

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 62 (1971)

Heft: 1

Artikel: Toujours le problème de la numération bactérienne : comment obtenir une bonne dispersion des germes dans la totalité du milieu?

Autor: Novel, Emilie

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983568>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 08.02.2025

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

Pourcentage d'eau dans le lait upérisé

$$\frac{0,528-0,512}{0,528} 100 = 3,0 \pm 0,6 \%$$

Cette augmentation du point de congélation est due essentiellement aux modifications physico-chimiques au cours du dégazage et des traitements thermiques (lait upérisés), ainsi qu'au «mouillage technologique».

Bibliographie

- Alais Ch.*: Etude des modifications survenant au cours de la conservation et du chauffage du lait. Industrie laitière no 218 et 219 (1965).
- Asperger H., Binder W.*: Beeinflussung des Gefrierpunktes der Milch durch die Behandlung und Verarbeitung. Oesterr. Milchwirtschaft, Wiss. Beil. 24, 19—22 (1969).
- Jenness R., Patton St.*: Principles of Dairy Chemistry, 1959 John Wiley & Sons Inc. New York, traduction allemande de *Zeilinger A.*, édition 1967 BLV Bayerischer Landwirtschaftsverlag GmbH.
- Schindlegger F., Gramberger K.*: Physikalische Stufenkontrolle des Milchweges zur Ermittlung technisch bedingter Verwässerung im Molkereibetrieb. Milchwirtschaftl. Berichte aus den Bundesanstalten Wolfpassing u. Rotholz (Oesterr.) Folge 11, 48 (1967).
- Schwartz D.*: Méthodes statistiques, Edition Flammarion, Paris (1970), p. 208.
- Wälzholz G., Lang R., Lembke A., Wasserfall F.*: Kieler Milchwirtschaftl. Forschungsberichte XIV (1) 23—44 (1962).
- Manuel suisse des denrées alimentaires*, 5ème édition, 2ème vol., partie spéciale 1/32, p. 33—35, publié en 1969, Centrale fédérale des imprimés et du matériel, Berne.
- Methods of Analysis*, Association of Official Agricultural Chemists (A.O.A.C.) tenth edition, Washington D. C. (1965).

Toujours le problème de la numération bactérienne

Comment obtenir une bonne dispersion des germes dans la totalité du milieu?

par *Emilie Novel*

(Service d'hydrobiologie et de microbiologie des denrées alimentaires)
Institut d'hygiène - Genève

Comment obtenir une bonne dispersion des germes dans la totalité du milieu?

Les auteurs sont peu prolixes sur la manière d'opérer un ensemencement destiné à permettre, par une bonne dispersion des colonies, une numération facile des germes. En effet, ce qu'il importe surtout d'obtenir c'est une distribution aussi

parfaite que possible des colonies, aussi bien en surface qu'à l'intérieur même du milieu nutritif choisi, afin que dans chaque partie de la plaque de Petri il se trouve des colonies en nombre à peu près égal. Il faut éviter à tout prix, pour autant bien entendu qu'il y ait un nombre suffisant de germesensemencés, d'avoir des espaces vierges entourés de zones denses où les colonies microbiennes se présentent, nombreuses, serrées jusqu'à devenir confluentes.

Or, si vous compulsez les manuels de technique microbiologique vous ne trouverez aucune indication précise sur le procédé d'ensemencement adéquat et sur la manière d'effectuer le mélange intime du matériel à analyser et du substratum nutritif de façon à assurer une bonne dispersion des micro-organismes.

Les renseignements trouvés à ce sujet peuvent, brièvement, se résumer ainsi: «après avoir, par un léger mouvement, disséminé uniformément le milieu sur le fond de la boîte de Petri, on le laisse solidifier en position horizontale». Mais comment techniquement parlant, disséminer uniformément les germes et par quel «léger mouvement»? Les expériences suivantes ont eu pour but de trouver un «modus operandi» qui assure, pour la majorité des plaquesensemencées, une dispersion maximale.

La technique usuelle consiste à mélanger une quantité connue de la suspension microbienne à dénombrer (cultures de bactéries, eau, lait, crème, beurre, etc. . . .) au milieu choisi (gélatine, gélose simple, gélose au petit lait, etc. . . .) préalablement liquéfié, puis à le verser — à le «couler» selon le terme classique établi — dans une plaque de Petri ou une plaque similaire.

Les micro-organismes se trouvent ainsi dispersés sur une grande surface et dans un grand volume et chaque germe, isolé, se multiplie abondamment et rapidement en formant bientôt une colonie. Cette dernière deviendra macroscopiquement visible après quelques jours de culture (de 24 heures à 17 jours) selon les conditions thermiques dans lesquelles se réalise la culture et en raison de la vitesse de multiplication du germe initial, géniteur de la colonie entière.

Partant de l'hypothèse — hypothèse qui se vérifie le plus souvent, mais qu'il conviendra d'examiner plus particulièrement le moment venu — que chacune des colonies ne doit son existence qu'à un unique micro-organisme, le dénombrement de ces colonies est donc égal au nombre de germes qui existaient à l'origine dans le matériel soumis à l'examen.

Techniques usuelles

A. Ensemencement en tubes

a) Le matériel à analyser est introduit, à raison d'une goutte de volume connu ($\frac{1}{10}$: $\frac{1}{20}$: $\frac{1}{50}$ de cc) dans le tube contenant le substratum nutritif, préalablement fondu. Afin d'obtenir une répartition uniforme des éléments microbiens dans le milieu, on roule le tube entre les paumes des mains, après l'avoir incliné en tous sens, en ayant soin de ne pas mouiller de bouchon d'ouate.

b) On coule ensuite en boîtes de Petri stériles. Après solidification, l'on porte à l'étuve à la température déterminée (20°C : 37 ou 50°C pour la numération des bactéries thermophiles).

B. Ensemencements en boîtes de Petri

a) Le matériel à examiner est porté, à la pipette, à raison d'une goutte de volume connu, dans le godet inférieur de la plaque de Petri après avoir soulevé son couvercle délicatement et à peu de hauteur.

b) Le milieu choisi, réparti en tube de 10 cc; 20 cc ou davantage, préalablement liquéfié est coulé, avec les précautions d'usage, dans la boîte.

On mélange, puis après solidification l'on porte à l'étuve.

Expériences

I. Selon la technique A (ensemencements en tubes) Expérience No 1

Cette expérience comportait l'ensemencement de 5 tubes de gélatine contenant 10 cc selon la technique indiquée sous A, au moyen d'une goutte d'I/20 de cc (soit 0,05 cc) d'une émulsion de *Bacterium coli* (1 anse de culture de 24 h sur agar-agar, laissée en contact 60 secondes dans 100 cc d'eau distillée stérile) par tube. Après mélange on coulait en boîtes de Petri usuelles (90 mm de diamètre intérieur).

La numération a été effectuée, microscopiquement, pour les plaques, à la loupe pour les tubes, après 10 jours d'étuve à 20° — 21° .

La distribution des germes dans le milieu, selon cette méthode, est presque parfaite: macroscopiquement, les colonies se montrent uniformément dispersées. Mais elle comporte un inconvénient majeur, source d'erreurs. En effet, l'introduction du liquide à examiner dans le tube ensemence la gélatine, comme il se doit. Mais lors de la répartition en plaques une petite quantité du milieu, quantité minimale il est vrai, reste adhérente au tube et un nombre plus ou moins considérable de germes, en rapport avec le richesse en bactéries de l'émulsion microbienne servant à l'ensemencement, cultivent à même le tube. Le nombre de colonies visibles dans la plaque de Petri est donc inférieur à ce qu'il devrait être en réalité puisque diminué de tous les micro-organismes qui sont restés accolés au tube d'ensemencement.

Quel est donc le nombre — et de là, le pourcentage — des germes restant adhérents aux tubes. Le tableau suivant va permettre de s'en faire une idée.

Petri et tube	Nombre de colonies dénombrées dans 30 ch. micr.	Nombre de colonies par plaque de Petri	Nombre de colonies par tube	Erreur en % en moins
1.	1,108	33,240	935	2,81
2.	917	27,510	1165	4,23
3.	1,187	35,610	892	2,50
4.	1,096	32,880	917	2,79
5.	1,355	40,650	1251	3,07
	total:	169,890	5160	3,03

Envisageons simplement le Petri et le tube désigné sous le No 1. Nous voyons que le nombre des microbes restés dans le tube est 935. Il manque donc ces 935 colonies à la boîte de Petri qui aurait de renfermer en réalité $33\,240 + 935 = 34\,175$ colonies, s'il avait été pratiquement possible d'introduire dans la plaque le volume total de la gélatine sans qu'il en restât la moindre parcelle dans le tube. L'erreur, en moins, est de 2,81 dans ce cas. Elle est, en moyenne, de 3 % environ. Pour n'être pas énorme elle n'en est pas moins sensible car, s'ajoutant aux autres causes d'erreur possibles — erreurs qui sont particulièrement nombreuses dans n'importe quel procédé de numération — elle amoindrit toutefois la valeur de la technique.

Il est évident que des résultats exacts peuvent être obtenus par cette méthode. Mais il faut laisser incuber alors et les plaques et les tubes puis, séparément, en compter les colonies. La somme des colonies dénombrées sur plaque plus la somme des colonies comptées sur tube donne le chiffre réel.

De ce fait le matériel est le double de celui utilisé habituellement, puisqu'à chaque Petri est adjoint supplémentaires un tube qui, lui aussi, doit rester à l'étuve. Si l'on doit procéder simultanément à un grand nombre d'examen, l'encombrement de l'incubateur est vite porté à son maximum; la numération elle-même demande plus de temps, étant donné la double manipulation (Petri et tube) à effectuer. De plus pour peu que le nombre des germes soit élevé, la numération — et c'est là l'inconvénient le plus sérieux de la méthode — des tubes devient malaisé pour ne pas dire impossible, puisque, pour ces derniers, l'on ne peut user du dénombrement microscopique.

II. Selon la technique B (ensemencement en boîtes de Petri)

Il est très simple, semble-t-il, de placer la goutte de l'émulsion microbienne, dont on veut dénombrer les germes, dans la plaque inférieure du Petri, puis couler ensuite le milieu fondu sur la goutte elle-même.

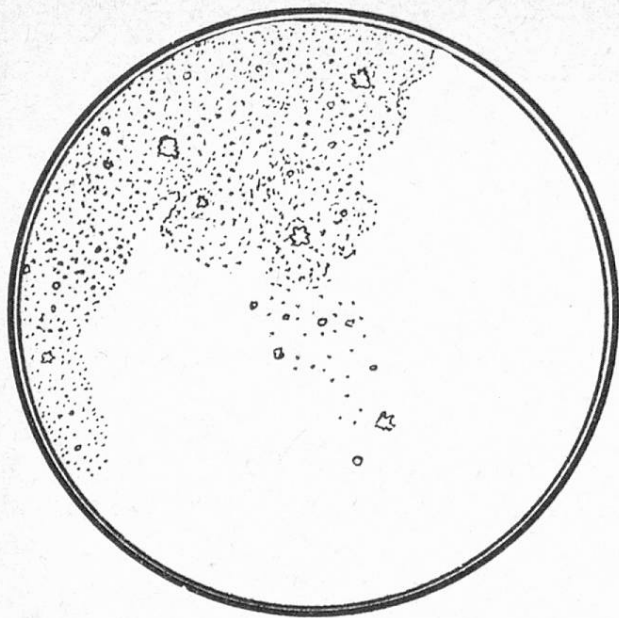


Figure 1



Figure 2

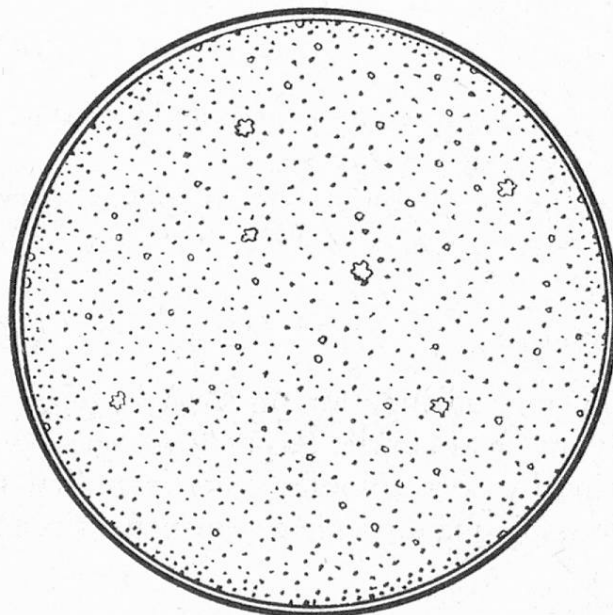


Figure 5

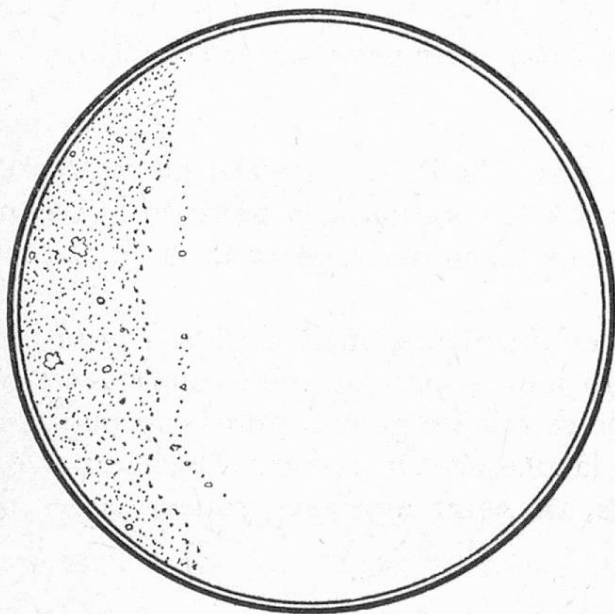


Figure 3

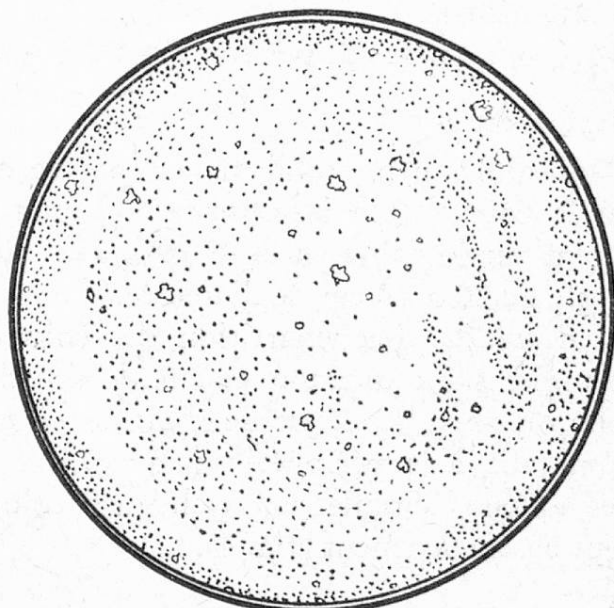


Figure 4

Mais alors où porter la goutte? Au centre ou à la périphérie de la plaque. Faut-il couler le milieu sur la goutte ou devant elle? L'entraînement mécanique déterminé par le coulage suffit-il à lui seul à répartir les germes? Est-il nécessaire de brasser, faiblement ou énergiquement, le mélange matériel à examiner-substratum nutritif?

C'est pour répondre à ces diverses questions que nous avons entrepris les expériences suivantes afin de trouver qu'elle est la technique la meilleure pour arriver à disperser les germes aussi uniformément que possible dans la totalité du milieu.

Technique générale. Chaque expérience comportait une série de 5 boîtes de Petri dont l'ensemencement était assuré par l'introduction dans chacune d'elles de 0,05 cc d'une émulsion microbienne constituée par le mélange d'une anse de culture (24 h) de colibacilles à 100 cc d'eau distillée stérile. Chaque Petri recevait 10 cc de gélatine nutritive fondue. Après 10 jours d'incubation à 20°—21° nous procédions à l'examen macroscopique des plaques.

Expérience No 2

La goutte de l'émulsion est placée au centre de la plaque. La gélatine est versée directement sur la goutte. Pas de brassage.

Résultats: La dispersion des colonies n'est pas réalisée. Les microbes sont entraînés en bloc et se portent, massivement, dans une même partie de la boîte (fig. 1).

Expérience No 3

La goutte d'émulsion microbienne est placée à la périphérie de la plaque. La gélatine est coulée en avant de la goutte. Pas de brassage.

Résultats: La distribution des colonies dans le milieu n'est pas obtenue. La portion périphérique de la plaque est seuleensemencée (fig. 2).

Expérience No 4

La goutte est placée à la périphérie de la boîte. La gélatine est coulée sur la goutte même.

Résultats: La dispersion des micro-organismes n'est pas réalisée (fig. 3).

Expérience No 5

L'émulsion microbienne est portée au centre du Petri. La gélatine est coulée sur la goutte. Puis on imprime un mouvement de rotation à la boîte en la tenant à plat sur la table en 3—4 doigts en lui faisant parcourir, presque sur place, un cercle de 20 à 30 cm de diamètre.

Résultats: La répartition des colonies est meilleure, mais durant l'agitation, la masse subit un mouvement de centrifugation — plus ou moins marqué et en relation avec la vitesse de rotation — et de ce fait les germes sont beaucoup plus nombreux à la périphérie qu'au centre de la plaque. On remarque même parfois des «phases circulaires» riches en colonies alternant avec des zones vierges de tout ensemencement (fig. 4).

Expérience No 6

La goutte est déposée au centre de la boîte. La gélatine est versée sur la goutte. On déplace ensuite la plaque latéralement en la faisant rapidement glisser, bien horizontalement, à même la table de droite à gauche et de gauche à droite (la course atteint 20 à 30 cm) à plusieurs reprises, puis perpendiculairement à cette direction en la rapprochant et en l'éloignant de l'opérateur à plusieurs reprises également. Il suffit d'imprimer à la boîte alternativement, 4 à 5 battements latéraux et 4 à 5 battements dans le sens N-S S-N, à raison de 2 courses par seconde environ, durant 30 secondes au moins et une minute au plus pour obtenir un résultat parfait.

Résultats: Les colonies sont réparties de façon uniforme dans la totalité du milieu (fig. 5).

Nous avons fait, complémentaiement, quelques essais en vue de déterminer quelle doit être la durée minimum d'agitation du milieu encore liquide pour obtenir une dispersion suffisante des germes. Après 10 secondes, 15, 20 secondes d'agitation la distribution des micro-organismes n'est pas encore complètement réalisée: l'on trouve des zones denses à côté de plages peu fournies en colonies. A partir d'une demi-minute d'agitation le résultat est bon. Il est inutile de brasser les plaques au delà d'une minute, la dispersion des colonies n'étant pas meilleure — tout au moins macroscopiquement — même si l'on prolonge plusieurs minutes encore l'agitation du Petri.

D'ailleurs si l'on doit ensemer de grandes séries de plaques, ce qui arrive assez souvent pratiquement, l'on a avantage à n'employer que le minimum de temps nécessaire à assurer un résultat donnant toute satisfaction, à moins que l'on puisse mobiliser un personnel nombreux simplement pour pratiquer le brassage des plaques.

De plus, si l'on utilise un milieu gélosé, celui-ci se solidifie rapidement — puisqu'on ne peut l'employer qu'à une température très proche de son point de gélification — et souvent même on ne peut atteindre les 30 secondes nécessaires et minima recommandées pour réaliser une bonne répartition des colonies.

Conclusions

Des expériences précédentes il ressort que deux techniques assurent une distribution uniforme des germes dans la totalité du milieu, à savoir:

1. La méthode utilisant l'ensemencement préalable des tubes (technique A).
2. La méthode portant directement le matériel à analyser au centre de la plaque, temps initial suivi immédiatement du «coulage» du milieu sur la goutte même. Après brassage minutieux, selon les indications précises mentionnées à l'expérience No 6, la parfaite répartition macroscopique des micro-organismes est réalisée.

Cette dernière méthode est celle que nous préconisons: utilisée en vue de la numération des germes, elle permet un dénombrement facile et, de ce fait, une

estimation exacte des colonies. La méthode A, en revanche, quoique assurant également une distribution homogène des bactéries, comporte une erreur en moins, de 3 % environ.

Résumé

La meilleure technique, selon l'auteur, afin d'obtenir une dispersion uniforme des germes, consiste à « couler » sur le matériel à analyser quantitativement (eau, lait, crème, etc.) déposé au centre du Petri, le milieu solide préalablement liquéfié. Après brassage latéral de gauche à droite et de haut en bas, successivement, durant une minute environ, l'homogénéisation est parfaite, et de ce fait le dénombrement ultérieur grandement facilité.

Bibliographie

- Calmette A., Boquet A., Nègre L. et Bretey J.*: Manuel technique de microbiologie et de sérologie, Masson, Paris (1948).
- Dorner W., Demont L. et Chavannes D.*: Microbiologie laitière. Payot, Lausanne (1952).
- Fairbrother R. W.*: A Text-Book of Bacteriology, Heinemann, Londres (1946).
- Frobisher M.*: Fundamentals of Microbiology, Saunders, Philadelphie, Londres (1962).
- Hallmann L.*: Bakteriologie und Serologie, 2e éd., Thieme, Stuttgart (1955).
- Hauduroy P.*: Microbiologie générale et technique microbiologique. Masson, Paris (1947) et Roth, Lausanne (1947).
- Mackie T. J. et Mc. Cartney J. E.*: Handbook of Practical Bacteriology, 7e éd. Livingstone, Edimbourg (1945).
- Nénot A.*: Contrôle bactériologique pratique des denrées alimentaires d'origine animale. Flammarion (1947).
- Novel E.*: L'analyse des eaux de consommation: A propos de la fermentation de la mannite par les micro-organismes des genres *Escherichia*, *Aerogenes* et *Klebsiella*. Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène, 1947, vol. 28, p. 361.
- Faut-il utiliser la gélose ou la gélatine lors de la numération des germes dans les analyses d'eau? Ces travaux, 1947, vol. 38, p. 376.
- De quelques causes d'erreur dans l'analyse bactériologique quantitative. Ces travaux, 1948, vol. 39, p. 245.
- A propos de l'analyse bactériologique quantitative des eaux et des coefficients d'incubation. Ces travaux, 1948, vol. 39, p. 36.
- Quel nombre maximum de colonies peut-on compter, à l'oeil nu, sur un Petri ordinaire? Ces travaux, 1949, vol. 40, p. 165.
- Dans quelle proportion les germes de l'air peuvent-ils polluer les plaques lors de l'ensemencement et durant l'incubation? Ces travaux, 1949, vol. 40, p. 255.
- Numération directe des bactéries (avec V. Bonifas). Annales de l'Institut Pasteur, 1952, vol. 83, p. 142.
- A propos de l'analyse colimétrique des eaux par la méthode des membranes filtrantes (avec P. Burkard), Trav. de chimie alim. et d'hygiène, 1959, vol. 50, p. 188.
- De la limite de précision de la méthode utilisant la technique des membranes filtrantes (avec P. Burkard), 1959, vol. 50, p. 292.
- La numération des germes microbiens. Ces travaux, 1968, vol. 59, p. 227.

Etude critique des diverses techniques de numération. Avantages, inconvénients, causes d'erreur, variations. Ces travaux, 1968, vol. 59, p. 216.

De quelques principes de statistique appliqués à la numération bactérienne. Ces travaux, 1968, vol. 59, p. 245.

Du rôle des dilutions préalables dans l'analyse bactériologique quantitative des denrées alimentaires. Ces travaux, 1969, vol. 60 p. 121.

Oberzill W.: Mikrobiologische Analytik. Verlag Hans Carl, Nurnberg, 1967.

Wilson G. S. et Miles A. A.: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 4e édit., Arnold, Londres (1955).

Ist das Brot als Nahrungsmittel noch aktuell?*

H. Aebi

(Medizinisch-chemisches Institut, Universität Bern)

Ist es überhaupt berechtigt, die Frage in dieser schroffen Formulierung zu stellen? Dies kann erst beurteilt werden, wenn die Ernährungsweise des modernen Menschen in ihrer Ganzheit betrachtet und mit derjenigen früherer Generationen verglichen wird. Es ist allgemein bekannt, daß sich unsere Ernährungsweise wie viele andere Lebensgewohnheiten mit fortschreitender Industrialisierung und Verstädterung tiefgreifend gewandelt haben. Dabei ist es allerdings schwierig, die ursächlichen Zusammenhänge im Einzelfall festzulegen. Als gesichert dürfen folgende Feststellungen gelten:

1. Dem modernen Menschen wird durch Maschine und Auto immer mehr körperliche Arbeit abgenommen. Er hat daher seine Kalorienzufuhr d. h. Nahrungsmenge entsprechend einzuschränken, sofern er die heute zu Recht zum erstrebenswerten Leitbild erhobene schlanke Linie beibehalten will. Im Bestreben, die Kalorienbilanz ausgeglichen zu halten, werden vorab die kohlenhydrat- und fettreichen Energieträger immer weniger konsumiert. Das ist an sich richtig, denn der große Feind der Volksgesundheit in unserer Wohlstandsgesellschaft heißt Ueberernährung.

2. Der immer rascher ablaufende, oft geradezu hektische Lebensrhythmus veranlaßt den Menschen, vermehrt derjenigen Kostform den Vorzug zu geben, die bei einem Minimum an Kau- und Verdauungsarbeit ein Maximum an Sättigung gibt und gleichzeitig eine anregende Wirkung ausübt. Deshalb ist der Durchschnittskonsument (jedenfalls in städtischen Verhältnissen) für eine voluminöse, ballaststoffreiche Nahrung immer weniger zu haben und wendet seine Gunst zunehmend einer konzentrierten Eiweißnahrung zu, obgleich diese ihn viel teurer zu stehen kommt. In diesem Sinne sind der starke Rückgang des durchschnittlichen Brotverzehr und des Kartoffelverbrauches sowie der zunehmende Fleischkonsum Ausdruck des steigenden materiellen Wohlstandes bzw. Folge einer Anpassung an die veränderte Lebensweise (Figur 1).

* Referat, gehalten am 27. 4. 71 in der Bäckereifachschule «Richmont», Luzern.