Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 38 (1947)

Heft: 2-3

Artikel: Distributeur stérile : appareil permettant de répartir stérilement des quantités déterminées de liquides en un grand nombre de récipients

Autor: Fleury, Clément

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983030

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 16.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Distributeur stérile

Appareil permettant de répartir stérilement des quantités déterminées de liquides en un grand nombre de récipients *)

Par *Clément Fleury*

(Stations fédérales d'essais viticoles, arboricoles et de chimie agricole, à Lausanne)

La technique microbiologique, chacun le sait, est entièrement fondée sur le principe pastorien de la «culture pure». Or, lorsqu'il s'agit d'éprouver un germe quant à sa vie en propre et ses modes de réaction, il faut en premier lieu l'extraire de son habitat naturel où il vit mêlé à une multitude d'autres micro-organismes, autrement dit l'isoler.

Cet isolement une fois effectué grâce à des techniques déjà perfectionnées, il convient ensuite de perpétuer ce germe. Deux opérations sont alors nécessaires, à savoir:

1⁰ *Perpétuation de l'espèce isolée («repiquage»).*

Cette opération, qui consiste à prélever une faible partie de la colonie issue du microbe isolé pour la porter sur ou dans un milieu de culture stérile, donne naissance à de nombreux germes vivants de la même espèce.

2⁰ *Inoculation de milieux de culture pour l'observation du comportement physiologique.*

Les germes vivants obtenus par la première opération sont à leur tour transportés dans des tubes ou des flacons préparés à cet effet, remplis de différents milieux nutritifs ou toxiques, où ils vont se développer et réagir selon les substances présentes dans ces milieux.

Les manipulations préliminaires que nécessite cette dernière observation sont toutefois délicates et difficiles, si l'on veut aboutir à un résultat sincère; aussi, pour éviter de fausses interprétations, convient-il de respecter les conditions nécessaires et essentielles suivantes:

a) stérilité parfaite et permanente des milieux et appareils,

b) essai sur un nombre suffisant d'échantillons de la même catégorie,

c) inoculation par des quantités égales de la suspension homogène du micro-organisme considéré.

Comment effectuer ces inoculations d'un grand nombre de milieux par des quantités constantes de germes sans préjudicier à la stérilité?

---

*) Appareil conçu au Laboratoire de microbiologie et fermentations de l'Université de Genève et mis au point à la Section de bactériologie des Stations fédérales d'essais, à Lausanne.

Les procédés dits classiques consistent en l'utilisation, soit de la «pipette Pasteur», soit de la «pipette graduée» ou encore de l' «anse de platine».

Si ces techniques peuvent être conservées dans la pratique journalière pour des opérations et des contrôles réduits, comportant par exemple une dizaine de récipients au maximum, le problème se complique singulièrement dans les recherches plus complètes, au cours desquelles nous avons constaté que le système des pipettes et anses de platine n'est pas à même de donner le résultat que nous attendions. Tout d'abord:

a) En ce qui concerne la stérilité, laquelle se trouve forcément compromise par la manipulation des liquides, effectuée pour ainsi dire au contact de l'air libre.

b) En biologie, plus encore qu'en d'autres sciences, un résultat ne peut être acquis définitivement que par une expérimentation en série, autrement dit sur un grand nombre d'individus de même espèce placés dans des conditions identiques, afin d'éliminer les variations individuelles inhérentes à ce qui vit. Or, en écartant les pipettes pour leur contenance trop réduite, nous avons paré au désavantage de manipulations nombreuses et fatigantes.

c) Nous savons toute l'importance que peut avoir la quantité plus ou moins grande d'inoculat sur le développement ultérieur des microorganismes [4]). Or, les pipettes sont incapables de nous assurer une teneur constante en germes [2]) (bactéries par exemple). Lorsqu'il s'agit de conidies de moisissures, nous avons remarqué la formation d'un film en surface de la suspension. Cette couche très fine, formée de conidies, est recueillie par la pipette au moment du prélèvement de l'inoculat, ce qui risque de perturber gravement l'homogénéité de la répartition.
Afin d'éviter les inconvénients dus à la tension superficielle, on a préconisé d'ajouter un peu de saponine, mais, ainsi que nous l'avons vérifié sur *l'Aspergillus niger*, son action n'est pas absolument nulle. Il fallait donc supprimer à la fois la pipette et la saponine. La question semble résolue avec notre distributeur, qui prélève la solution au-dessous de la surface.

En présence de ces difficultés, il nous a paru utile d'établir des bases pour l'obtention d'un maximum de précision scientifique et de sécurité.

Les recherches bibliographiques que nous avons effectuées dans ce sens ne nous ont pas donné de renseignements suffisants [1])[3])[5]); c'est pourquoi nous nous permettons de décrire ci-après notre

Distributeur stérile

Déjà nous l'employons pour nos travaux et avons tout lieu de nous en montrer satisfait.

Sa manipulation ne nécessite que l'habileté manuelle requise des habitués de laboratoire.

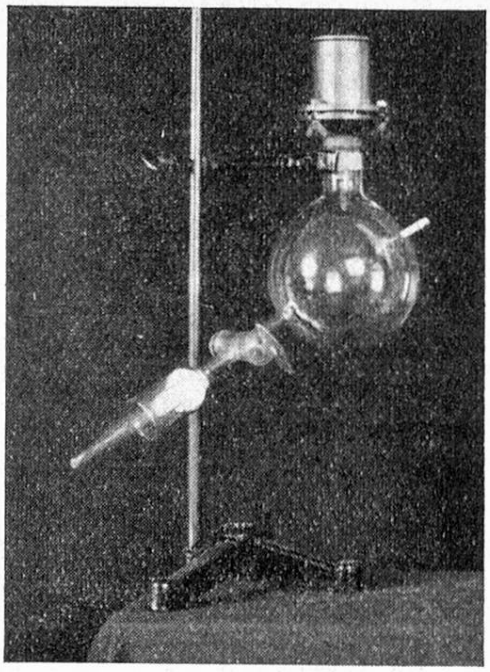

Fig. 1 a

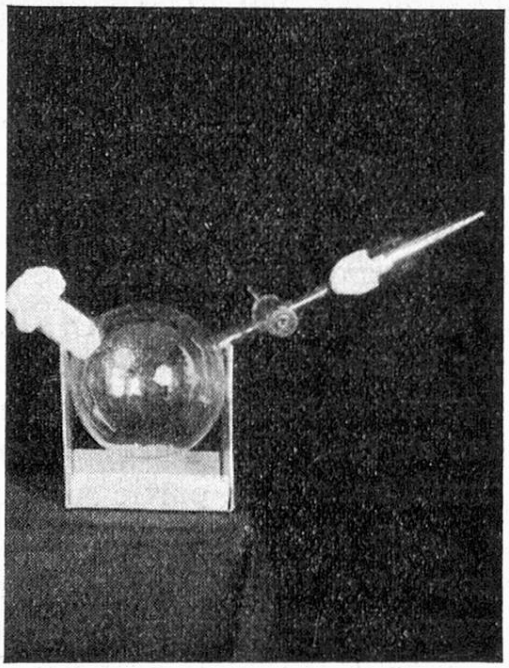

Fig. 1 b

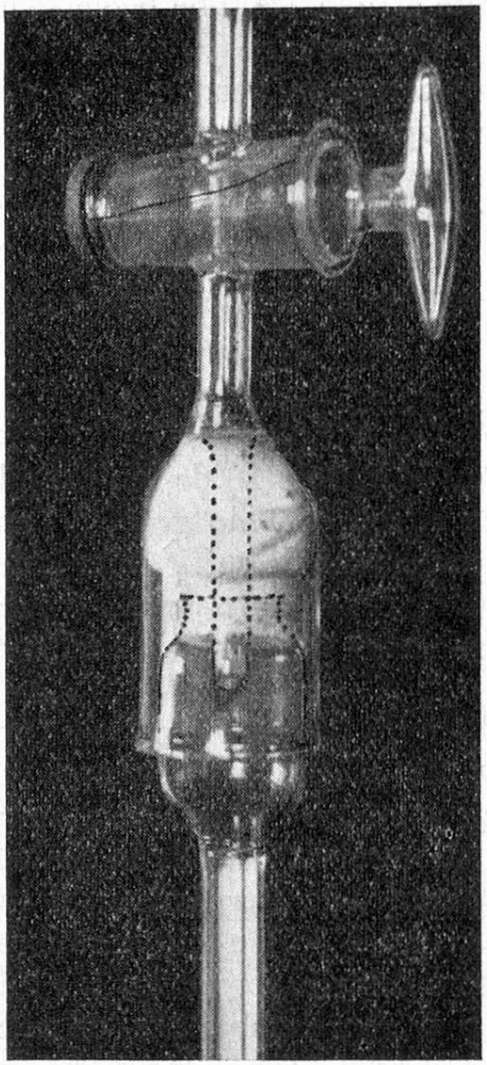

Fig. 2

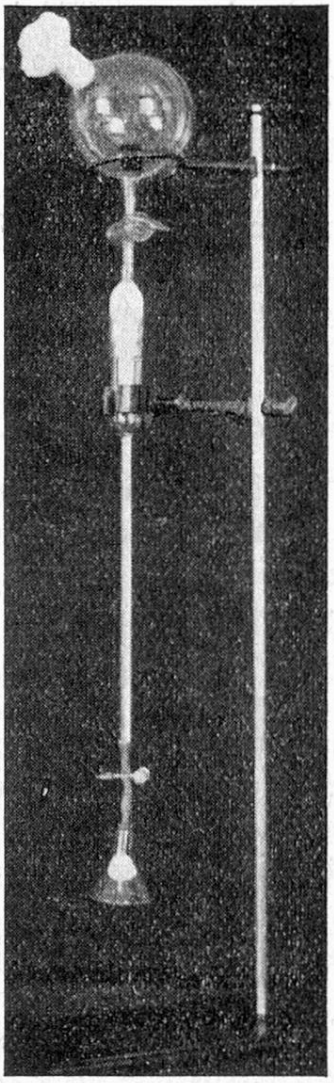

Fig. 3

Description

L'appareil (fig. 3 et 4) que nous avons fait exécuter par un verrier est entièrement construit en verre d'Iéna.

Il comprend deux parties (I et II).

La *partie I* est un ballon (B) dont l'orifice supérieur (A) fait un angle de 120° avec le tube d'écoulement (T). Ce tube est muni d'un robinet de verre (C) dans sa partie moyenne. Un capuchon (D), également en verre, forme une cloche appendue au tube (T) immédiatement au-dessous du robinet. Le capuchon est, par sécurité, percé à sa partie supérieure d'un petit orifice d'aération.

La *partie II* est composée d'une burette graduée (E); sa contenance peut varier entre 10 et 100 cm^3 ou davantage. Le tube (E) est terminé soit par un robinet en verre et une pointe effilée, soit par un étranglement garni d'une petite olive, à laquelle on adapte un tuyau de caoutchouc, fermé par une pince de *Mohr* ou d'*Hoffmann* (M).

Nous avons préféré le second système, plus pratique à notre avis, en y ajoutant toutefois un tube de verre (T') à extrémité effilée. Ce tube traverse un bouchon de caoutchouc lequel supporte un entonnoir à poudre (P) renversé.

La burette est surmontée d'un cylindre creux en verre (F) de diamètre légèrement inférieur à celui de l'intérieur du capuchon (D) décrit plus haut. Ce cylindre est étranglé dans sa partie supérieure pour assurer son emboîtement lâche avec le tube d'écoulement (T), (fig. 2); sa partie inférieure est resserrée pour permettre sa soudure avec la burette graduée. Il sert donc à la fois de réservoir au trop-plein du liquide emplissant la burette et de soutien à la partie I de l'appareil.

Stérilisation de l'appareil et des liquides à l'autoclave

Le liquide à stériliser étant introduit dans le ballon (B) de la partie I, il est possible de mettre dans l'autoclave le ballon et son contenu grâce à l'angle de 120° formé entre l'ouverture et le tube d'écoulement. Il suffit pour cela de le poser sur un support adéquat (fig. 1b), où la contenance sera maximum, le liquide n'atteignant pas les orifices ni dans cette position ni d'ailleurs dans l'appareil monté.

La stérilisation du robinet (C) est facilitée du fait que la partie opposée à l'ailette est cerclée d'une rainure à bords inclinés (fig. 4). On y adapte une rondelle de caoutchouc (R) dont la modification volontaire de position contribue à laisser au robinet le jeu nécessaire à sa dilatation sous l'effet de la chaleur.

Pour préparer les deux parties de l'appareil à la stérilisation, il suffit de garnir tout d'abord les orifices de coton (voir fig. 1 à 3). De plus, les tubes (T) et (T') doivent être protégés chacun par un tube à centrifuger retenu par du coton. Les extrémités sont enveloppées dans du papier genre emballage, de même que le robinet (garanti en sus par du coton).

Les deux parties ainsi prêtes sont mises à l'autoclave.

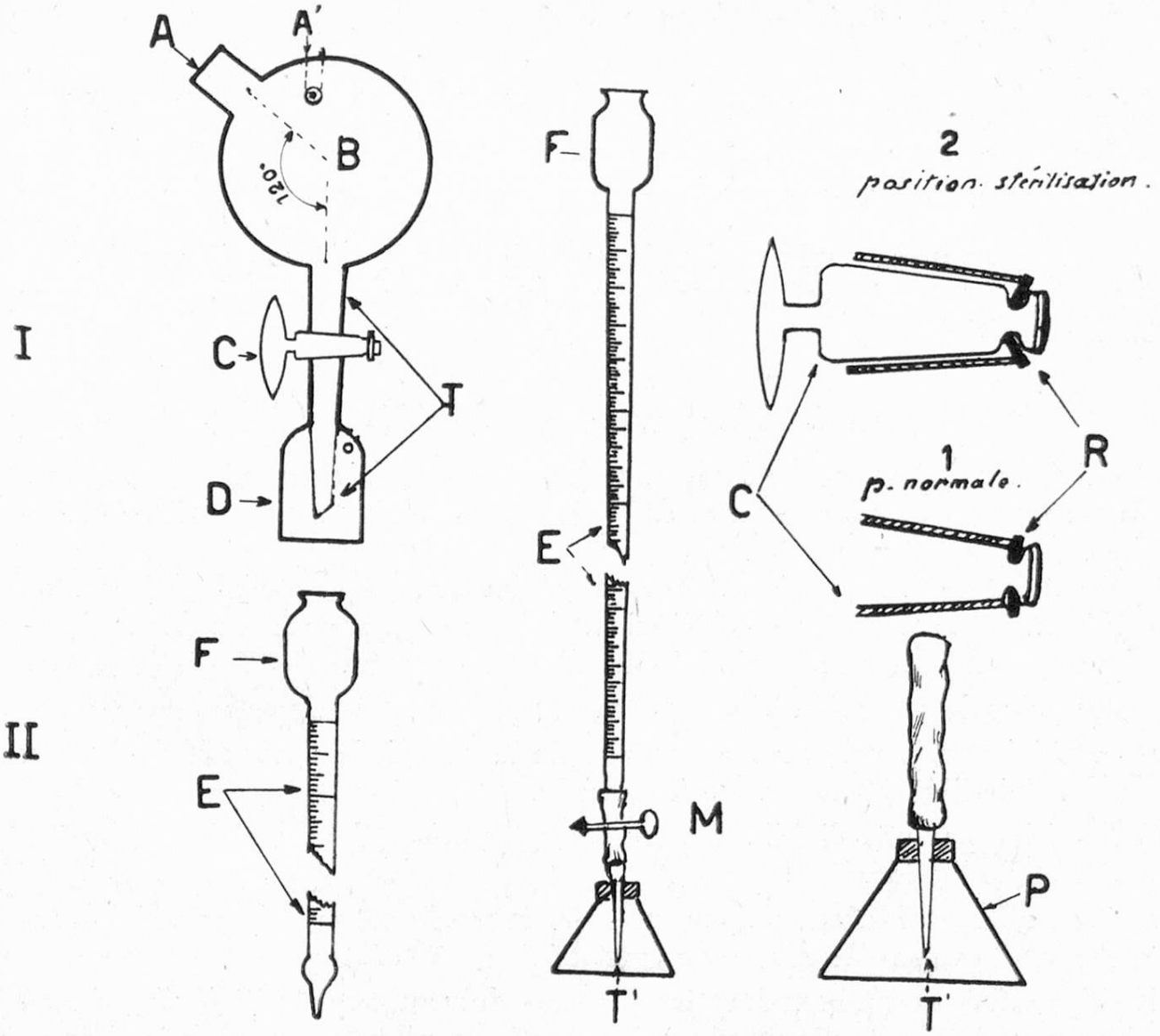

Fig. 4

Stérilisation des liquides par filtration

Si nous munissons la partie I d'une tubulure supplémentaire (A') (fig. 1a et 4) nous pouvons répartir également les liquides stérilisés par filtration.

Après avoir passé à l'autoclave l'appareil vide, installons-le sur un support du type indiqué par la figure 1a. Il s'agit alors d'aspirer l'air par la tubulure (A'), placée le plus près possible de l'orifice (A) qui supporte le filtre Seitz.

La seule précaution à prendre, c'est de graisser suffisamment le robinet pour assurer son étanchéité.

Il va sans dire que ce même appareil peut être utilisé pour la stérilisation à l'autoclave comme dans le cas précédent.

Fonctionnement du distributeur stérile

Les deux parties de l'appareil sont emboîtées suivant la figure 2. Le ballon de la partie supérieure I contient le liquide à distribuer. Ouvrons alors le robinet qui donne accès à la partie II de l'appareil. Le liquide s'écoule par la tubulure axée dans le capuchon (D), traverse ensuite le cylindre (F) et va remplir enfin la burette graduée.

Il ne reste qu'à ouvrir le deuxième robinet ou la pince qui maintient la colonne liquide pour effectuer sa distribution dans chacun des tubes ou flacons prêts à l'expérience.

Domaine d'application en microbiologie

Cet instrument permet l'étude expérimentale *en série* des microorganismes tels que: algues, levures, bactéries de toutes sortes, moisissures, et même protozoaires.

Du point de vue pratique, la capacité importante et variable du ballon garantit une réserve suffisante de liquide. En outre, l'appareil n'est composé que de deux parties présentant un minimum d'encombrement.

Du point de vue scientifique, ses avantages sont les suivants:

a) Sécurité par la permanence parfaite de la pureté de l'inoculat, le contact avec l'air libre étant devenu impossible.

b) Précision par une distribution en séries régulières de quantités exactement dosées de liquide.

c) Possibilité d'additions subséquentes, en cours de culture, de quantités voulues de solutions de diverses substances.

d) Répartition de milieux dont les éléments doivent être stérilisés séparément (ex.: liquide de Raulin ou vin, très acide, avec gélose qui risquerait l'hydrolyse par stérilisation commune).

e) Divers autres avantages sont offerts par ce distributeur, dont l'emploi facilite la solution de nombreux problèmes expérimentaux.

En outre, il n'est point négligeable de parler de la suppression des risques toujours possibles, inhérents à l'emploi des pipettes. Des écoulements de liquide contenu dans ces dernières peuvent en effet se produire d'une manière plus ou moins prévisible. Or, ce liquide est souvent virulent! Avec le *distributeur stérile,* un inconvénient de ce genre est exclu.

Nos constatations nous permettent encore d'ajouter que le travail accompli au moyen de cet appareil est d'une rapidité légèrement supérieure à celle de la distribution effectuée à l'aide de pipettes.

De même, une interruption de la manipulation pour quelque cause que ce soit (crampes, fatigue, etc.) n'a, à l'encontre des cas habituels, aucune conséquence fâcheuse, le liquide étant à l'abri de toute souillure.

Nous espérons et désirons que maintes recherches réellement difficiles quant à la nécessité de répartir en un grand nombre de récipients des liquides absolument stériles ou des suspensions de germes, en quantités strictement déterminées, pourront désormais être essayées ou entreprises avec le dit appareil.

Résumé

Nous avons décrit un *distributeur stérile,* qui permet de répartir stérilement des quantités déterminées et plus ou moins variables de liquides dans un grand nombre de récipients. Son domaine d'application s'étend principalement aux recherches microbiologiques.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit haben wir einen *Steril-Verteilapparat* beschrieben, der die Möglichkeit bietet, kleinere oder grössere abgestufte Mengen Flüssigkeit in zahlreiche Gefässe keimfrei zu verteilen. Er eignet sich ganz besonders für mikrobiologische Untersuchungen.

Bibliographie

[1]) *Janke, A.* Die Verwendung von Steilbrust-Glasgeräten im mikrobiologischen Laboratorium. Ztbl. f. Bakt. II. **105,** 459—466, 1943.

[2]) *Novel, E.H.* Le rôle des dilutions dans la numération des germes microbiens. Thèse Doct. ès sc. No 1056, Genève, 1943.

[3]) *Peragallo, I.* Tecnica microbiologica. Tomo I, Hoepli, Milano, 1945.

[4]) *Pratt, R.* Influence of the size of the inoculum on the growth of *Chlorella vulgaris* in freshly prepared culture medium. Am. J. Bot. **27,** 52—56, 1940.

[5]) *Tamiya, H.* Studien über die Stoffwechselphysiologie von *Aspergillus oryzae* II. Acta phytochim. **4,** 77—213, 1928.

Bücherbesprechung

Revue des livres

«Infestation Control Rats and Mice»

Verlag London: His Majesty's Stationery Office, 1946, 36 Seiten
(The British Council)

Im ersten Kapitel werden die zoologischen Merkmale der verschiedenen hier in Frage stehenden schädlichen Nagetiere beschrieben und es erfolgen Hinweise auf die Schäden, die durch dieselben verursacht werden. Viele sehr gute Bilder illustrieren instruktiv das Gesagte. Der Hauptteil dieses Büchleins beschäftigt sich mit der Bekämpfung von Ratten und Mäusen im Haushalt, in Städten und auf dem Lande. Das Gewicht wird bei der Bekämpfung weniger auf die Rattengifte und Rattenseren gelegt, als vielmehr auf die Bekämpfung