

A propos de l'analyse bactériologique quantitative : quel nombre maximum de colonies peut-on compter, à l'œil nu, sur un Petri ordinaire?

Autor(en): **Novel, E.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **40 (1949)**

Heft 3-4

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983792>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

A propos de l'analyse bactériologique quantitative

Quel nombre maximum de colonies peut-on compter,
à l'œil nu, sur un Petri ordinaire ?

par E. Novel

Chef du Service cantonal d'analyses bactériologiques
(Institut d'Hygiène Genève)

Il est évident que, pour des raisons d'ordre pratique et technique, on ne peut compter un nombre illimité de colonies à l'œil nu. Au-dessus d'un certain nombre de colonies par plaque, il est impossible d'arriver à un résultat exact. Ce dernier, en effet, sera entaché d'une erreur d'autant plus manifeste que le nombre des colonies sera plus élevé, car la difficulté du dénombrement sera accrue en raison même de la multitude des colonies. Lorsque les colonies développées sur une boîte de Petri usuelle (9 cm. de diamètre) sont peu nombreuses, le problème ne se pose pas: le dénombrement à l'œil nu sera facile et exact. Si la plaque comporte plusieurs centaines de colonies, la numération du nombre absolu des germes va devenir difficile et, à partir du millier de colonies, elle peut être, le plus souvent, tout à fait erronée.

Dès que les colonies sont proches les unes des autres, elles menacent de confluer; elles peuvent également se recouvrir partiellement ou complètement. Il n'est pas rare de ne compter, dans ce cas, qu'une unique colonie alors qu'en réalité il s'agit bel et bien de 2, voire de 3 groupements coloniaux, dont 2 sont issus de la confluence de 2 colonies primitivement séparées recouvrant une troisième colonie qui, de ce fait, passe inaperçue.

Il y a donc une limite de richesse en germes qu'il convient de ne pas dépasser si l'on ne veut pas s'exposer à de trop grossières erreurs dans le dénombrement, effectué à l'œil nu, des colonies. Mais quelle est cette limite et comment la déterminer expérimentalement?

Les bactériologistes américains ont fixé à 300 le nombre maximum de colonies que l'on peut admettre sur une plaque. *Regnier* et *Lamblin* en autorisent 400. *Richter* utilise encore des plaques comprenant 600 colonies.

Nous avons effectué, à notre tour, un certain nombre d'expériences afin de rechercher le maximum de germes qu'un opérateur exercé et accoutumé à ce genre de travail peut dénombrer sans erreur.

Recherches personnelles

Nous avons procédé à trois séries d'expériences, à savoir:

I. *Une première série* comportant un certain nombre de plaques (Petri de 9 cm. de diam.) sur lesquelles les colonies microbiennes étaient, macroscopiquement, réparties uniformément dans la totalité du milieu nutritif.

II. *Une deuxième série* comportant plusieurs Petri sur lesquels la dispersion des colonies dans le substratum nutritif était mal réalisée.

III. *Une troisième série* comportant le dénombrement des colonies développées sur une seule et même plaque, dénombrement effectué par plusieurs observateurs.

Technique du dénombrement. — Pour chaque plaque de Petri et pour chacune des séries, nous avons utilisé la même technique de dénombrement.

Le Petri est placé — couvercle en bas, boîte interne en haut, du côté de l'observateur — sur fond noir (verre fumé, à défaut papier carbone). De cette façon, les colonies se détachent très nettement. Tous les dénombrements sont conduits à la lumière naturelle, près d'une fenêtre dans une pièce bien éclairée. Chaque colonie comptée est marquée d'un point à l'encre, sur le verre, afin d'éviter toute répétition.

Chaque plaque est comptée à 5 reprises. Les 5 numérations d'un même Petri sont effectuées le même jour, à 1—2 heures d'intervalle, afin de reposer l'expérimentateur et que le facteur fatigue visuelle n'intervienne pas pour fausser l'exactitude des résultats. Entre chaque numération le Petri est placé à la glacière (+ 2°) pour éviter toute multiplication microbienne et, en conséquence, l'apparition de nouvelles colonies.

Première série d'expériences

Tableau 1

Plaques comportant une distribution macroscopique parfaite des colonies dans le milieu

	Plaque 1		Plaque 2		Plaque 3		Plaque 4		Plaque 5		Plaque 6		Plaque 7	
	Nombre de germes	Durée du dénombrement	Nombre de germes	Durée	Nombre de germes	Durée	Nombre de germes	Durée	Nombre de germes	Durée	Nombre de germes	Durée	Nombre de germes	Durée
1 ^{ère} numération	33	17"	148	1'39"	301	3'11"	586	7'10"	974	10'	1178	16'	1459	25'
2 ^e numération	33	18"	148	1'42"	301	3'25"	586	7'	974	11'	1178	17'	1460	30'
3 ^e numération	33	17"	148	1'30"	301	3'15"	586	7'20"	974	11'	1178	17'	1466	19'
4 ^e numération	33	16"	148	1'35"	301	3'20"	586	7'30"	974	12'	1177	15'	1464	20'
5 ^e numération	33	17"	148	1'42"	301	3'35"	586	7'20"	974	11'	1178	16'	1464	23'
Moyenne	33		148	1'32"	301	3'22"	586		974		1177,9		1462,8	

Il ressort du Tableau 1 qu'un technicien habile peut compter 1400 colonies sans erreur. La numération est longue: elle demande 20 minutes, en moyenne.

La durée d'une telle opération est excessive. Elle astreint l'opérateur à une vigilance constante et à une fatigue visuelle qui n'est pas négligeable. Comme d'ordinaire, on emploie 5 plaques pour la numération d'un échantillon de matière à analyser, le temps employé serait, pour le dénombrement d'une série de 2 heures au minimum.

Deuxième série d'expériences

Les plaques utilisées dans la deuxième série d'expériences montraient une inégale dispersion des colonies dans le substratum nutritif. La majorité des germes s'étaient développés dans une portion minime du milieu. Les colonies étaient serrées les unes près des autres. De grands espaces étaient vierges de tout ensemencement.

Tableau 2

Plaques à mauvaise dispersion macroscopique des colonies

	Plaque 8	Plaque 9	Plaque 10	Plaque 11	Plaque 12
1ère numération	51	78	97	161	508
2e numération	51	80	100	160	514
3e numération	51	76	94	164	489
4e numération	51	75	93	163	470
5e numération	51	80	98	167	498

La deuxième série d'expériences montre qu'une mauvaise dispersion des germes dans le milieu rend difficile une numération exacte et abaisse considérablement la somme des germes qui peuvent être dénombrés sans erreur. Une plaque comportant moins de 100 germes peut déjà donner lieu à un dénombrement imparfait (plaques 9 et 10, tableau 2).

En conséquence, il convient d'éliminer, avant même le dénombrement, les plaques qui présentent à la simple inspection macroscopique une dispersion inégale des germes. Il résulte de ce fait que, pratiquement, il faut ensemencer un certain nombre de plaques en plus du contingent habituel utilisé — 10 plaques au lieu de 5, par exemple — et de ne choisir, pour la numération, que celles où les colonies sont régulièrement distribuées.

Troisième série d'expériences

Trois observateurs différents comptent, successivement, une même plaque sur laquelle les germes sont bien distribués, et ce, à 5 reprises.

Nous avons fait appel, pour cela, à deux laborantines particulièrement méticuleuses et appliquées, auxquelles nous avons recommandé une exactitude aussi fidèle que possible. Pour plus de sûreté, nous ne leur avons signalé le but du dénombrement qu'après coup, de même que nous leur avons caché qu'il s'agissait d'une même plaque.

Tableau 3

Même plaque comptée à 5 reprises par 3 observateurs

	Observateur I <i>M. N.</i>	Observateur II <i>Mlle L.</i>	Observateur III <i>Mlle T.</i>
1ère numération	301	301	300
2e numération	301	304	298
3e numération	301	314	312
4e numération	301	301	322
5e numération	301	310	400 (!)

Ces expériences sont riches d'enseignements. Elles montrent que le «facteur personnel» joue un rôle plus considérable que l'on ne le croit communément.

Si nous examinons les chiffres donnés par la première numération et pour chacun des observateurs, nous voyons qu'ils concordent presque parfaitement. Dès le second dénombrement, ils ne sont plus identiques. Il y a une erreur en plus (+ 3) pour l'observateur II et une erreur en moins (— 3) pour l'observateur III, si l'on admet pour exact le nombre 301 donné par l'observateur I.

Dès la troisième numération, la fatigue semble se faire sentir — bien que chaque dénombrement ait été fait à une heure d'intervalle — et l'exactitude des résultats s'en ressent. C'est pourquoi, sans doute, l'on obtient des résultats dissemblables alors que l'élément dispersion des colonies, dans ce cas précis, n'est pas en cause. Mais, plus sûrement intervient le «facteur personnel», la personnalité — avec ses qualités et ses défauts — le «comportement» de l'opérateur. Le dénombrement est, en effet, astreignant mais monotone. Il exige un souci constant d'exactitude, un mécanisme du geste (marquage des colonies) en corrélation parfaite avec le dénombrement mental: cinquante, cinquante-et-un, cinquante-deux . . . , soixante-six, soixante-sept . . . Si l'esprit de l'observateur s'égare ou rêve, ne fût-ce que quelques secondes, la numération sera entachée d'erreurs. Il vaut mieux, si l'on s'en aperçoit — mais ce n'est pas toujours le cas — recommencer l'opération. Lors de la cinquième numération, l'observateur III atteint un chiffre de 400, ce qui est manifestement erroné, mais d'une explication simple. En effet, l'on compte, pratiquement, les colonies de 1 à 100. A chaque centaine, l'on marque un trait sur une feuille de papier réservée à cet effet. L'observateur III a probablement tracé un trait de trop soit en le doublant à l'arrêt d'une centaine (disons 200 III) ou, ce qui arrive plus

fréquemment, en sautant plusieurs dizaines durant le dénombrement mental (cinquante-huit, cinquante-neuf, *septante*, septante-et-un) et cela, parfois, à plusieurs reprises. C'est pour cette raison que maints opérateur se servent d'un compteur automatique qu'il ne faut toutefois pas oublier d'actionner à chaque colonie pointée. Quelquefois l'observateur interprète de façon différente le même cas lors de plusieurs numérations successives: deux colonies commencent à confluer, mais sont nées visiblement encore de deux germes séparés; une fois (à la première numération, par exemple) l'opérateur ne les comptera que pour une unique colonie, une autre fois (à la 3^e ou 4^e numération, par exemple), pour deux colonies différentes. Il se peut même qu'il lui arrive d'oublier une ou plusieurs colonies, malgré une inspection minutieuse de la plaque. Cette négligence — involontaire — comme le signale également *Mudge*, est donc une cause de variation dans la numération bactérienne.

Résumé

1^o Un microbiologiste expérimenté et accoutumé à la technique des dénombrements peut compter, à l'oeil nu, sans erreur 1400 colonies sur Petri ordinaire de 9 cm. de diamètre, cela pour autant que la dispersion des germes dans le milieu soit parfaite.

2^o Etant donnée qu'un dénombrement comporte, d'ordinaire, de 3 à 5 plaques par série, il ne convient d'utiliser que des boîtes d'une richesse de 700 colonies au plus. La numération sera facilitée et le temps exigé pour une série ne dépassera pas cinquante minutes.

Nous estimons donc que 700 est le nombre maximum de colonies qui peut être, dans les conditions techniques usuelles, compté sur Petri.

3^o Il convient d'écarter les plaques dont la dispersion des conglomerats coloniaux est inégale, la numération étant, en ce cas, entachée d'une erreur allant de 2 à 7 %, dès que les Petri décèlent une richesse en colonies supérieure à 100.

4^o En conséquence, il est nécessaire d'ensemencer un nombre de plaques plus élevé que le minimum habituellement employé et de choisir parmi elles celles qui, seules, montrent une dispersion uniforme des colonies.

5^o L'exactitude de la numération est d'autant plus assurée que l'observateur est plus accoutumé à cet «exercice» et qu'il possède, par surcroît, les qualités «personnelles» requises.

Des observateurs différents s'appliquant à dénombrer une même plaque peuvent obtenir — nolens sed non volens — des résultats comportant une erreur de 4 à 20 %.

Zusammenfassung

1. Ein erfahrener und in der Technik der Auszählung geübter Mikrobiologe kann mit blossem Auge fehlerfrei bis zu 1400 Kolonien pro Petrischale zu 9 cm Durchmesser zählen, vorausgesetzt, dass die Verteilung der Keime auf dem Nährboden eine regelmässige ist.

2. Unter der Annahme, dass für eine Auswertung normalerweise 3—5 Platten pro Serie verwendet werden, ist es ratsam, Kulturen anzusetzen, welche nicht mehr als 700 Kolonien enthalten. Auf diese Weise wird die Auszählung erleichtert, und die erforderliche Zeit überschreitet pro Serie 50 Minuten nicht.

Wir finden deshalb, dass die Zahl von 700 das Maximum an Kolonien darstellt, welche unter normalen technischen Bedingungen in einer Petrischale ausgezählt werden kann.

3. Es ist empfehlenswert, diejenigen Platten auszumerzen, die eine unregelmässige Verteilung der Kolonien aufweisen; die Auszählung solcher Platten wäre mit einem Fehler von 2—7 % behaftet, sobald sie mehr als 100 Kolonien enthalten.

4. Es ist aus diesem Grunde ratsam, eine grössere Zahl von Platten anzusetzen, als normalerweise für eine Auswertung nötig ist und daraus diejenigen zu verwenden, welche eine gleichmässige Verteilung der Kolonien aufweisen.

5. Die Genauigkeit der Auszählung steigt mit zunehmender Übung des Beobachters, der sich ausserdem persönlich noch dazu eignen muss.

Die Resultate verschiedener Beobachter, welche die gleiche Platte auszählen haben, können, ungewollt, um 4—20 % voneinander abweichen.

Die bei der Trocknung von Silageproben im Trockenschrank auftretenden Verluste an flüchtigen Säuren und Basen

**und ihre Berücksichtigung bei der Bestimmung des Trockensubstanz- und
Nährstoffgehaltes von Grünfuttersilagen**

von *W. Schoch*

(Gutsverwaltung der eidg. landwirtschaftlichen Versuchsanstalten Liebefeld bei Bern)

Einleitung

Die Bestimmung des Trockensubstanzgehaltes eines Futtermittels erfolgt im allgemeinen in der Weise, dass eine genau abgewogene Menge der zu untersuchenden lufttrockenen Substanz während 3 Stunden bei 105° C getrocknet wird; der dabei eintretende Gewichtsverlust gilt als Wasser und der nach der Trocknung gewogene Rückstand als wasserfreie Substanz bzw. als Trockensubstanz. In vielen Fällen kann der Trockensubstanzgehalt von Futtermitteln mit dieser einfachen Methode hinlänglich genau bestimmt werden. Die nach diesem Verfahren ermittelten Ergebnisse sind jedoch unbefriedigend, wenn ein nennens-