutrition** : Circulation, par M. DOYON; Calorification, par P. MORAT. 1 vol. gr. in-8° avec 173 figures en noir et en couleurs. 12 fr.
- II. — **Fonctions de nutrition (suite et fin)** : Respiration, excrétion, par J.-P. MORAT; Digestion, Absorption, par M. DOYON. 1 vol. gr. in-8°, avec 167 figures en noir et en couleurs. 12 fr.

LES MÉDICAMENTS CHIMIQUES

Par Léon PRUNIER

Pharmacien en chef des Hôpitaux de Paris,
Professeur de pharmacie chimique à l'École de Pharmacie,
Membre de l'Académie de Médecine.

2 volumes grand in-8° avec figures dans le texte

30 fr.

On vend séparément :

- TOME I. Composés minéraux.** 1 vol. grand in-8° avec 137 figures dans le texte 15 fr.
- TOME II. Composés organiques.** 1 vol. grand in-8° avec 41 figures dans le texte 15 fr.

Traité des Maladies de l'Enfance

PUBLIÉ SOUS LA DIRECTION DE MM.

J. GRANCHER

Professeur à la Faculté de médecine de Paris,

Membre de l'Académie de médecine, médecin de l'hôpital des Enfants-Malades.

J. COMBY

Médecin

de l'hôpital des Enfants-Malades.

A.-B. MARFAN

Agrégé,

Médecin des hôpitaux.

5 vol. grand in-8° avec figures dans le texte. . . 90 fr.

CHAQUE VOLUME EST VENDU SÉPARÉMENT

Traité d'Anatomie Humaine

PUBLIÉ SOUS LA DIRECTION DE

P. POIRIER

Professeur agrégé
à la Faculté de Médecine de Paris
Chirurgien des Hôpitaux.

A. CHARPY

Professeur d'anatomie
à la Faculté de Médecine
de Toulouse.

AVEC LA COLLABORATION DE

**O. Amoëdo. — Branca. — B. Cunéo. — P. Fredet. — P. Jacques.
Th. Jonnesco. — E. Laguesse. — L. Manouvrier. — A. Nicolas.
M. Picou. — A. Prenant. — H. Rieffel. — Ch. Simon. — A. Soulié.**

5 volumes grand in-8°. *En souscription* : 150 fr.

Chaque volume est illustré de nombreuses figures, la plupart tirées en plusieurs couleurs d'après les dessins originaux de

MM. Ed. CUYER et A. LEUBA.

ÉTAT DE LA PUBLICATION AU 1^{er} MARS 1900

TOME PREMIER

(Volume complet.)

Embryologie; Ostéologie; Arthrologie. Deuxième édition. Un volume grand in-8° avec 807 figures en noir et en couleurs 20 fr.

TOME DEUXIÈME

- 1^{er} Fascicule : **Myologie.** Un volume grand in-8° avec 312 figures. 12 fr.
2^e Fascicule : **Angéiologie (Cœur et Artères).** Un volume grand in-8° avec 145 figures en noir et en couleurs 8 fr.
3^e Fascicule : **Angéiologie (Capillaires, Veines).** Un volume grand in-8° avec 75 figures en noir et en couleurs 6 fr.

TOME TROISIÈME

(Volume complet.)

- 1^{er} Fascicule : **Système nerveux (Méninges, Moelle, Encéphale).** 1 vol. grand in-8° avec 201 figures en noir et en couleurs 10 fr.
2^e Fascicule : **Système nerveux (Encéphale).** Un vol. grand in-8° avec 206 figures en noir et en couleurs 12 fr.
3^e Fascicule : **Système nerveux (Les Nerfs. Nerfs crâniens. Nerfs rachidiens).** 1 vol. grand in-8° avec 205 figures en noir et en couleurs 12 fr.

TOME QUATRIÈME

(Volume complet.)

- 1^{er} Fascicule : **Tube digestif.** Un volume grand in-8°, avec 158 figures en noir et en couleurs 12 fr.
2^e Fascicule : **Appareil respiratoire; Larynx, trachée, poumons, plèvres, thyroïde, thymus.** Un volume grand in-8°, avec 121 figures en noir et en couleurs 6 fr.
3^e Fascicule : **Annexes du tube digestif; Dentis, glandes salivaires, foie, voies biliaires, pancréas, rate. Péritoine.** 1 vol. grand in-8° avec nombreuses figures en noir et en couleurs.

IL RESTE A PUBLIER :

Les Lymphatiques qui termineront le tome II. Les Organes génito-urinaires et les Organes des sens feront, afin d'éviter des volumes d'un maniement difficile, l'objet d'un tome V qui contiendra, en outre, un chapitre d'Indications anthropométriques et la Table alphabétique des matières de l'ouvrage.

L'ŒUVRE MÉDICO-CHIRURGICAL

Dr CRITZMAN, directeur

Suite de Monographies cliniques

SUR LES QUESTIONS NOUVELLES

en Médecine, en Chirurgie et en Biologie

La science médicale réalise journellement des progrès incessants; les questions et découvertes vieillissent pour ainsi dire au moment même de leur éclosion.

C'est pour obvier à ce grave inconvénient, auquel les journaux, malgré la diversité de leurs matières, ne sauraient remédier, que nous avons fondé un recueil de Monographies dont le titre, *L'Œuvre médico-chirurgical*, nous paraît bien indiquer le but et la portée.

Chaque monographie est vendue séparément. 1 fr. 25

Il est accepté des abonnements pour une série de 10 Monographies au prix à forfait et payable d'avance de 10 francs pour la France et 12 francs pour l'étranger (port compris).

MONOGRAPHIES PUBLIÉES

- N° 1. **L'Appendicite**, par le Dr FÉLIX LEGUEU, chirurgien des hôpitaux (*épuisé*).
- N° 2. **Le Traitement du mal de Pott**, par le Dr A. CHIFFAULT, de Paris.
- N° 3. **Le Lavage du Sang**, par le Dr LEJARS, professeur agrégé, chirurgien des hôpitaux, membre de la Société de chirurgie.
- N° 4. **L'Hérédité normale et pathologique**, par le Dr CH. DEBIERRE, professeur d'anatomie à l'Université de Lille.
- N° 5. **L'Alcoolisme**, par le Dr JAQUET, privat-docent à l'Université de Bâle.
- N° 6. **Physiologie et pathologie des sécrétions gastriques**, par le Dr A. VERHAEGEN, assistant à la Clinique médicale de Louvain.
- N° 7. **L'Eczéma**, par le Dr LEREDDE, chef de laboratoire, assistant de consultation à l'hôpital Saint-Louis.
- N° 8. **La Fièvre jaune**, par le Dr SANARELLI, directeur de l'Institut d'hygiène expérimentale de Montévidéo.
- N° 9. **La Tuberculose du rein**, par le Dr TUFFIER, professeur agrégé, chirurgien de l'hôpital de la Pitié.
- N° 10. **L'Opothérapie. Traitement de certaines maladies par des extraits d'organes animaux**, par A. GILBERT, professeur agrégé, chef du laboratoire de thérapeutique à la Faculté de médecine de Paris, et P. CARNOT, docteur ès sciences, ancien interne des hôpitaux de Paris.
- N° 11. **Les Paralysies générales progressives**, par le Dr KLIPPEL, médecin des hôpitaux de Paris.
- N° 12. **Le Myxœdème**, par le Dr THIBIERGE, médecin de l'hôpital de la Pitié.
- N° 13. **La Néphrite des Saturnins**, par le Dr H. LAVRAND, professeur à la Faculté catholique de Lille.
- N° 14. **Le Traitement de la Syphilis**, par le Dr E. GAUCHER, professeur agrégé, médecin de l'hôpital Saint-Antoine.
- N° 15. **Le Pronostic des tumeurs basé sur la recherche du glycoène**, par le Dr A. BRAULT, médecin de l'hôpital Tenon.
- N° 16. **La Kinésithérapie gynécologique (Traitement des maladies des femmes par le massage et la gymnastique)**, par le Dr H. STAFFER, ancien chef de clinique de la Faculté de Paris.
- N° 17. **De la gastro-entérite aiguë des nourrissons (Pathogénie et étologie)**, par A. LESAGE, médecin des hôpitaux de Paris.
- N° 18. **Traitement de l'Appendicite**, par FÉLIX LEGUEU, professeur agrégé, chirurgien des hôpitaux.
- N° 19. **Les lois de l'énergétique dans le régime du diabète sucré**, par le Dr E. DUFOUT, médecin de l'hôpital thermal de Vichy.
- N° 20. **La Peste (Epidémiologie. Bactériologie. Prophylaxie. Traitement)**, par le Dr H. BOURGES, préparateur du laboratoire d'Hygiène à la Faculté de médecine de Paris.
- N° 21. **La Moelle osseuse à l'état normal et dans les infections**, par MM. H. ROGER, professeur agrégé de la Faculté de médecine de Paris, médec. des hôpit., et O. JOSUÉ, anc. inter. laur. des hôpit. de Paris.
- N° 22. **L'Entéro-colite muco-membraneuse**, par le Dr GASTON LYON, ancien chef de clinique médicale de la Faculté de Paris.

Leçons sur les Maladies nerveuses. Deuxième série :

Hôpital Saint-Antoine, par E. **BRISSAUD**, professeur à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Saint-Antoine, recueillies et publiées par **Henry MEIGE**. 1 volume grand in-8° avec 165 figures dans le texte **15 fr.**

Précis d'anatomie pathologique, par L. **BARD**, professeur à la Faculté de médecine de l'Université de Lyon, médecin de l'Hôtel-Dieu. *Deuxième édition, revue et augmentée*, avec 125 figures dans le texte. 1 volume in-16 diamant, de XII-804 pages, cartonné toile, tranches rouges **7 fr. 50**

Traité d'Ophthalmoscopie, par Étienne **ROLLET**, professeur agrégé à la Faculté de médecine, chirurgien des hôpitaux de Lyon. 1 volume in-8° avec 50 photographies en couleurs et 75 figures dans le texte, cartonné toile, tranches rouges. **9 fr.**

Lunettes et pince-nez, Etude médicale et pratique, par **George J. BULL**, docteur en médecine des Facultés de M. Gill (Montréal) et de Paris, avec une introduction par **E. JAVAL**, membre de l'Académie de médecine, directeur du Laboratoire d'ophtalmologie à la Sorbonne. *Deuxième édition, revue et augmentée*. 1 vol. in-8° avec 66 figures dans le texte. . . **2 fr.**

Les Enfants assistés de France, par **Henri MONOD**, conseiller d'État, directeur de l'Assistance et de l'Hygiène publiques, membre de l'Académie de médecine. 1 volume in-8° **3 fr.**

Consultations médicales sur quelques maladies fréquentes. Quatrième édition, revue et considérablement augmentée, suivie de quelques principes de Déontologie médicale et précédée de quelques règles pour l'examen des malades, par le Dr **J. GRASSET**, professeur de clinique médicale à l'Université de Montpellier, correspondant de l'Académie de médecine. 1 volume in-16, reliure souple, peau pleine. **4 fr. 50**

Traité de Microbiologie, par E. **DUCLAUX**, membre de l'Institut de France, directeur de l'Institut Pasteur, professeur à la Sorbonne et à l'Institut national agronomique.

Tome I : **Microbiologie générale**. 1 volume grand in-8°, avec figures. **15 fr.**

Tome II : **Diastases, toxines et venins**. 1 vol. gr. in-8°, avec figures. **15 fr.**

Tome III : **Fermentation alcoolique**. 1 volume grand in-8°, avec figures dans le texte. **15 fr.**

Traité de la Cystostomie sus-pubienne chez les prostatiques. Création d'un urèthre hypogastrique : application de cette méthode aux diverses affections des voies urinaires, par Antonin PONCET, professeur de clinique chirurgicale à l'Université de Lyon, ex-chirurgien en chef de l'Hôtel-Dieu, membre correspondant de l'Académie de médecine, et Xavier DELORE, chef de clinique chirurgicale à l'Université de Lyon. *Ouvrage couronné par l'Académie de médecine (prix d'Argenteuil).* 1 volume in-8°, avec 42 figures dans le texte. 8 fr.

Traité clinique de l'Actinomycose humaine, des pseudo-Actinomycoses et de la Botryomycose, par le professeur A. PONCET et L. BÉRARD, chef de clinique à la Faculté de médecine de Lyon, ancien interne des hôpitaux. *Ouvrage couronné par l'Académie de médecine et par l'Institut.* 1 volume in-8°, avec 45 figures dans le texte et 4 planches hors texte en couleurs. 12 fr.

Traité des maladies chirurgicales d'origine congénitale, par le Dr E. KIRMISSON, professeur agrégé à la Faculté de médecine, chirurgien de l'hôpital Trousseau, membre de la Société de Chirurgie. 1 volume grand in-8° avec 311 figures dans le texte et 2 planches en couleurs. 15 fr.

Manuel de Pathologie externe, par MM. RECLUS, KIRMISSON, PEYROT, BOUILLY, professeurs agrégés à la Faculté de médecine de Paris, chirurgiens des hôpitaux. *Édition complète illustrée de 720 figures.* 4 volumes in-8°. 40 fr.
Chaque volume est vendu séparément. 10 fr.

Cliniques chirurgicales de l'Hôtel-Dieu, par Simon DUPLAY, professeur de clinique chirurgicale à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine, chirurgien de l'Hôtel-Dieu, recueillies et publiées par les Drs Maurice CAZIN, chef de clinique chirurgicale à l'Hôtel-Dieu, et S. CLADO, chef des travaux gynécologiques. *Troisième série.* 1 volume grand in-8° avec figures 8 fr.

Éléments de Chimie physiologique, par Maurice ARTHUS, professeur de physiologie et de chimie physiologique à l'Université de Fribourg (Suisse). *Troisième édition revue et augmentée.* 1 volume in-16, avec figures dans le texte, cartonné toile, tranches rouges 4 fr.

Bibliothèque

d'Hygiène thérapeutique

DIRIGÉE PAR

Le Professeur PROUST

Membre de l'Académie de médecine, Médecin de l'Hôtel-Dieu,
Inspecteur général des Services sanitaires.

Chaque ouvrage forme un volume in-16, cartonné toile, tranches rouges,
et est vendu séparément : 4 fr.

Chacun des volumes de cette collection n'est consacré qu'à une seule maladie ou à un seul groupe de maladies. Grâce à leur format, ils sont d'un maniement commode. D'un autre côté, en accordant un volume spécial à chacun des grands sujets d'hygiène thérapeutique, il a été facile de donner à leur développement toute l'étendue nécessaire.

L'hygiène thérapeutique s'appuie directement sur la pathogénie ; elle doit en être la conclusion logique et naturelle. La genèse des maladies sera donc étudiée tout d'abord. On se préoccupera moins d'être absolument complet que d'être clair. On ne cherchera pas à tracer un historique savant, à faire preuve de brillante érudition, à encombrer le texte de citations bibliographiques. On s'efforcera de n'exposer que les données importantes de pathogénie et d'hygiène thérapeutique et à les mettre en lumière.

VOLUMES PARUS

- L'Hygiène du Goutteux**, par le professeur PROUST et A. MATHIEU, médecin de l'hôpital Andral.
- L'Hygiène de l'Obèse**, par le professeur PROUST et A. MATHIEU, médecin de l'hôpital Andral.
- L'Hygiène des Asthmatiques**, par E. BRISSAUD, professeur agrégé, médecin de l'hôpital Saint-Antoine.
- L'Hygiène du Syphilitique**, par H. BOURGES, préparateur au laboratoire d'hygiène de la Faculté de médecine.
- Hygiène et thérapeutique thermales**, par G. DELFAU, ancien interne des hôpitaux de Paris.
- Les Cures thermales**, par G. DELFAU, ancien interne des hôpitaux de Paris.
- L'Hygiène du Neurasthénique**, par le professeur PROUST et G. BALLEZ, professeur agrégé, médecin des hôpitaux de Paris.
- L'Hygiène des Albuminuriques**, par le D^r SPRINGER, ancien interne des hôpitaux de Paris, chef de laboratoire de la Faculté de médecine à la Clinique médicale de l'hôpital de la Charité.
- L'Hygiène du Tuberculeux**, par le D^r CHUQUET, ancien interne des hôpitaux de Paris, avec une introduction du D^r DAREMBERG, membre correspondant de l'Académie de médecine.
- Hygiène et thérapeutique des maladies de la Bouche**, par le D^r CRUET, dentiste des hôpitaux de Paris, avec une préface de M. le professeur LANNE-LONGUE, membre de l'Institut.
- Hygiène des maladies du Cœur**, par le D^r VAQUEZ, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin des hôpitaux, avec une préface du professeur POTAIN.
- Hygiène du Diabétique**, par A. PROUST et A. MATHIEU.
- L'Hygiène du Dyspeptique**, par le D^r LINOSSIER, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Lyon, membre correspondant de l'Académie de médecine, médecin à Vichy.

VOLUMES EN PRÉPARATION

- Hygiène thérapeutique des maladies de la Peau**, par le D^r THIBIERGE.

PETITE BIBLIOTHÈQUE DE " LA NATURE "

Recettes et Procédés utiles, recueillis par Gaston TISSANDIER, rédacteur en chef de *la Nature*. *Neuvième édition*.

Recettes et Procédés utiles. Deuxième série : La Science pratique, par Gaston TISSANDIER. *Cinquième édition*, avec figures dans le texte.

Nouvelles Recettes utiles et Appareils pratiques. Troisième série, par Gaston TISSANDIER. *Troisième édition*, avec 91 figures dans le texte.

Recettes et Procédés utiles. Quatrième série, par Gaston TISSANDIER. *Deuxième édition*, avec 38 figures dans le texte.

Recettes et Procédés utiles. Cinquième série, par J. LAFFARGUE, secrétaire de la rédaction de *la Nature*. Avec figures dans le texte.

Chacun de ces volumes in-18 est vendu séparément

Broché . . . 2 fr. 25 | Cartonné toile 3 fr.

La Physique sans appareils et la Chimie sans laboratoire, par Gaston TISSANDIER, rédacteur en chef de *la Nature*. *Septième édition des Récréations scientifiques. Ouvrage couronné par l'Académie (Prix Montyon)*. Un volume in-8° avec nombreuses figures dans le texte. Broché, 3 fr. Cartonné toile, 4 fr.

Dictionnaire usuel des Sciences médicales

PAR MM.

DECHAMBRE, MATHIAS DUVAL, LEREBoullet

Membres de l'Académie de médecine.

TROISIÈME ÉDITION, REVUE ET COMPLÉTÉE

1 vol. gr. in-8° de 1.800 pages, avec 450 fig., relié toile. 25 fr.

Ce dictionnaire usuel s'adresse à la fois aux médecins et aux gens du monde. Les premiers y trouveront aisément, à propos de chaque maladie, l'exposé de tout ce qu'il est essentiel de connaître pour assurer, dans les cas difficiles, un diagnostic précis. Les gens du monde se familiariseront avec les noms souvent barbares que l'on donne aux symptômes morbides et aux remèdes employés pour les combattre. En attendant le médecin, ils pourront parer aux premiers accidents, et, en cas d'urgence, assurer les premiers secours.

Traité d'Analyse chimique QUANTITATIVE PAR ÉLECTROLYSE

Par **J RIBAN**

Professeur chargé du cours d'analyse chimique
et maître de conférences à la Faculté des sciences de l'Université de Paris.

1 vol. grand in-8°, avec 96 figures dans le texte. 9 fr.

L'analyse quantitative par électrolyse acquiert chaque jour une plus grande importance.

Le livre que l'auteur présente aujourd'hui sur ce sujet a pour but non seulement d'initier le lecteur à l'analyse chimique par électrolyse, mais encore de lui servir de guide dans ses applications journalières.

Tenu au courant des derniers progrès accomplis, il résume l'état actuel de la science sur la question qui en fait l'objet.

Manuel pratique de l'Analyse des Alcools ET DES SPIRITUEUX

PAR

Charles GIRARD

Directeur du Laboratoire municipal
de la Ville de Paris.

Lucien CUNIASSE

Chimiste-expert
de la Ville de Paris.

1 volume in-8° avec figures et tableaux dans le texte. Relié toile. 7 fr.

STATION DE CHIMIE VÉGÉTALE DE MEUDON
(1883 - 1899)

Chimie végétale et agricole

PAR

M. BERTHELOT

Sénateur, Secrétaire perpétuel de l'Académie des Sciences,
Professeur au Collège de France.

4 volumes in-8° avec figures dans le texte

36 fr.

LA
Distribution d'Énergie Électrique
 EN ALLEMAGNE

PAR

Charles BOS

Député de la Seine
 Ancien Conseiller municipal de Paris
 Ancien Rapporteur des questions
 d'énergie électrique à l'Hôtel de Ville.

J. LAFFARGUE

Ingénieur-Électricien
 Licencié ès sciences Physiques
 Attaché au Service Municipal
 d'Électricité de la Ville de Paris.

*Un beau volume très grand in-8°. illustré de 203 planches et figures
 avec de nombreux tableaux.*

Relié toile.

22 fr.

La Photographie Française

RÉVUE MENSUELLE ILLUSTRÉE

*des Applications de la Photographie à la Science, à l'Art
 et à l'Industrie.*

Louis GASTINE, DIRECTEUR

ABONNEMENTS :

UN AN. — PARIS, 6 fr. 50. — PROVINCE, 7 fr. — ÉTRANGER, 8 fr.

Prix spéciaux pour les abonnés de LA NATURE

Paris : 5 fr. — Départ. : 5 fr. 50. — Étranger : 7 fr.

Envoi de numéros spécimens à toute personne qui en fait la demande.

Traité de Géologie

Par **A. DE LAPPARENT**

Membre de l'Institut, professeur à l'École libre des Hautes-Études.

QUATRIÈME ÉDITION

entièrement refondue et considérablement augmentée.

3 vol. grand in-8°, d'environ 1.850 pages, avec nombreuses figures, cartes et croquis. **35 fr.**

La quatrième édition du *Traité de Géologie* ne se distingue pas seulement par le soin que l'auteur a mis à tenir son œuvre au courant de toutes les acquisitions nouvelles de la science, soin dont témoigne suffisamment l'augmentation considérable des chapitres consacrés aux terrains sédimentaires.

Ce qui caractérise essentiellement cette nouvelle édition, c'est la refonte devant laquelle l'auteur n'a pas reculé pour substituer à la considération des *systèmes* géologiques celle des *étages*, divisions beaucoup plus étroites, dont il s'est efforcé de suivre les variations d'une façon méthodique. Pour cela, il a essayé de reconstruire, autant que possible pour chaque étage, les contours probables des anciennes mers. On trouvera ce dessein réalisé par environ 20 planisphères, 30 cartes d'Europe et 25 cartes de France. C'est la première fois qu'une pareille tentative est faite sur une aussi vaste échelle. Si l'hypothèse a nécessairement une grande part dans ces reconstitutions qui ne peuvent être considérées que comme de simples ébauches, on ne saurait méconnaître le grand intérêt qu'elles donnent à l'histoire des périodes, en dépouillant les descriptions géologiques de leur aridité traditionnelle. On reconnaîtra en même temps qu'elles sont de nature à simplifier beaucoup la tâche des étudiants.

Aussi avons-nous la confiance que l'ouvrage ainsi amélioré, augmenté de plus de 200 pages et enrichi d'une centaine de dessins nouveaux, méritera de plus en plus le crédit exceptionnel dont il a joui jusqu'à présent.

Les tertres funéraires d'Avezac-Prat (*Hautes-Pyrénées*),

par Ed. PIETTE et J. SAGAZE. 1^{er} album grand in-4°, contenant 4 feuilles de texte et 29 planches lithographiées en couleurs, par J. PILLOY **25 fr.**

L'Anthropologie et la science sociale, *Science et foi* :

par Paul TOPINARD, ancien secrétaire général de la Société d'anthropologie de Paris. 1 vol. in-8° écu de 578 pages **6 fr.**

Swedenborg : *Histoire d'un visionnaire au XVIII^e siècle*, par le

Dr Gilbert BALLET, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'hôpital Saint-Antoine, membre de la Société de neurologie et de la Société médico-psychologique. 1 vol. in-16, avec un portrait de Swedenborg **2 fr. 50**

Traité de Zoologie

Par **Edmond PERRIER**

Membre de l'Institut et de l'Académie de médecine,
Professeur au Muséum d'Histoire Naturelle.

ÉTAT DE LA PUBLICATION

FASCICULE I : Zoologie générale. 1 vol. gr. in-8° de 412 p. avec 458 figures dans le texte.	12 fr.
FASCICULE II : Protozoaires et Phytozoaires. 1 vol. gr. in-8° de 452 p., avec 243 figures.	10 fr.
FASCICULE III : Arthropodes. 1 vol. gr. in-8° de 480 pages, avec 278 figures.	8 fr.
Ces trois fascicules réunis forment la première partie. 1 vol. in-8° de 1344 pages, avec 980 figures.	30 fr.
FASCICULE IV : Vers et Mollusques. 1 vol. gr. in-8° de 792 pages, avec 566 figures dans le texte.	16 fr.
FASCICULE V : Amphioxus, Tuniciers. 1 vol. gr. in-8° de 221 pages, avec 97 figures dans le texte	6 fr.

Cours préparatoire au Certificat
d'Études Physiques, Chimiques et Naturelles (P. C. N.)

COURS ÉLÉMENTAIRE DE ZOOLOGIE

Par **Rémy PERRIER**

Maître de conférences à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris,
Chargé du Cours de Zoologie

Pour le certificat d'études physiques, chimiques et naturelles.

1 vol. in-8° avec 693 figures. Relié toile : 10 fr.

Traité de Manipulations de Physique

Par **B.-C. DAMIEN**

Professeur de Physique à la Faculté des sciences de Lille.

et **R. PAILLOT**

Agrégé, chef des travaux pratiques de Physique à la Faculté des sciences de Lille.

1 volume in-8° avec 246 figures dans le texte. 7 fr.

Éléments de Chimie Organique et de Chimie Biologique

Par **W. ŒCHSNER DE CONINCK**

Professeur à la Faculté des sciences de Montpellier, Membre de la Société de Biologie, Lauréat de l'Académie de médecine et de l'Académie des sciences.

1 volume in-16

2 fr.

VIENT DE PARAÎTRE

ÉLÉMENTS DE CHIMIE DES MÉTAUX

A L'USAGE DU COURS PRÉPARATOIRE AU CERTIFICAT D'ÉTUDES P.C.N.

Par le Professeur **W. ŒCHSNER DE CONINCK**

Membre de la Société de Biologie, lauréat de l'Académie de Médecine
et de l'Académie des Sciences.

1 volume in-16

2 fr.

LA GÉOGRAPHIE

BULLETIN

DE LA

Société de Géographie

PUBLIÉ TOUS LES MOIS PAR

LE BARON HULOT, Secrétaire général de la Société

ET

M. CHARLES RABOT, Secrétaire de la Rédaction

La Société de Géographie a, jusqu'à la fin de l'année 1899, consacré à la publication des comptes rendus de ses séances et des communications de ses membres deux recueils distincts : le *Bulletin trimestriel* et les *Comptes rendus*. La Société a désiré, à partir de 1900, en agrandir le cadre et faire de la 8^e série de ses publications, sous le nom de *La Géographie*, un organe plus complet, et qui devint à proprement parler un journal digne d'elle, digne aussi de l'importance que prend de jour en jour en France la science géographique.

Chaque numéro, du format grand in-8^o, composé de 80 pages et accompagné de cartes et de gravures, comprend des mémoires, une chronique, une bibliographie et le compte rendu des séances de la Société de Géographie.

Dans le nouveau recueil, les explorateurs exposent les résultats techniques de leurs voyages ; les savants, leurs études sur les phénomènes actuels, et leurs recherches dans le domaine des sciences naturelles connexes à la géographie. La nouvelle publication n'est pas un recueil de récits de voyages pittoresques, mais d'observations et de renseignements scientifiques. Elle s'efforce de suivre la grande tradition géographique de la France, illustrée par les d'Abbadie, les Duveyrier, les Grandidier, et continuée avec éclat par de jeunes explorateurs. L'étude de la terre, à tous les points de vue et considérée sous tous ses aspects, tel est le programme de la Société de Géographie, tel sera celui de son nouvel organe.

La chronique rédigée par des spécialistes pour chaque partie du monde fait connaître, dans le plus bref délai, toutes les nouvelles reçues des voyageurs en mission par la Société de Géographie, et présente un résumé des renseignements fournis par les publications étrangères : elle constitue, en un mot, un résumé du *mouvement géographique* pour chaque mois.

PRIX DE L'ABONNEMENT ANNUEL

PARIS : 24 fr. — DÉPARTEMENTS : 26 fr. — ÉTRANGER : 28 fr.

Prix du numéro : 2 fr. 50

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette. — 18083.

Envoi *franco* contre mandat-poste ou valeur sur Paris.

ENCYCLOPÉDIE DES TRAVAUX PUBLICS ET ENCYCLOPÉDIE INDUSTRIELLE.

TRAITÉ DES MACHINES A VAPEUR

RÉDIGÉ CONFORMÉMENT AU PROGRAMME DU COURS DE L'ÉCOLE CENTRALE.

PAR

ALHEILIG,

Ingénieur de la Marine.

Camille ROCHE,

Ancien Ingénieur de la Marine.

DEUX BEAUX VOLUMES GRAND IN-8, SE VENDANT SÉPARÉMENT (E. I.) :

TOME I : Thermodynamique. Puissance des machines, diagrammes et formules. Indicateurs. Organes. Régulation. Épures. Distribution et changement de marche. Alimentation etc. ; XI-604 pages, avec 412 figures ; 1895..... **20 fr.**

TOME II : Volants régulateurs. Classification des machines. Moteurs à gaz, à pétrole et à air chaud. Graissage, joints. Montage et essais. Passation des marchés. Prix de revient, d'exploitation et de construction ; IV-560 pages, avec 281 figures ; 1895. **18 fr.**

CHEMINS DE FER

MATÉRIEL ROULANT. RÉSISTANCE DES TRAINS. TRACTION.

PAR

E. DEHARME,

Ing^r principal à la Compagnie du Midi.

A. PULIN,

Ing^r Insp^r p^{al} aux chemins de fer du Nord.

Un volume grand in-8, XXII-441 pages, 95 figures, 1 planche ; 1895 (E. I.). **15 fr.**

VERRE ET VERRERIE

PAR

Léon APPERT et Jules HENRIVAUX, Ingénieurs.

Grand in-8, avec 130 figures et 1 atlas de 14 planches ; 1894 (E. I.).... **20 fr.**

INDUSTRIES DU SULFATE D'ALUMINIUM, DES ALUNS ET DES SULFATES DE FER,

Par Lucien GESCHWIND, Ingénieur-Chimiste.

Un volume grand in-8, de VIII-364 pages, avec 195 figures ; 1899 (E. I.). **10 fr.**

COURS DE CHEMINS DE FER

PROFESSÉ A L'ÉCOLE NATIONALE DES PONTS ET CHAUSSEES,

Par **C. BRICKA**,

Ingénieur en chef de la voie et des bâtiments aux Chemins de fer de l'État.

DEUX VOLUMES GRAND IN-8; 1894 (E. T. P.)

TOME I : Études. — Construction. — Voie et appareils de voie, — Volume de VIII-634 pages avec 326 figures; 1894..... 20 fr.

TOME II : Matériel roulant et Traction. — Exploitation technique. — Tarifs. — Dépenses de construction et d'exploitation. — Régime des concessions. — Chemins de fer de systèmes divers. — Volume de 709 pages, avec 177 figures; 1894..... 20 fr.

COUVERTURE DES ÉDIFICES

ARDOISES, TUILES, MÉTAUX, MATIÈRES DIVERSES,

Par **J. DENFER**,

Architecte, Professeur à l'École Centrale.

UN VOLUME GRAND IN-8, AVEC 429 FIG.; 1893 (E. T. P.).. 20 FR.

CHARPENTERIE MÉTALLIQUE

MENUISERIE EN FER ET SERRURERIE,

Par **J. DENFER**,

Architecte, Professeur à l'École Centrale.

DEUX VOLUMES GRAND IN-8; 1894 (E. T. P.).

TOME I : Généralités sur la fonte, le fer et l'acier. — Résistance de ces matériaux. — Assemblages des éléments métalliques. — Chainages, linteaux et poitrails. — Planchers en fer. — Supports verticaux. Colonnes en fonte. Poteaux et piliers en fer. — Grand in-8 de 584 pages avec 479 figures; 1894..... 20 fr.

TOME II : Pans métalliques. — Combles. — Passerelles et petits ponts. — Escaliers en fer. — Serrurerie. (Ferremets des charpentes et menuiseries. Paratonnerres. Clôtures métalliques. Menuiserie en fer. Serres et vérandas). — Grand in-8 de 626 pages avec 571 figures; 1894..... 20 fr.

ÉLÉMENTS ET ORGANES DES MACHINES

Par **Al. GOUILLY**,

Ingénieur des Arts et Manufactures.

GRAND IN-8 DE 406 PAGES, AVEC 710 FIG.; 1894 (E. I.).... 12 FR.

TEIL
Ch.-Er.
Directeur des te
tures
des Gobeil
Chim
IN VOLUME
TILLONS
CONSTRU
DEUX
TOME I : Pl
vires. — Char
avec 305 fig. e
TOME II :
tures pratique
copie. — Ven
Poids et résis
PONT
FORM
UN VOLUME
Calculs
trôle de ce
(économie
TRA
GRAN

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

BLANCHIMENT ET APPRÊTS TEINTURE ET IMPRESSION

PAR

Ch.-Er. GUIGNET,
Directeur des teintures aux Manufac-
tures nationales
des Gobelins et de Beauvais.

F. DOMMER,
Professeur à l'École de Physique
et de Chimie industrielles
de la Ville de Paris.

E. GRANDMOUGIN,

Chimiste, ancien Préparateur à l'École de Chimie de Mulhouse.

UN VOLUME GRAND IN-8 DE 674 PAGES, AVEC 368 FIGURES ET ÉCHAN-
TILLONS DE TISSUS IMPRIMÉS; 1895 (E. I.)..... 30 FR.

CONSTRUCTION PRATIQUE des NAVIRES de GUERRE

Par **A. CRONEAU,**

Ingénieur de la Marine,
Professeur à l'École d'application du Génie maritime.

DEUX VOLUMES GRAND IN-8 ET ATLAS; 1894 (E. I.).

TOME I : Plans et devis. — Matériaux. — Assemblages. — Différents types de na-
vires. — Charpente. — Revêtement de la coque et des ponts. — Gr. in-8 de 379 pages
avec 305 fig. et un Atlas de 11 pl. in-4° doubles, dont 2 en trois couleurs; 1894. 18 fr.

TOME II : Compartimentage. — Cuirassement. — Pavois et garde-corps. — Ouver-
tures pratiquées dans la coque, les ponts et les cloisons. — Pièces rapportées sur la
coque. — Ventilation. — Service d'eau. — Gouvernails. — Corrosion et salissure. —
Poids et résistance des coques. — Grand in-8 de 616 pages avec 359 fig.; 1894. 15 fr.

PONTS SOUS RAILS ET PONTS-ROUTES A TRAVÉES
MÉTALLIQUES INDÉPENDANTES.

FORMULES, BARÈMES ET TABLEAUX

Par **Ernest HENRY,**

Inspecteur général des Ponts et Chaussées.

UN VOLUME GRAND IN-8, AVEC 267 FIG.; 1894 (E. T. P.).. 20 FR.

Calculs rapides pour l'établissement des projets de ponts métalliques et pour le con-
trôle de ces projets, sans emploi des méthodes analytiques ni de la statique graphique
(économie de temps et certitude de ne pas commettre d'erreurs).

TRAITÉ DES INDUSTRIES CÉRAMIQUES

TERRES CUITES.

PRODUITS RÉFRACTAIRES. FAÏENCES. GRÈS. PORCELAINES.

Par **E. BOURRY,**

Ingénieur des Arts et Manufactures.

GRAND IN-8, DE 755 PAGES, AVEC 349 FIG.; 1897 (E. I.). 20 FR

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

RÉSUMÉ DU COURS

DE

MACHINES A VAPEUR ET LOCOMOTIVES

PROFESSÉ A L'ÉCOLE NATIONALE DES PONTS ET CHAUSSÉES.

Par J. HIRSCH,

Inspecteur général honoraire des Ponts et Chaussées,
Professeur au Conservatoire des Arts et Métiers.

DEUXIÈME ÉDITION.

Un vol. gr. in-8 de 510 p. avec 314 fig.; 1898 (E. T. P.).... 18 fr.

LE VIN ET L'EAU-DE-VIE DE VIN

Par Henri DE LAPPARENT,

Inspecteur général de l'Agriculture.

INFLUENCE DES CÉPAGES, DES CLIMATS, DES SOLS, ETC., SUR LA QUALITÉ DU VIN, VINIFICATION, CUVÉRIE ET CHAIS, LE VIN APRÈS LE DÉCUVAGE, ÉCONOMIE, LÉGISLATION.

GRAND IN-8 DE XII-533 PAGES, AVEC 111 FIGURES ET 28 CARTES DANS LE TEXTE; 1895 (E. I.).. 12 FR.

TRAITÉ DE CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUÉE

Par A. JOANNIS,

Professeur à la Faculté des Sciences de Bordeaux,
Chargé de cours à la Faculté des Sciences de Paris.

DEUX VOLUMES GRAND IN-8 (E. I.).

TOME I : Généralités. Carbures. Alcools. Phénols. Éthers. Aldéhydes. Cétones. Quinones. Sucres. — Volume de 688 pages, avec figures; 1896..... 20 fr.

TOME II : Hydrates de carbone. Acides monobasiques à fonction simple. Acides polybasiques à fonction simple. Acides à fonctions mixtes. Alcalis organiques. Amides. Nitriles. Carbylamines. Composés azoïques et diazoïques. Composés organo-métalliques. Matières albuminoïdes. Fermentations. Conservation des matières alimentaires. Volume de 718 pages, avec figures; 1896..... 15 fr.

MACHINES FRIGORIFIQUES

PRODUCTION ET APPLICATIONS DU FROID ARTIFICIEL,

Par H. LORENZ,

Ingénieur, Professeur à l'Université de Halle.

TRADUIT DE L'ALLEMAND AVEC L'AUTORISATION DE L'AUTEUR.

P. PETIT,

Professeur à la Faculté des Sciences
de Nancy,
Directeur de l'École de Brasserie.

PAR

J. JAQUET,

Ingénieur civil,

Un volume de IX-186 pages, avec 131 figures; 1898..... 7 fr.

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

MANUEL DE DROIT ADMINISTRATIF

SERVICE DES PONTS ET CHAUSSEES ET DES CHEMINS VICINAUX,

Par **G. LECHALAS**, Ingénieur en chef des Ponts et Chaussées.

DEUX VOLUMES GRAND IN-8, SE VENDANT SÉPARÉMENT (E. T. P.).

TOME I; 1889; 20 fr. — TOME II (1^{re} partie; 1893); 10 fr. 2^e partie; 1898; 10 fr.

COURS DE GÉOMÉTRIE DESCRIPTIVE

ET DE GÉOMÉTRIE INFINITÉSIMALE,

Par **Maurice D'OCAGNE**,

Ingr et Prof^r à l'École des Ponts et Chaussées, Répétiteur à l'École Polytechnique.

GR. IN-8, DE XI-428 P., AVEC 340 FIG.; 1896 (E. T. P.)... 12 FR.

LES ASSOCIATIONS OUVRIÈRES

ET LES ASSOCIATIONS PATRONALES,

Par **P. HUBERT-VALLEROUX**,

Avocat à la Cour de Paris, Docteur en Droit.

GRAND IN-8 DE 361 PAGES; 1899 (E. I.)... 10 FR.

TRAITÉ DES FOURS A GAZ

A CHALEUR RÉGÉNÉRÉE.

DÉTERMINATION DE LEURS DIMENSIONS.

Par **Friedrich TOLD**,

Ingénieur, Professeur à l'Académie impériale des Mines de Leoben.

TRADUIT DE L'ALLEMAND SUR LA 2^e ÉDITION REVUE ET DÉVELOPPÉE PAR L'AUTEUR,

Par **F. DOMMER**,

Ingénieur des Arts et Manufactures.

Professeur à l'École de Physique et de Chimie industrielles de la Ville de Paris.

Un volume grand in-8 de 392 pages, avec 68 figures; 1900 (E. I.) 11 fr.

PREMIERS PRINCIPES D'ÉLECTRICITÉ INDUSTRIELLE

PILES, ACCUMULATEURS, DYNAMOS, TRANSFORMATEURS,

Par **Paul JANET**,

Chargé de cours à la Faculté des Sciences de Paris,

Directeur de l'École supérieure d'Électricité.

Troisième édition entièrement refondue. — In-8, avec 169 figures; 1899. 6 fr.

UNE EXCURSION ÉLECTROTECHNIQUE EN SUISSE,

PAR LES ÉLÈVES DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE D'ÉLECTRICITÉ,

AVEC UNE PRÉFACE DE P. JANET,
Directeur de l'École supérieure d'Électricité.

Un volume grand in-8, avec 48 figures; 1899..... 2 fr. 75 c.

DEUXIÈME EXCURSION ÉLECTROTECHNIQUE EN SUISSE, PAR LES ÉLÈVES DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE D'ÉLECTRICITÉ.

Un volume grand in-8, avec 19 figures; 1899..... 1 fr. 50 c.

COURS DE PHYSIQUE

DE L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE,

Par M. J. JAMIN.

QUATRIÈME ÉDITION, AUGMENTÉE ET ENTIÈREMENT REFONDUE

Par M. E. BOUTY,

Professeur à la Faculté des Sciences de Paris.

Quatre tomes in-8, de plus de 4000 pages, avec 1587 figures et 14 planches sur acier, dont 2 en couleur; 1885-1891. (OUVRAGE COMPLET)..... 72 fr.

On vend séparément :

TOME I. — 9 fr.

- (*) 1^{er} fascicule. — *Instruments de mesure. Hydrostatique*; avec 150 figures et 1 planche..... 5 fr.
2^e fascicule. — *Physique moléculaire*; avec 93 figures... 4 fr.

TOME II. — CHALEUR. — 15 fr.

- (*) 1^{er} fascicule. — *Thermométrie, Dilatations*; avec 98 fig. 5 fr.
(*) 2^e fascicule. — *Calorimétrie*; avec 48 fig. et 2 planches... 5 fr.
3^e fascicule. — *Thermodynamique. Propagation de la chaleur*; avec 47 figures..... 5 fr.

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

TOME III. — ACOUSTIQUE; OPTIQUE. — 22 fr.

- 1^{er} fascicule. — *Acoustique*; avec 123 figures 4 fr.
- (*) 2^e fascicule. — *Optique géométrique*; avec 139 figures et 3 planches: 4 fr.
- 3^e fascicule. — *Etude des radiations lumineuses, chimiques et calorifiques; Optique physique*; avec 249 fig. et 5 planches, dont 2 planches de spectres en couleur 14 fr.

TOME IV (1^{re} Partie). — ÉLECTRICITÉ STATIQUE ET DYNAMIQUE. — 13 fr.

- 1^{er} fascicule. — *Gravitation universelle. Électricité statique*; avec 155 figures et 1 planche 7 fr.
- 2^e fascicule. — *La pile. Phénomènes électrothermiques et électrochimiques*; avec 161 figures et 1 planche 6 fr.

TOME IV (2^e Partie). — MAGNÉTISME; APPLICATIONS. — 13 fr.

- 3^e fascicule. — *Les aimants. Magnétisme. Électromagnétisme. Induction*; avec 240 figures 8 fr.
- 4^e fascicule. — *Météorologie électrique; applications de l'électricité. Théories générales*; avec 84 figures et 1 planche 5 fr.

TABLES GÉNÉRALES.

Tables générales, par ordre de matières et par noms d'auteurs des quatre volumes du Cours de Physique. In-8; 1891... 60 c.

Des suppléments destinés à exposer les progrès accomplis viennent compléter ce grand *Traité* et le maintenir au courant des derniers travaux.

- 1^{er} SUPPLÉMENT. — *Chaleur. Acoustique. Optique*, par E. BOUTY, Professeur à la Faculté des Sciences. In-8, avec 41 fig.; 1896. 3 fr. 50 c.
- 2^e SUPPLÉMENT. — *Électricité. Ondes hertziennes. Rayons X*; par E. BOUTY. In-8, avec 48 figures et 2 planches; 1899. 3 fr. 50 c.

(*) Les matières du programme d'admission à l'École Polytechnique sont comprises dans les parties suivantes de l'Ouvrage : Tome I, 1^{er} fascicule; Tome II, 1^{er} et 2^e fascicules; Tome III, 2^e fascicule.

COURS DE PHYSIQUE

A L'USAGE DES CANDIDATS AUX ÉCOLES SPÉCIALES
(conforme aux derniers programmes),

PAR

James CHAPPUIS,
Agrégré Docteur ès Sciences,
Professeur de Physique générale
à l'École Centrale
des Arts et Manufactures.

Alphonse BERGET,
Docteur ès Sciences,
Attaché au Laboratoire des recherches
physiques à la Sorbonne.

UN BEAU VOLUME, GRAND IN-8 (25^{cm} × 16^{cm}) DE IV-697 PAGES,
AVEC 465 FIGURES.

Broché 14 fr. | Relié cuir souple 17 fr.

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

LEÇONS ÉLÉMENTAIRES

D'ACOUSTIQUE ET D'OPTIQUE

**A L'USAGE DES CANDIDATS AU CERTIFICAT D'ÉTUDES PHYSIQUES,
CHIMIQUES ET NATURELLES (P. C. N.).**

Par Ch. FABRY,

Professeur adjoint à la Faculté des Sciences de Marseille.

Un volume in-8, avec 205 figures; 1898..... 7 fr. 50 c.

TRAITÉ ÉLÉMENTAIRE

DE

MÉTÉOROLOGIE

Par Alfred ANGOT,

Météorologiste titulaire au Bureau Central météorologique,
Professeur à l'Institut national agronomique et à l'École supérieure
de Marine.

UN VOLUME GRAND IN-8, AVEC 103 FIG. ET 4 PL.; 1899. 12 FR.

MANUEL DE L'EXPLORATEUR

**PROCÉDÉS DE LEVERS RAPIDES ET DE DÉTAILS
DÉTERMINATION ASTRONOMIQUE DES POSITIONS GÉOGRAPHIQUES,**

PAR

E. BLIM,

Ingénieur-chef du service des Ponts
et Chaussées de Cochinchine.

M. ROLLET DE L'ISLE,

Ingénieur hydrographe
de la Marine.

**UN VOLUME IN-18 JÉSUS, AVEC 90 FIGURES MODÈLES D'OBSERVATIONS
OU DE CARNETS DE LEVERS; CARTONNAGE SOUPLE; 1899.. 5 FR.**

TRAITÉ DE NOMOGRAPHIE.

THÉORIE DES ABAQUES. APPLICATIONS PRATIQUES.

Par Maurice d'OCAGNE,

Ingénieur des Ponts et Chaussées,
Professeur à l'École des Ponts et Chaussées,
Répétiteur à l'École Polytechnique.

**UN VOLUME GRAND IN-8, AVEC 177 FIGURES ET 1 PLANCHE; 1899.
Broché..... 14 fr. | Relié (cuir souple)..... 17 fr.**

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

TRAITÉ
DE LA
FABRICATION DES LIQUEURS

ET DE LA
DISTILLATION DES ALCOOLS,

Par **P. DUPLAIS** Ainé,

SEPTIÈME ÉDITION, ENTIÈREMENT REFOUNDUE

PAR

Marcel ARPIN,
Chimiste industriel.

Ernest PORTIER,
Répétiteur de Technologie agricole
à l'Institut agronomique.

DEUX VOLUMES IN-8, SE VENDANT SÉPARÉMENT; 1900.

TOME I : *Les Alcools*. Volume de VIII-613 pages avec 68 figures 8 fr.
TOME II : *Les Liqueurs*. Volume de 606 pages avec 69 figures..... 10 fr.

LA TÉLÉGRAPHIE SANS FILS,

Par **André BROCA,**

Professeur agrégé de Physique à la Faculté de Médecine.

Un volume in-18 jésus, avec 35 figures; 1899..... 3 fr. 50 c.

LA BICYCLETTE

SA CONSTRUCTION ET SA FORME,

Par **C. BOURLET,**

Docteur ès Sciences,
Membre du Comité technique du Touring-Club de France.

Un volume grand in-8, avec 263 figures; 1899..... 4 fr. 50 c.

HISTOIRE ABRÉGÉE
DE L'ASTRONOMIE

Par **Ernest LEBON,**

Professeur au Lycée Charlemagne.

Un volume petit in-8, caractères elzéviens, avec 16 portraits
et une Carte céleste; titre en 2 couleurs; 1899. 8 fr.

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

LEÇONS SUR L'ÉLECTRICITÉ

PROFESSÉES A L'INSTITUT ÉLECTROTECHNIQUE MONTEFIORE
annexé à l'Université de Liège;

Par **Eric GÉRARD**,

Directeur de cet Institut.

6^e ÉDITION, DEUX VOLUMES GRAND IN-8, SE VENDANT SÉPARÉMENT.

TOME I : *Théorie de l'Électricité et du Magnétisme. Electrométrie. Théorie et construction des générateurs et des transformateurs électriques; avec 388 figures; 1899.*..... 12 fr.

TOME II : *Canalisation et distribution de l'énergie électrique. Applications de l'Électricité à la téléphonie, à la télégraphie, à la production et à la transmission de la puissance motrice, à la traction, à l'éclairage, à la métallurgie et à la chimie industrielle; avec 387 figures; 1900.*..... 12 fr.

LEÇONS DE CHIMIE,

(à l'usage des Élèves de Mathématiques spéciales)

Par **Henri GAUTIER** et **Georges CHÂRPY**,

Docteurs ès Sciences,

Anciens Élèves de l'École Polytechnique.

TROISIÈME ÉDITION, ENTIÈREMENT REFOUDUE

UN VOLUME GRAND IN-8 DE VI-500 PAGES, AVEC 95 FIGURES; 1900.

Broché..... 9 fr. | Relié (cuir souple).... 12 fr.

LA LIQUÉFACTION DES GAZ.

MÉTHODES NOUVELLES. — APPLICATIONS,

Par **J. GAURO**,

Ancien Élève de l'École Polytechnique,

Agrégé des Sciences physiques, Docteur ès Sciences.

Un volume grand in-8, avec 40 figures; 1899..... 2 fr. 75 c.

PREMIERS PRINCIPES

DE

GÉOMÉTRIE MODERNE

A l'usage des Élèves de Mathématiques spéciales
et des Candidats à la Licence et à l'Agrégation,

Par **Ernest DUPORCQ**,

Ancien Élève de l'École Polytechnique,

Ingénieur des Télégraphes.

Un volume in-8, avec figures; 1899..... 3 fr.

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

LEÇONS D'OPTIQUE GÉOMÉTRIQUE

à l'usage des Élèves de Mathématiques spéciales,

Par **E. WALLON**,

Ancien Élève de l'École Normale supérieure,
Professeur au Lycée Janson de Sailly.

Un volume grand in-8, avec 169 figures; 1900 9 fr.

LEÇONS

SUR LA THÉORIE DES FONCTIONS

EXPOSÉ DES ÉLÉMENTS DE LA THÉORIE DES ENSEMBLES
AVEC DES APPLICATIONS A LA THÉORIE DES FONCTIONS,

Par **Émile BOREL**,

Maître de Conférences à l'École Normale supérieure.

Un volume grand in-8; 1898 3 fr. 50 c.

LEÇONS

SUR LES FONCTIONS ENTIÈRES,

Par **Émile BOREL**,

Maître de Conférences à l'École Normale supérieure.

Un volume grand in-8; 1900 3 fr. 50 c.

ÉLÉMENTS

DE LA

THÉORIE DES NOMBRES

*Congruences. Formes quadratiques. Nombres incommensurables.
Questions diverses.*

Par **E. CAHEN**,

Ancien Élève de l'École Normale supérieure,
Professeur de mathématiques spéciales au Collège Rollin.

UN VOLUME GRAND IN-8 DE VIII-403 PAGES; 1900.. 12 FR.

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

ŒUVRES SCIENTIFIQUES

DE

GUSTAVE ROBIN,

Chargé de Cours à la Faculté des Sciences de Paris.

*Réunies et publiées sous les auspices du Ministère
de l'Instruction publique,*

Par Louis RAFFY,

Chargé de Cours à la Faculté des Sciences de Paris.

Physique mathématique (Distribution de l'Électricité, Hydrodynamique,
Fragments divers). Un fascicule grand in-8; 1899..... 5 fr.

TRAITÉ

D'ALGÈBRE SUPÉRIEURE

Par Henri WEBER,

Professeur de Mathématiques à l'Université de Strasbourg.

Traduit de l'allemand sur la deuxième édition

Par J. GRIESS,

Ancien Élève de l'École Normale Supérieure,
Professeur de Mathématiques au Lycée Charlemagne.

**PRINCIPES. — RACINES DES ÉQUATIONS.
GRANDEURS ALGÈBRIQUES. — THÉORIE DE GALOIS.**

Un beau volume grand in-8 de xii-764 pages; 1898..... 22 fr.

LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

LES MÉTHODES NOUVELLES

DE LA

MÉCANIQUE CÉLESTE,

Par H. POINCARÉ,

Membre de l'Institut, Professeur à la Faculté des Sciences,

TROIS BEAUX VOLUMES GRAND IN-8, SE VENDANT SÉPARÉMENT :

- TOME I : Solutions périodiques. Non-existence des intégrales uniformes. Solutions asymptotiques ; 1892..... 12 fr.
 TOME II : Méthodes de MM. Newcomb, Gylden, Lindstedt et Bohlin ; 1894. 14 fr.
 TOME III : Invariants intégraux. Stabilité. Solutions périodiques du deuxième genre. Solutions doublement asymptotiques ; 1898..... 13 fr.

LEÇONS NOUVELLES

D'ANALYSE INFINITÉSIMALE

ET SES APPLICATIONS GÉOMÉTRIQUES.

Par Ch. MÉRAY,

Professeur à la Faculté des Sciences de Dijon.

Ouvrage honoré d'une souscription du Ministère de l'Instruction publique.

4 VOLUMES GRAND IN-8, SE VENDANT SÉPARÉMENT :

- I^{re} PARTIE : Principes généraux ; 1894..... 13 fr.
 II^e PARTIE : Étude monographique des principales fonctions d'une variable ; 1895..... 14 fr.
 III^e PARTIE : Questions analytiques classiques ; 1897..... 6 fr.
 IV^e PARTIE : Applications géométriques classiques ; 1898..... 7 fr.

TRAITÉ D'ASTRONOMIE STELLAIRE

Par CH. ANDRÉ,

Directeur de l'Observatoire de Lyon, Professeur d'Astronomie à l'Université de Lyon.

TROIS VOLUMES GRAND IN-8, SE VENDANT SÉPARÉMENT :

- I^{re} PARTIE : Étoiles simples, avec 29 figures et 2 planches ; 1899..... 9 fr.
 II^e PARTIE : Étoiles doubles et multiples..... (Sous presse.)
 III^e PARTIE : Photométrie, Photographie. Spectroscopie..... (En préparation.)

BI BLIOTHÈQUE PHOTOGRAPHIQUE

La Bibliothèque photographique se compose de plus de 200 volumes et embrasse l'ensemble de la Photographie considérée au point de vue de la Science, de l'Art et des applications pratiques.

A côté d'Ouvrages d'une certaine étendue, comme le *Traité* de M. Davanne, le *Traité encyclopédique* de M. Fabre, le *Dictionnaire de Chimie photographique* de M. Fourtier, la *Photographie médicale* de M. Londe, etc., elle comprend une série de monographies nécessaires à celui qui veut étudier à fond un procédé et apprendre les tours de main indispensables pour le mettre en pratique. Elle s'adresse donc aussi bien à l'amateur qu'au professionnel, au savant qu'au praticien.

PETITS CLICHÉS ET GRANDES ÉPREUVES.

GUIDE PHOTOGRAPHIQUE DU TOURISTE CYCLISTE.

Par Jean BERNARD et L. TOUCHEBEUF.

In-18 jésus; 1898..... 2 fr. 75 c.

REPRODUCTION DES GRAVURES, DESSINS, PLANS, MANUSCRITS,

Par A. COURRÈGES, Praticien.

In-18 jésus, avec figures; 1900 2 fr.

LA PHOTOGRAPHIE. TRAITÉ THÉORIQUE ET PRATIQUE,

Par A. DAVANNE.

2 beaux volumes grand in-8, avec 234 fig. et 4 planches spécimens ... 32 fr.
Chaque volume se vend séparément..... 16 fr.

PRINCIPES ET PRATIQUE D'ART EN PHOTOGRAPHIE,

LE PAYSAGE,

Par Frédéric DILLAYE.

Un volume in-8 avec 32 figures et 34 photogravures de paysages; 1899. 5 fr.

FORMULES, RECETTES ET TABLES POUR LA PHOTOGRAPHIE ET LES PROCÉDÉS DE REPRODUCTION,

Par le Dr J.-M. EDER.

Edition revue par l'auteur et traduite de l'allemand,

Par G. BRAUN fils.

Un volume in-18 jésus de 185 pages; 1900..... 4 fr.

TRAITÉ ENCYCLOPÉDIQUE DE PHOTOGRAPHIE,

Par C. FABRE, Docteur ès Sciences.

4 beaux vol. grand in-8, avec 724 figures et 2 planches; 1889-1891... 48 fr.
Chaque volume se vend séparément 14 fr.

Des suppléments destinés à exposer les progrès accomplis viennent compléter ce Traité et le maintenir au courant des dernières découvertes.

1^{er} Supplément (A). Un beau vol. gr. in-8 de 400 p. avec 176 fig.; 1892. 14 fr.

2^e Supplément (B). Un beau vol. gr. in-8 de 424 p. avec 221 fig.; 1897. 14 fr.

Les 6 volumes se vendent ensemble..... 72 fr.

LE FORMULAIRE CLASSEUR DU PHOTO-CLUB DE PARIS.

Collection de formules sur fiches renfermées dans un élégant cartonnage et classées en trois Parties: *Phototypes, Photocopies et Photocalques, Notes et renseignements divers*, divisées chacune en plusieurs Sections;

Par H. FOURTIER, P. BOURGEOIS et M. BUCQUET.

Première Série; 1892..... 4 fr.

Deuxième Série; 1894..... 3 fr. 50 c.

L'OBJECTIF PHOTOGRAPHIQUE,

ÉTUDE PRATIQUE. EXAMEN. ESSAI. CHOIX ET MODE D'EMPLOI.

Par P. MOESSARD,

Lieutenant-Colonel du Génie,
Ancien Élève de l'École Polytechnique.

Un volume grand in-8, avec 116 figures et 1 planche; 1899..... 6 fr. 50 c.

MANUEL DU PHOTOGRAPHE AMATEUR,

Par F. PANAJOU,

Chef du Service photographique à la Faculté de Médecine
de Bordeaux.

3^e ÉDITION COMPLÈTEMENT REFONDUE ET CONSIDÉRABLEMENT AUGMENTÉE.

Petit in-8, avec 63 figures; 1899..... 2 fr. 75 c.

MANUEL PRATIQUE D'HÉLIOGRAVURE EN TAILLE-DOUCE,

Par M. SCHILTZ.

Un volume in-18 jésus; 1899..... 1 fr. 75 c.

LA PHOTOGRAPHIE ANIMÉE,

Par E. TRUTAT.

Avec une Préface de M. MAREY.

Un volume grand in-8, avec 146 figures et 1 planche; 1899..... 5 fr.

DIX LEÇONS DE PHOTOGRAPHIE,

Par E. TRUTAT.

Un volume in-18 jésus, avec figures; 1899..... 2 fr. 75

**TRAITÉ PRATIQUE
DES AGRANDISSEMENTS PHOTOGRAPHIQUES
A L'USAGE DES AMATEURS,**

Par E. TRUTAT.

2^e édition, revue et augmentée. 2 vol. in-18 jésus..... 5 fr

On vend séparément :

I^{re} PARTIE : *Obtention des petits clichés*, avec 81 figures; 1900.... 2 fr. 75 c

II^e PARTIE : *Agrandissements*, avec 60 figures; 1897..... 2 fr. 75 c

ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR DE LA PHOTOGRAPHIE.

CONFÉRENCES FAITES A LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE PHOTOGRAPHIE
EN 1899.

Brochures in-8; 1899. — *On vend séparément :*

LA PHOTOGRAPHIE STÉRÉOSCOPIQUE, par R. COLSON.. 1 fr

LA PHOTOCOLLOGRAPHIE, par G. BALAGNY.... .. 1 fr. 25 c

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LE PORTRAIT EN PHOTOGRAPHIE, par Frédéric DILLAYE..... .. 1 fr. 25 c

LA MÉTROPHOTOGRAPHIE, avec 17 figures et 2 planches, par le Colonel A. LAUSSE DAT..... .. 2 fr. 75 c

LA RADIOGRAPHIE ET SES DIVERSES APPLICATIONS, avec 29 figures, par Albert LONDE.. .. 1 fr. 50 c

LA PHOTOGRAPHIE EN BALLON ET LA TÉLÉPHOTOGRAPHIE, avec 19 figures, par H. MEYER-HEINE..... .. 1 fr. 50 c

SUR LES PROGRÈS RÉCENTS ACCOMPLIS AVEC L'AIDE DE LA PHOTOGRAPHIE DANS L'ÉTUDE DU CIEL; avec 2 planches par P. PUISEUX... .. 2 fr

LA CHRONOPHOTOGRAPHIE, avec 23 fig., par MAREY. 1 fr. 50 c.

LA PHOTOGRAPHIE DES MONTAGNES, avec 19 figures, par J. VALLOT..... .. 1 fr. 75 c

LES AGRANDISSEMENTS, avec fig., par E. WALLON. 1 fr. 75 c.

LA MICROPHOTOGRAPHIE, avec 2 planches, par MONPILLARD.

LE RÔLE DES DIVERSES RADIATIONS EN PHOTOGRAPHIE, avec 8 figures, par P. VILLARD..... .. 1 fr.

LES PROGRÈS DE LA PHOTOGRAVURE, avec figures, par Léon VIDAL..... .. (Sous presse.)

ARS

E,

2 fr. 75

PHIQUES

1900... 2 fr. 75

2 fr. 75

GRAPHIE.

E PHOTOGRAPH

ment:

COLSON.. 1

.... 1 fr. 25

AIT EN PHU

.... 1 fr. 25

2 planches,

.... 2 fr. 75

CATIONS, av

.... 1 fr. 50

HOTOGRAPHI

.... 1 fr. 50

L'AIDE DE

ec 2 planche

..... 2

REY. 1 fr. 50

19 figures,

.... 1 fr. 75

ON. 1 fr. 75

r MONPIL

GRAPHIE, av

..... 1 fr

res, par Léon

(Sous presse

ds-Augustins.

134916



