

(TRAVAIL DE L'INSTITUT SÉROTHÉRAPIQUE DE L'ÉTAT DANOIS)

CONTRIBUTIONS AUX ÉTUDES THÉORIQUES SUR LA DÉSINFECTION

PAR

TH. MADSEN ET MAX NYMAN
(Helsingfors)

Introduction.

Malgré un travail considérable, on n'est pas encore arrivé à une évaluation uniforme de l'intensité des moyens de désinfection. Les meilleures recherches effectuées dans ces derniers temps sont dues à l'ouvrage, initiateur à plusieurs égards, de KRÖNIG et PAUL¹ qui ont créé une technique tenant compte d'une grande partie des fautes commises dans les travaux antérieurs du même genre. Leur méthode a consisté à dessécher des spores charbonneuses sur des grenats de Bohême, puis à les exposer, à température constante, à l'action du désinfectant, — du sublimé la plupart du temps. Au bout de différents temps, ils sortirent quelques grenats, et le sublimé fut transformé, à l'aide du sulfure d'ammoniaque, en un composé de soufre inactif; les spores charbonneuses sont enlevées de la surface des grenats par agitation, et on examine, par étalement sur plaques, le nombre de spores encore vivantes.

¹ TH. PAUL & B. KRÖNIG: Ueber das Verhalten der Bakterien zu chemischen Reagentien. Zeitschrift f. physical. Chemie B. 21. 1896.

B. KRÖNIG & TH. PAUL: Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. — Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten B. 25. 1897.

TH. PAUL: Zur einheitlichen Werthbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. Berlin 1901.

La plus grande difficulté de ces recherches, c'est que les spores charbonneuses desséchées sur les grenats changent sans cesse de résistance même lorsqu'on les conserve à température basse. Néanmoins, pour donner une idée de la sensibilité des spores au moment de l'expérience, PAUL et KRÖNIG donnent pour chaque expérience un nombre de comparaison, un „Vergleichszahl“, par ex.: $HgCl_2$. 16 litres. 3 min. 157 col., ce qui veut dire que dans le cas où l'émulsion respective de spores a été exposée au sublimé dans une concentration de 1 mol. à 16 litres d'eau à température constante de 18°, pendant 3 minutes, 157 colonies se développent encore sur l'agar. Prenant ce „Vergleichszahl“ comme point de départ, ils examinent comment l'action désinfectante varie dans des conditions différentes.

Dans le tableau ci-dessous, on trouvera indiqué combien de colonies survivent après 6 minutes d'action du sublimé, additionné de doses toujours croissantes de chlorure de sodium.

Tab. I.

[KRÖNIG et PAUL: Zeitschr. f. Hygiene, etc. Bd. 25. p. 47.]

Grenat n° 15
 Bacillus anthracis (spore)

Nombre de comparaison:
 $HgCl_2$. 16 litres. 6 min. 8 col.

Solution	Pourcentage	6 minutes
1. $HgCl_2$ 16 litres	1,69	8 col.
2. $HgCl_2$ + 1 $NaCl$ —	$HgCl_2$ 1,69 + $NaCl$ 0,365	32 —
3. — + 2 — —	— — + — 0,73	124 —
4. — + 3 — —	— — + — 1,095	282 —
5. — + 4 — —	— — + — 1,46	382 —
6. — + 4,6 — —	— — + — 1,68	410 —
7. — + 6 — —	— — + — 2,19	803 —
8. — + 10 — —	— — + — 3,65	1087 —

Il en ressort bien distinctement de ce tableau jusqu'à quel point diminue le degré de dissociation de la solution de sublimé, à mesure qu'on l'additionne de plus en plus de chlorure de sodium. Cependant on n'obtient d'une telle série

d'expériences, aucune mesure rationnelle de la diminution du pouvoir bactéricide dans chaque cas isolé.

Si de temps en temps on examine de plus près comment la quantité de spores diminue à température constante sous l'influence du sublimé, on trouvera que cela se fait d'une manière assez régulière, le nombre des colonies baissant d'abord plus vite et ensuite plus lentement. Comme exemple, nous citerons le tabl. II ci-dessous d'après le travail sus-indiqué de PAUL et KRÖNIG. Il montre le résultat d'une expérience de désinfection avec une solution de sublimé sur des spores charbonneuses desséchées sur des grenats à température constante.

Tab. II.

[PAUL et KRÖNIG: Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. 21. p. 421.]

t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.
2	1950	1950
4	578	851
6	327	371,5
8	160	162
10	94	71
12	34	31
14	13	13,5
16	5	5,9
18	3	2,6
20	2	1,1
22	1	0,5
24	0	0,2

$$K = 0,18$$

Dans la première colonne on trouve sous t le temps en minutes. Dans la suivante, on indique sous $(a-x)$ obs. combien de colonies se développèrent encore après une action de t minutes du sublimé avec traitement consécutif par du sulfure d'ammoniaque. Le décroissement du nombre de colonies relativement au temps marche tout à fait régulièrement, et la proportion mutuelle peut être exprimée approximativement par la même formule différentielle qui est aussi valable pour les réactions monomoléculaires¹:

¹ MADSEN: Biol. Selskab. Copenhague 1905.

$$\frac{dx}{dt} = K(a-x),$$

où $(a-x)$ indique le nombre de colonies qu'on trouve au temps t , et où K est une constante exprimant la vitesse de la réaction ou de la désinfection. Dans le tableau II, 3^e colonne, on donne, sous $(a-x)$ calc., les valeurs du nombre de colonies calculées d'après cette formule et avec la constante K . L'accord est assez satisfaisant eu égard aux grandes difficultés qu'offre, comme on le sait, la détermination du nombre de germes.

Si cette manière de traiter les expériences de désinfection peut être réalisée jusqu'au bout, elle offrira une simplicité considérablement plus grande que celle des méthodes suivies jusqu'ici, parce qu'on possède dans la constante K une expression numérique du pouvoir désinfectant dans des conditions données (moyen de désinfection, milieu ambiant, spores, températures, etc.).

On trouve un autre exemple dans le tableau III (p. 109) où l'on compare l'effet de différentes solutions de sublimé sur les spores charbonneuses. Dans la colonne $(a-x)$ calc., se trouvent les valeurs calculées d'après la formule précitée, valeurs qui, malgré des irrégularités assez grandes, suivent en général les valeurs observées.

Il en est de même de la série d'expériences du tabl. IV (d'après KRÖNIG et PAUL) (p. 110) où l'on trouve indiquée l'action désinfectante du sublimé sur la spore du sang de rate, avec ou sans addition de $NaCl$.

Technique.

Nos propres expériences ont eu surtout pour but d'étudier l'influence de la température sur la vitesse de désinfection.

Dans notre technique, nous avons généralement suivi celle de PAUL et KRÖNIG.

De prime abord, on inclinerait à regarder les grenats

Tab. III.

[KRÖNIG et PAUL: Zeitschr. f. Hygiene, etc. Bd. 25. p. 28.]

t (min.)	Mercurichlorid $HgCl_2$									
	16 litres		32 litres		64 litres		128 litres		256 litres	
	(a-x) obs.	(a-x) calc.	(a-x) obs.	(a-x) calc.	(a-x) obs.	(a-x) calc.	(a-x) obs.	(a-x) calc.	(a-x) obs.	(a-x) calc.
2	549	549	—	—	—	—	—	—	—	—
3	323	331	678	678	—	—	3829	3829	—	—
4	236	199	—	—	—	—	—	—	—	—
5	138	120	—	—	961	961	—	—	—	—
6	82	72,4	310	259,5	—	—	2069	2352	—	—
7	42	43,6	—	—	—	—	—	—	—	—
8	19	26,3	—	—	—	—	—	—	—	—
9	—	—	168	99,4	—	—	—	—	—	—
10	10	9,5	—	—	397	381	520	1228	2027	(1009)
12	1	3,5	38	38	—	—	—	—	—	—
14	0	1,3	—	—	—	—	—	—	—	—
15	—	—	10	14,6	178	151	302	544	749	749
18	—	—	5	5,6	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	41	60	231	241,5	612	556
21	—	—	3	2,1	—	—	—	—	—	—
24	—	—	2	0,82	—	—	—	—	—	—
25	—	—	—	—	9	23,8	121	107	432	413
27	—	—	1	0,31	—	—	—	—	—	—
30	—	—	0	0,12	7	9,4	46	47,5	306	306
35	—	—	—	—	3	3,7	21	21,1	227	227
40	—	—	—	—	2	1,5	7	9,35	183	169
45	—	—	—	—	1	0,6	—	—	151	125
50	—	—	—	—	1	0,24	5	1,8	133	93
55	—	—	—	—	1	0,1	—	—	—	—
60	—	—	—	—	1	0,04	1	0,36	79	51
70	—	—	—	—	—	—	1	0,07	16	28
80	—	—	—	—	—	—	0	0,11	10	15,5
90	—	—	—	—	—	—	—	—	5	8,6
100	—	—	—	—	—	—	—	—	3	4,7
110	—	—	—	—	—	—	—	—	3	2,6
120	—	—	—	—	—	—	—	—	2	1,4
	$K = 0,22$		$K = 0,139$		$K = 0,08$		$K = 0,0706$		$K = 0,0259$	

Tab. IV.

[KRÖNIG et PAUL: Zeitschr. f. Hygiene, etc. Bd. 25, p. 47.]

<i>t</i> (min.)	<i>HgCl</i> ₂ 16 litres		<i>HgCl</i> ₂ + 2 <i>NaCl</i> 16 litres		<i>HgCl</i> ₂ + 4,6 <i>NaCl</i> 16 litres	
	(<i>a-x</i>) obs.	(<i>a-x</i>) calc.	(<i>a-x</i>) obs.	(<i>a-x</i>) calc.	(<i>a-x</i>) obs.	(<i>a-x</i>) calc.
2	321	321	1280	1280	—	—
3	—	—	—	—	1689	1689
4	64	61,2	429	509,5	—	—
5	18	26,7	—	—	—	—
6	11	11,7	257	203	566	597
7	11	5,1	—	—	—	—
8	9	2,2	86	80,8	—	—
9	—	—	—	—	209	211
10	3	0,4	23	32,2	—	—
12	0	0,08	7	12,8	75	74,5
14	—	—	5	5,1	—	—
15	—	—	—	—	23	26,3
16	—	—	4	2	—	—
18	—	—	2	0,81	8	9,3
20	—	—	1	0,32	—	—
21	—	—	—	—	4	3,3
24	—	—	0	0,05	3	1,16
27	—	—	—	—	3	0,41
30	—	—	—	—	2	0,145
36	—	—	—	—	1	0,018
39	—	—	—	—	1	0,006
	<i>K</i> = 0,36		<i>K</i> = 0,2		<i>K</i> = 0,1506	

comme peu aptes à porter les spores charbonneuses, puisque leur surface et leurs dimensions sont assez irrégulières. Néanmoins, nous avons trouvé, comme PAUL et KRÖNIG qu'en procédant comme il faut, on peut obtenir par cette méthode des chiffres assez uniformes (voir les tableaux suivants, par. ex. tabl. V).

Voici le procédé de KRÖNIG et PAUL pour détacher les spores de la surface des grenats. Pour chaque détermination, on se sert ordinairement de 6 fois 5 grenats. On fait agir le sublimé, puis on rince les grenats à l'eau et on les traite

Tab. V.

Grenats n° 1.

5 grenats sont agitées à la main avec 3 c.c. d'eau, on dilue avec sol. de *NaCl* stérile jusqu'à 200 c.c. On en prend 1 c.c., 0,5 c.c. et 0,2 c.c. dont on examine la contenance en germes en les diffusant sur l'agar.

	Observation du nombre de germes après		Nombre total de germes sur 5 grenats	
	24 h.	72 h.	24 h.	72 h.
1 c. c.	226	225		
—	203	204	42900	42900
0,5 c. c.	103	133		
—	109	113	42400	49200
0,2 c. c.	53	68		
—	30	37	41500	52500
			Moyenne ...	42267
				48200

avec du sulfure d'ammoniaque. Ensuite on verse 3 c.c. d'eau sur chaque série de 5 grenats, en tube; on place tous les tubes dans une corbeille de fil de métal; on agite énergiquement pendant 3 minutes. Puis 12 c.c. d'agar fondu, refroidi jusqu'à 42°, sont versés dans les tubes; on mélange bien l'agar avec l'émulsion bactérienne, et le tout est versé dans une cuvette Pétri. Au bout d'un et de plusieurs jours on compte la quantité de germes.

Avec agitation à la main pendant trois minutes le résultat est souvent bien variable, comme il ressort et des recherches de PAUL et KRÖNIG et de celles entreprises par nous. Sans doute on peut y remédier en prenant la moyenne d'un assez grand nombre d'expériences; cependant nous avons préféré agiter à la machine exactement pendant 3 minutes. Les différences quant à l'égalité des résultats ressortent du tabl. VI où l'on a indiqué le nombre de colonies sur 5 plaques, chacune provenant de 5 grenats agitées à la main pendant 3 minutes, et celui de 5 autres, traités pendant le même temps dans la machine à agiter.

Tab. VI.

Agitées à la main					à la machine				
250	374	325	669	551	520	554	534	530	536

De plus, nous avons un peu modifié la méthode en ce sens qu'au lieu d'examiner 25 ou 30 grenats en séries de 5, nous avons agité toutes les grenats à la fois. Le plus souvent, nous nous sommes alors contentés de 25 grenats. On les met dans un flacon plat et carré; on y verse 15 c. c. d'eau, on ferme avec un bouchon de caoutchouc et on agite à la machine, en position horizontale, pendant 3 minutes. Ensuite, on sort 3 c. c. (éventuellement on dilue encore) et l'on prépare la plaque à agar. Le nombre de colonies sur les plaques ainsi obtenues varie si peu que, pour quelques-unes des expériences, nous avons cru pouvoir restreindre le nombre des plaques à 4, au lieu de 5 ou 6, sans que la précision des déterminations en souffre trop.

Cette préparation des plaques à agar, nous l'avons exécutée au commencement d'après la méthode indiquée par PAUL et KRÖNIG, suivant laquelle le mélange avec l'agar se fait dans les tubes, après quoi on le verse dans la cuvette Pétri. Une partie, pas tout à fait constante reste cependant collée aux tubes; voilà pourquoi nous avons préféré plus tard transférer directement 3 c. c. d'émulsion de bactéries dans la cuvette Pétri, et y ajouter 12 c. c. d'agar fondu. Les deux liquides se mélangent bien, en inclinant la cuvette avec précaution, et on arrive facilement à répartir les colonies uniformément sur toute l'étendue de l'agar.

La préparation du substratum nutritif a été faite entièrement d'après l'indication de PAUL et KRÖNIG.

Si l'on garde à 37° une plaque d'agar avec des spores charbonneuses influencées par du sublimé et qu'on compte de jour en jour le nombre des colonies, l'accroissement relatif variera beaucoup selon ce nombre.

S'il y a plus de 500 colonies sur chaque plaque, le plus grand nombre de colonies, observable à l'œil nu, sera souvent présent dès le premier jour. En comptant microscopiquement, on en trouvera bien plus. Ordinairement les jours suivants

le nombre de colonies ou ne change pas, ou est un peu inférieur à celui des premiers jours, parce qu'une partie des colonies s'entremêlent, et le compte devient ainsi inexact. Le nombre de colonies se trouve-t-il entre 200 et 500, la quantité s'élèvera souvent un peu pendant 48 heures, tandis que l'augmentation entre 48 h. et 72 h. est très petite.

Tab. VII.

Sublimé 128 litres. Temp. 25°

Pour chaque temps on se sert de 5×5 grenats qui, après traitement par le sublimé et le sulfure d'ammoniaque, sont agitées à la main avec 3 c. c. d'eau; on les emploie ensuite, sans dilution, pour préparer la plaque d'agar.

Nombre de 24 h.	Plaques n°					Milieu
	1	2	3	4	5	
			2 min.			
1	4176	3744	3999	3648	4016	3917
			4 min.			
1	2648	1760	2360	1696	2640	2221
2	2240	1952	2560	1544	2320	2123
			7 min.			
1	1744	752	840	968	1420	1145
2	1512	904	840	1084	1384	1145
			10 min.			
1	250	374	325	669	551	434
2	372	564	700	1020	764	685
			15 min.			
1	124	76	155	179		134
2	504	267	584	632	?	497
			20 min.			
1	7	2	4	3	5	4,2
2	152	89	230	245	246	192
3	153	94	227	231	231	187
			25 min.			
1	6	2	2	4	3	3,4
2	70	75	54	45	99	68,6
3	80	98	49	48	124	80
			30 min.			
1	0	0	0	0	0	0
2	1	2	0	1	1	1
3	1	3	0	1	1	1,2

Tab. VIII.

Sublimé 256 litres.

Temp. 25°. Pour chaque temps, 5 min., 10 min. etc., on se sert de 30 grenats, qui, après traitement par sublimé et sulfure d'ammoniaque etc sont agitées avec 18 c. c. d'eau à la machine; ensuite on en utilise 3 c. c. pour chaque plaque. Dans l'expérience de 5 minutes on dilue, après l'agitation, jusqu'à 5 fois autant — 10 min. 4 fois — 15 min. 3 fois — 20 min. 2 fois; pour le reste, on ne dilue pas.

Nombre de 24 h.	Plaques n°					Milieu	Dilution	Nombre de colonies sur 5 grenats
	1	2	3	4	5			
5 min.								
1	836	820	832	772	824	817	5	4085
2	864	816	805	824	832	828	—	4140
3	848	800	816	792	808	813	—	4065
10 min.								
1	520	554	534	530	536	535	4	2140
2	522	528	548	560	534	538	—	2152
3	496	548	508	540	552	529	—	2116
15 min.								
1	305	291	282	318	318	303	3	909
2	310	314	328	360	352	333	—	999
3	324	352	328	392	328	345	—	1035
20 min.								
1	142	155	136	173	172	156	2	312
2	230	235	196	255	251	233	—	466
3	213	238	216	242	242	230	—	460
25 min.								
1	88	94	96	78	74	86	1	86
2	212	214	233	227	190	215	—	215
3	218	232	246	234	192	224	—	224
30 min.								
1	9	5	8	3	6	6,2	1	6,2
2	32	31	39	20	25	29	—	29
3	38	35	44	22	30	34	—	34
40 min.								
1	1	0	0	0	0	0,2	1	0,2
2	5	2	2	1	1	2	—	2
3	5	2	2	1	1	2	—	2

Y a-t-il moins de 200 colonies sur chaque plaque, l'accroissement sera proportionnellement très considérable de 24 h. à 48 h., mais au contraire assez petit de 48 h. à 72 h. Voir les expériences de PAUL et KRÖNIG et tabl. VII—VIII.

Au bout de trois jours et trois nuits, de nouvelles colonies ne se sont pas développées pendant nos expériences.

Une grande densité de germes implique beaucoup d'entraves, parce qu'une foule de colonies ne parviennent pas à se développer visiblement. On court donc le risque, en se servant de cette méthode, de ne pas pouvoir comparer légitimement les résultats des plaques densément semées et des plaques clairsemées. Voilà pourquoi nous avons cherché à diluer le liquide contenant les bactéries après l'agitation de telle sorte qu'il n'y ait pas plus d'environ 200 colonies sur chaque plaque. Généralement, nous avons pu le faire sans difficulté, parce que nous avons toujours connu le nombre entier de spores charbonneuses sur les grenats, et, en nous appuyant sur cette donnée, nous avons entrepris une petite expérience d'orientation avant l'expérience principale.

Pour la dilution, nous nous sommes toujours servis d'une quantité relativement grande (ordinairement de 5 à 10 c. c.) d'émulsion de bactéries que nous avons répartie par agitation soigneuse dans un volume plus grand d'eau distillée.

Tab. IX.

Nombre de 24 h.	Eau		Chlorure de sodium	
	3 c. c.		3 c. c.	
1	122		109	
2	120		120	
4	120		120	
	1 c. c.		1 c. c.	
	I.	II.	I.	II.
1	35	44	40	29
2	37	44	39	29
4	37	45	39	29
	0,5 c. c.		0,5 c. c.	
	I.	II.	I.	II.
1	18	14	15	25
2	18	15	15	25
4	18	15	15	25
Milieu...	114		114	

12 grenats sont agités à la machine pendant 3 minutes avec 6 c. c. d'eau. On en dilue 2 c. c., avec de l'eau distillée, jusqu'à 200 c. c. — D'autres 2 c. c., sont dilués jusqu'à 200 c. c. avec une solution de chlorure de sodium de 0,9 ‰.

Comme il ressort de ce tabl. IX, on n'observe aucune influence sensible sur le nombre des colonies si on dilue avec de l'eau distillée ou avec une solution de chlorure de sodium de 0,9 ‰.

Dans toutes nos expériences nous avons attaché de l'importance à savoir combien de spores existaient sur les grenats avant l'action du sublimé. Parfois le traitement par le sulfure d'ammoniaque n'a pas d'influence notable (selon PAUL et KRÖNIG) sur le nombre de colonies, comme on le voit aussi par les expériences des tabl. X et XI.

Tab. X.

4 grenats sont agitées avec 10 c. c. d'eau, diluée jusqu'à 400 c. c. Obs. 48 heures.

			Milieu	Nombre de colonies sur 5 grenats
1 c. c.				
272	292	336	300	150000
0,5 c. c.				
140	162	138	147	147000
				Milieu 148500

Tab. XI.

2 × 20 grenats (A et B) sont placées à 25° avec de l'eau distillée. Au bout de 5 minutes on les sort, on les rince, on les traite avec le sulfure d'ammoniaque, on les rince encore, tout comme pour les grenats influencés par le sublimé; ensuite on agite avec 12 c. c. d'eau étendue après jusqu'à 20 c. c. On en dilue ultérieurement 5 c. c. jusqu'à 400 c. c. Temps d'observation 48 h. 1 c. c. pour chaque plaque.

				Milieu	Nombre de colonies par 5 grenats
A	394	400	372	389	155600
B	424	384	302	370	148000
					Milieu 151800

Dans autres expériences le sulfure d'ammoniaque diminuait notablement le nombre de colonies.

Quant aux études quantitatives sur les bactéries, les fautes d'expérience seront naturellement assez considérables. Les expériences doubles suivantes nous donneront une idée de la grandeur des écarts. On examinait à 25° le pouvoir désinfectant du sublimé en conc. 256 litres au bout de 2, 4, 7, 10, 15, 20, 35 et 60 minutes. On se servit de deux séries

de 20 grenats, traitées indépendamment l'une de l'autre, de sorte que l'expérience comprend 2 séries I et II.

Tab. XII.

Série I.						Série II.					
			Milieu	Dilu- tion	Nombre de colonies sur 5 grenats				Milieu	Dilu- tion	Nombre de colonies sur 5 grenats
2 min.						2 min.					
193	330	254	259	100	25900	336	280	Inf.	308	100	30800
4 min.						4 min.					
228	258	Inf.	243	50	12150	160	169	170	166	50	8300
7 min.						7 min.					
502	450	490	480	12	5760	329	346	Inf.	338	12	4056
10 min.						10 min.					
228	230	223	227	8	1816	273	294	252	273	8	2184
15 min.						15 min.					
388	401	332	374	1	374	494	544	505	509	1	509
20 min.						20 min.					
232	189	254	225	1	225	229	168	Inf.	199	1	199
35 min.						35 min.					
1	11	4	5,3	1	5,3	2	2	3	3,3	1	3,3
60 min.						60 min.					
1	0	0	0,3	1	0,3	1	1	Inf.	1	1	1

Avec plus de pratique et un plus grand nombre d'expériences (temps et plaques d'agar) les écarts seront cependant beaucoup diminués.

L'influence de la température.

Dans la plupart des travaux antérieurs sur la désinfection, on n'a pas, semble-t-il, donné assez d'attention à l'influence de la température. Autant que nous sachions, KRÖNIG et PAUL furent les premiers qui aient attaché de l'importance à faire les expériences sur la désinfection à température parfaitement constante de 18°.

Pour nos expériences, nous nous sommes servis du bain marie d'Ostwald à régulateur de toluole et à remueur mû par l'électricité; les oscillations de température ne dépassaient pas $\frac{1}{25}$ degré, et étaient d'ordinaire bien plus petites.

A toutes ces expériences, nous nous sommes servis d'une solution de sublimé de la concentration de 256 litres.

Dans l'expérience du tableau XIII, on compare la vitesse de désinfection à 45°, à 35° (2 expériences), et à 25°.

Les grenats comptaient 124800 colonies (5 grenats) avant l'action du sublimé.

Tab. XIII.

45°			25°		
t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.	t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.
0	[124800]	[38050]	0	[124800]	[112000]
0,5	10360	10360	2	51000	50990
1,0	2550	2820	4	13550	23200
1,5	810	768	6	5520	10550
2,0	210	209	8	4170	4803
2,5	52	56,9	10	1780	2186
3,0	3	15,5	13	865	671
4,0	0,7	1,16	16	252	206
5,0	0,25	0,097	20	46	42,6
8,0	18		25	6	6
	$K = 1,13$		30	1,5	0,83
			40	1	0,0162
			60	4	
			80	0,25	
			100	0	
				$K = 0,171$	

35°

I.			II.		
t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.	t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.
0	[124800]	[43150]	0	[124800]	[86310]
1	12800	14620	2	8120	8120
2	5000	4955	4	4522	1229
3	1920	1679	6,5	115	116
5	170	193	8	15	28,2
6	6,5	65	10	3,0	4,3
7	19	22,1	13	0,25	0,25
8	2	7,5	17	4,5	
10	92	0,86	20	0	
	$K = 0,47$			$K = 0,41$	

Au tableau, on trouve sous t le temps en minutes, sous $(a-x)$ obs. la moyenne du nombre de colonies, et sous $(a-x)$ calc. les valeurs calculées d'après la formule $\frac{dx}{dt} = K(a-x)$. K se trouve indiqué sous chaque série.

Dans ces expériences, la chute à partir du nombre original pour $t = 0$ jusqu'au nombre premièrement observé ($t = 0,5, 1$ et 2) est bien plus grande que ne le ferait supposer la marche ultérieure de la réaction, et cette chute semble s'accroître encore avec l'élévation de la température.

Au contraire, ce phénomène ne se trouve pas dans l'expérience du tabl. XIV, où le nombre original est bien moins élevé, 9500.

Tab. XIV.

35°			25°		
t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.	t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.
0	9500	9500	0	9500	9500
2	4860	4864	5	4140	4457
4	2964	2477	10	2152	2094
6	1408	1259	15	999	984
10	304	326	20	466	462
15	2,6	60	25	217	217
20	1,8	11,1	30	29	102
25	2,0	2,0	40	2	22,7
	$K = 0,1468$		50	10	5
				$K = 0,0655$	

Enfin, on trouve au tabl. XV une expérience faite le même jour avec des séries très courtes, à 45°, 35° et 25°.

Tab. XV.

45°			35°		
t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.	t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.
1	1220	1220	1	7750	7750
2	108	122	2	2440	2451
3	13	12,2	4	355	346
4	5	1,2		$K = 0,5$	
	$K = 1,0$				
25°					
t	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.			
2	23400	23400			
4	10940	9800			
8	705	1719			
14	127	126			
	$K = 0,189$				

En résumant les résultats des expériences précitées, on observe un accroissement notable de la force de la désinfection.

tion selon la température ce qui peut s'exprimer ainsi numériquement: *La constante de la vitesse de désinfection K monte environ 2,5 fois toutes les fois que la température monte de 10°.*

La plupart des réactions chimiques et physiologiques sont accélérées par l'élévation de la température, et ARRHENIUS a établi la formule suivante pour ce phénomène:

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{\frac{\mu}{R} \cdot \frac{T_1 - T_2}{T_1 T_2}}$$

où K_1 et K_2 indiquent les vitesses de réaction aux températures T_1 et T_2 ; les T s indiquent la température absolue. μ est une constante, et R peut, en calories, être supposé égal à 2.

D'après cette formule, on peut calculer, avec une bonne approximation, la relation entre les constantes de désinfection trouvées au tabl. XIII, et les températures. Les valeurs de K ainsi trouvées sont indiquées au tabl. XVI, sous K calc. μ fut trouvé = 17890.

Tab. XVI.

Résumé.

Temp.	Tab. 13.		Tab. 15.		Tab. 14.
	K obs.	K calc.	K obs.	K calc.	K obs.
45°	1,13	1,13	1,0	1,249	
35°	0,47				
		0,4532	0,5	0,501	0,1468
—	0,41				
25°	0,171	0,171	0,189	0,189	0,0655
	$\mu = 17890$				$\mu = 14820$

La même valeur de μ peut aussi être employée pour le tabl. XV. D'après les deux valeurs du tabl. XIV on a trouvé $\mu = 14820$, donc un peu plus petit. Afin de comparer, nous ferons observer que le nombre correspondant pour la saponification de l'acétate d'éthyle est de 25640, et pour l'inversion du sucre de cannes, de 11160 cal. par molécule g .

Que les températures employées n'aient aucune influence mortelle sur les bactéries elles-mêmes, c'est ce que nous avons pu prouver par des expériences à part.

Tab. XVII.

20 grenats sont traitées à l'eau à 25° pendant 25 minutes; on les rince, on les traite avec du sulfure d'ammoniaque, on rince de nouveau, tout comme pour les expériences sur la désinfection à l'aide du sublimé. On agite pendant 3 minutes avec 12 c. c. d'eau, on dilue jusqu'à 20 c. c. On en prend 5 c. c. qu'on dilue jusqu'à 800 c. c. Pour chaque plaque, on prend 3 c. c.

20 grenats sont traitées identiquement à 35°.

Moyenne					Colonies sur 5 grenats
25°					
479	464	474	464	470	125335
35°					
474	490	436	488	472	125868

Tandis que la plupart des séries de nombres communiquées offrent une marche assez régulière en ce sens que la quantité de colonies s'abaisse uniformément avec le temps, une partie d'autres expériences montrent des variations; en voici une comme exemple:

Tab. XVIII.

Sublimé 256 litres. Temp. 35°.

<i>t</i>	(<i>a</i> - <i>x</i>)	<i>t</i>	(<i>a</i> - <i>x</i>)
0	179300	13	491
2	36300	16	29
4	7470	20	74
6	3948	25	86
8	0	30	1198
10	1060		

Le côté singulier — abstraction faite du résultat anormal à 8 minutes — c'est que la quantité de bactéries remonte après avoir atteint un minimum de 29. Nous avons observé tant de fois des phénomènes absolument semblables qu'on ne saurait admettre une faute d'expérience au sens général de l'expression; voila pourquoi nous avons voulu publier ce fait, sans chercher du reste, pour le moment, à en donner une explication.

D'après ce qui précède, la mort, par l'action du sublimé, des spores du sang de rate peut être conçue comme une réaction qui s'exprime avec une certaine approximation par une formule très simple:

$$\frac{dx}{dt} = K(a-x)$$

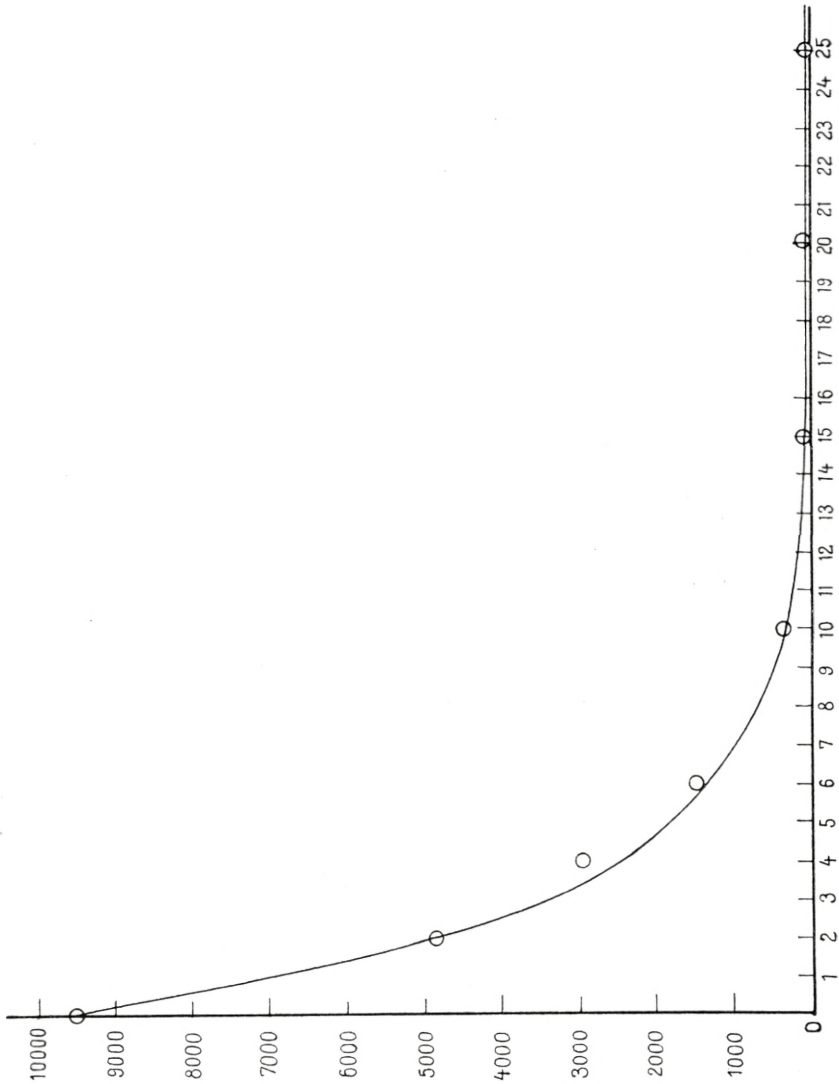
où K est la constante de réaction ou de désinfection. Le procédé encore généralement suivi, d'indiquer au bout de quel temps tous les microbes sont morts, est extrêmement inexact. Examine-t-on un assez grand nombre de séries d'expériences, on rencontre souvent une longue période ou „croissance, et non-croissance“ alternent, de sorte que la faute quant au „temps de mort“ oscille de plusieurs centaines de ‰. Cela se voit peut-être plus distinctement si la réaction de désinfection est représentée graphiquement dans un système de coordonnées où le temps de l'action du sublimé est indiqué le long de l'axe de l'abscisse, tandis que le nombre y correspondant de colonies s'indique comme coordonnées. La courbe ci-dessous représente graphiquement l'expérience du tabl. XIV.

Le nombre de germes décroît d'après une courbe qui a l'axe de l'abscisse pour asymptote, et théoriquement le nombre ne deviendra jamais 0, c'est à dire que pour avoir *un* germe, des quantités de liquide toujours plus grandes sont nécessaires. En pratique, on indique souvent le nombre de germes contenus dans un centimètre cube; si, d'après un certain temps de désinfection, on arrivera à 0,25 germes par c. c., ou 1 colonie dans 4 c. c., il y aura une probabilité de 3 contre 1 pour qu'une culture sur plaque de 1 c. c. soit stérile; mais il est évident qu'il n'est pas exclu qu'on puisse trouver des colonies même après un temps de désinfection bien plus long. Voilà pourquoi l'inexactitude de la détermination du temps de mort sera très grande; on arrivera à des résultats bien plus sûrs par la méthode indiquée par nous, et d'après laquelle, en calculant la constante, on tient compte de toutes les déterminations.

GEBBERT¹ a déjà insisté, — comme aussi BREFELD, — sur

¹ Ueber desinficierende Mittel und Methoden. Berlin. Klin. Wochenschrift 1890, Nr. 11.

ce point que, de l'attitude générale des microbes pendant la désinfection on peut conclure que dans un nombre donné



de spores uniformément préparées, les individus offrent de grandes différences de résistance.

On peut regarder les spores charbonneuses de même que

les hématies comme des individus isolés à résistance très inégale. Cependant, pour un nombre donné de telles spores, on peut indiquer une moyenne de résistance, autour de laquelle se groupe la force de résistance des spores isolées. Pour obtenir une indication numérique de cette moyenne, on peut utiliser la constante K de la formule citée. Mais il existe toute une série de résistances, depuis des résistances très faibles jusqu'à de très élevées, et plus on s'éloigne de la moyenne d'un côté ou de l'autre, plus petit sera le nombre de spores ayant le degré de résistance respectif.¹⁾

La diminution de la quantité des germes pendant le *chauffage à température constante* semble suivre la même loi que la désinfection par le sublimé. Comme exemple nous citerons l'expérience du tabl. XIX. On l'a exécutée de la façon suivante: Dans chacun de 8 petits tubes de verre, chauffés d'avance à 110° , on a placé 5 grenats; puis on a plongé les tubes dans un bain d'huile à 110° . Aux temps t , un tube a été sorti; on l'a refroidi rapidement, et ensuite la quantité de germes des grenats a été déterminée de la façon ordinaire.

Tab. XIX.

110°		
t (min.)	$(a-x)$ obs.	$(a-x)$ calc.
60	3676	5152
90	2304	2512
120	1350	1225
150	696	597
180	188	291
210	756	142
240	77	69,2
300	10	16,4

$$K = 0,0104$$

¹⁾ On pourra peut-être établir, pour la répartition, autour d'une moyenne de la résistance, un diagramme correspondant à la courbe ordinaire de la faute exponentielle, comme l'a fait p. ex. MAXWELL, afin de représenter la répartition probable des vitesses différentes des molécules au-dessus de et au-dessous de leur valeur moyenne.

La signification des signes est la même que plus haut, et les calculs ont été faits d'après la même formule.

Dans le tableau XX on trouvera une expérience tout-à-fait analogue, à environ 100°.

Tab. XX.

Temp. 99°—101°

<i>t</i>	(<i>a</i> — <i>x</i>) obs.	(<i>a</i> — <i>x</i>) calc.
60	25220	23390
90	10860	12370
120	6725	6545
150	2910	3461
180	1540	1831
210	1142	968,5
240	565	512
300	412	143

$$K = 0,00922$$

Eu égard à ce que la température oscillait de presque 2 degrés, l'accord est assez satisfaisant. Dans ces deux expériences, les grenats étaient différentes, de sorte qu'on ne pouvait déterminer l'influence du changement de la température sur la vitesse de réaction.

On pourrait exprimer peut-être par la même formule la mort lente des spores bactériennes à la température ordinaire des chambres. En ce cas, le chauffage n'a pas pour effet qu'il s'établisse tout un nouveau processus, mais seulement qu'un processus à marche très lente se trouve très accéléré.

Il est permis de croire qu'ici des processus hydrolytiques entrent en jeu; on sait que la désinfection se fait bien lentement si l'eau est absente.

Il se peut qu'une technique améliorée arrive à démontrer l'existence d'écart constants par rapport à la règle indiquée. Mais en dedans des grandes fautes d'expérience, avec lesquelles il faut compter pour le moment, elle exprime simplement le pouvoir désinfectant. D'après un procédé analogue à celui

qui a été utilisé ici pour déterminer l'action de la température, on pourra déterminer l'action d'autres conditions, par exemple celle des changements de concentration, celle de l'addition de différentes substances, celle d'autres moyens de solution, de l'addition des matières organiques, etc.

On pourrait probablement arriver à une unité plus grande en prenant pour norme l'objet classique de la désinfection, à savoir l'action du sublimé sur les spores charbonneuses, et en y comparant le pouvoir désinfectant d'autres substances. Bien entendu, toutes les autres conditions, spores charbonneuses, température, etc., devraient être uniformes, et les expériences devraient se faire en même temps, par égard pour la variation continue de la résistance des spores charbonneuses. De plus, il faudrait toujours se rappeler que la mensuration ainsi obtenue de la force désinfectante n'a de valeur que pour les spores charbonneuses et qu'elle devra être corrigée, éventuellement, pour d'autres microbes. Sans doute, un tel procédé exigerait un travail bien considérable, mais notre connaissance des principes de la désinfection gagnerait ainsi une clarté considérablement plus grande que celle que nous possédons pour le moment.
