# Faut-il utiliser la gélose ou la gélatine lors de la numération des germes dans les analyses d'eau?

Autor(en): **Novel, Emile**

Objekttyp: **Article**

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

Band (Jahr): **38 (1947)**

Heft 6

PDF erstellt am: **24.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-983042

**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.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

**http://www.e-periodica.ch**

# Faut-il utiliser la gélose ou la gélatine lors de la numération des germes dans les analyses d'eau?

par *Emile Novel*

(Service cantonal d'analyses bactériologiques, Institut d'Hygiène, Genève)

La technique officielle donnée dans le «Manuel suisse des denrées alimentaires» laisse toute liberté au bactériologiste d'utiliser, comme milieux de culture, lors de la numération totale des germes contenus dans un volume déterminé d'eau, soit la gélose, soit la gélatine.

Quel est celui de ces deux milieux qui est le plus approprié? Donnent-ils l'un et l'autre des résultats absolument comparables? Quels sont leurs avantages ou leur inconvénients?

C'est à ces diverses questions que nous allons répondre d'après les résultats que nous avons obtenu par voie expérimentale.

Dans une série d'essais, nous avons voulu voir si le facteur milieu (gélose-gélatine) intervenait et s'il était possible de mettre en évidence une variation sensible dans le dénombrement total des microorganismes, en raison du substratum nutritif employé.

## *Expérience No 1*

A 1.000 cm³ d'eau distillée stérile, on mélange 0,01 cm³ d'une culture jeune (6 h.) en bouillon de colibacilles. Au moyen de 0,05 cm³ de l'émulsion microbienne ainsi préparée on ensemence, à la pipette, chacun des Petri de 3 séries — A, B et C — séries comportant chacune 5 plaques usuelles de 9 cm de diamètre. La gélose nutritive au bouillon de viande peptoné (gélose d'un même lot comportant 18 % d'agar-d'agar et ajustée à un pH de 7—7,2) est coulée dans chacune des plaques des séries A et B. Pour la série C c'est la gélatine nutritive (bouillon de viande peptoné auquel on ajoute 150 gr. de gélatine; pH 7—7,2) qui est choisie comme milieu. Chaque plaque reçoit 10 cm³ de milieu.

La première série (série A) est portée à l'étuve à 20—21° ainsi que la troisième série (série C). La seconde série (série B) est placée à l'étuve à 37°.

Le dénombrement des colonies est effectué, dans les trois séries, chaque jour et durant 20 jours consécutifs.

Les résultats obtenus sont collationnés dans les tableaux 1, 2 et 3.

*Tableau 1 Série A*

Milieu: Gélose Température d'incubation: 20—21°

| Plaque No | Nombre de colonies après x jours d'incubation | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1er | 2e | 3e | 4e | 5e | 6e | 7e | 8e | 9e | 10e | 11e | 12e | 13e | 16e—20e |
| 1 | 0 | 0 | 86 | 103 | 112 | 117 | 120 | 121 | 121 | 122 | 122 | 123 | 123 | 123 |
| 2 | 0 | 0 | 115 | 135 | 147 | 157 | 162 | 163 | 164 | 164 | 164 | 164 | 164 | 164 |
| 3 | 0 | 0 | 83 | 96 | 109 | 115 | 117 | 119 | 121 | 124 | 124 | 124 | 124 | 124 |
| 4 | 0 | 0 | 110 | 123 | 136 | 148 | 151 | 153 | 155 | 156 | 156 | 156 | 156 | 156 |
| 5 | 0 | 0 | 116 | 146 | 158 | 165 | 169 | 169 | 170 | 172 | 172 | 172 | 172 | 172 |
| Total | 0 | 0 | 510 | 603 | 662 | 702 | 719 | 725 | 731 | 738 | 738 | 739 | 739 | 739 |
| Augmentation quotidienne | 0 | 0 | 510 | 93 | 59 | 40 | 17 | 6 | 6 | 7 | 0 | 1 | 0 | 0 |

*Tableau 2 Série B*

Milieu: Gélose Température d'incubation: 37°

| Plaque No | Nombre de colonies après x jours d'incubation | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1er | 2e | 3e | 4e | 5e | 6e | 7e | du 8e au 20e jour |
| 1 | 169 | 178 | 179 | 179 | 179 | 179 | 179 | 179 |
| 2 | 156 | 166 | 169 | 170 | 171 | 171 | 171 | 171 |
| 3 | 173 | 175 | 177 | 178 | 178 | 178 | 178 | 178 |
| 4 | 148 | 165 | 166 | 166 | 166 | 166 | 166 | 166 |
| 5 | 188 | 192 | 192 | 192 | 192 | 192 | 192 | 192 |
| Total | 834 | 876 | 883 | 885 | 886 | 886 | 886 | 886 |
| Augmentation quotidienne | 834 | 42 | 7 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |

*Tableau 3 Série C*

Milieu: Gélatine Température d'incubation: 20—21°

| Plaque No | Nombre de colonies après x jours d'incubation | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1er | 2e | 3e | 4e | 5e | 6e | 7e | 8e | 9e | 10e | 11e | 12e | du 13 au 20e |
| 1 | 0 | 0 | 86 | 103 | 112 | 117 | 120 | 121 | 121 | 122 | 123 | 123 | 123 |
| 2 | 0 | 0 | 110 | 123 | 136 | 148 | 151 | 153 | 155 | 156 | 156 | 156 | 156 |
| 3 | 0 | 0 | 83 | 96 | 109 | 115 | 117 | 119 | 121 | 124 | 124 | 124 | 124 |
| 4 | 0 | 0 | 79 | 102 | 112 | 122 | 127 | 129 | 131 | 132 | 132 | 132 | 132 |
| 5 | 0 | 0 | 100 | 121 | 126 | 135 | 137 | 138 | 138 | 138 | 139 | 139 | 139 |
| Total | 0 | 0 | 458 | 545 | 595 | 637 | 652 | 660 | 666 | 672 | 674 | 674 | 674 |
| Augmentation quotidienne | 0 | 0 | 458 | 87 | 50 | 42 | 15 | 8 | 6 | 6 | 2 | 0 | 0 |

## *Résultats*

Dans les deux séries d'expériences (A et B) il n'y a qu'un facteur qui ait été modifié: la température. Le milieu employé est le même (gélose au macéré de viande) dans les deux cas. C'est non seulement de la gélose préparée selon la formule classique mais de la «même» gélose en ce sens que le milieu utilisé, soit 100 cm³ environ, a été prélevé d'un lot de 2 litres ajusté à un pH de 7—7,2, mileu qui a donc subi les mêmes phases de préparation, les mêmes temps de chauffe, la même durée de stérilisation. En conséquence, les facteurs milieu et pH ne peuvent intervenir comme causes de fluctuation puisque identiques dans les deux expériences. Seul le facteur température est modifié expérimentalement. L'on a veillé particulièrement à ce que la température soit régulière et persiste sans variation dépassant 1° (20 à 21°) tout au long des 20 jours d'incubation.

### *Série A, incubée à la température de 20—21°*

Les premières colonies visibles à l'oeil nu n'apparaissent qu'au troisième jour d'incubation. Leur diamètre est compris entre 0,5 et 2 mm.; leur différence de taille est déjà évidente: quelques-unes atteignent 2 mm., alors que la majorité d'entre elles sont plus petites et n'ont guère que 0,5 à 1 mm. de diamètre.

En suivant le développement de ces diverses colonies on s'aperçoit que certaines ont plus de vitalité que d'autres et grossissent plus rapidement. Cinq à six jours après leur naissance macroscopique, quelquefois plus tôt, rarement plus tard, l'accroissement cesse. Il ne suit pas d'ailleurs de règle précise. Si théori-

quement le développement s'effectue selon un multiplication logarithmique au début, bien vite les colonies n'augmentent que par à coup; il y a des phases de croissance et des phases de latence jusqu'au moment où la colonie a atteint son plein épanouissement. Toutes les colonies bien qu'appartenant à la même espèce microbienne n'atteignent pas le même volume: il en est qui restent petites alors que d'autres s'étendent jusqu'à avoir 3 à 4 mm. de diamètre et même davantage. Il faut évidemment comparer ce qui est comparable. En effet, les colonies développées en surface se trouvent dans des conditions d'aérobiose parfaite et, si elles sont peu nombreuses, elles ont à leur disposition le champ libre pour prendre une extension maximum tandis que les colonies développées à l'intérieur du substratum ont à vaincre et la pression qu'exerce sur elles le milieu les enrobant de toute part et la gêne respiratoire qu'apporte une anaérobiose relative encore que le bactérium coli soit un aérobie facultatif. Les colonies de surface sont toujours plus étendues et d'un diamètre supérieur aux colonies profondes, presque sphériques, à diamètre plus réduit.

Les colonies nouvelles apparaissent les 4e, 5e, 6e, 7e jusqu'au 13e jour. Du 14e au 20e jour, nous n'avons pas noté la naissance d'une colonie nouvelle sur aucune des plaques.

En serrant les résultats de plus près, nous voyons que c'est le troisième jour que la majorité (69 %) des colonies deviennent visibles à l'oeil nu, puis chaque jour, jusqu'au treizième jour, apparaissent de nouvelles colonies, mais en nombre de moins élevé à mesure que s'accroît la durée de l'incubation.

Il ressort donc de cette expérience qu'à 20—21°, sur gélose, de nouvelles colonies d'Escherichia coli peuvent apparaître jusqu'au treizième jour. Il est nécessaire, en conséquence, de laisser les plaques à l'incubation durant 13 jours pour que tous les germes susceptibles de végéter donnent naissance à une colonie macroscopiquement visible.

*Série B, incubée à la température de 37°*

Les premières colonies apparaissent après 24 heures de culture à l'étuve à 37°. Leur diamètre atteint jusqu'à 2 mm. de diamètre. A une telle température, elles grossissent rapidement et arrivent à leur parfait développement en trois jours déjà. Mais nous notons, là encore, des différences de taille entre les diverses colonies, soit de surface, soit de profondeur. L'apparition de nouvelles colonies se succède à rythme décroissant jusqu'au 5e jour. Aucune colonie nouvelle n'a pu être décelée à partir du 6e jour, bien que l'inspection des plaques ait été conduite jusqu'au 20e jour.

La majorité des colonies, plus du 94 %, se sont développées durant les permières 24 heures. Un certain nombre d'entre elles deviennent visibles le second jour. Quelques colonies apparaissent encore le 3e jour, puis, par unité, les 4e, 5e et 6e jour. Sur la plaque 5 toutes les colonies que comportait finalement la culture (192 colonies) étaient déjà visibles le 2e jour.

Il ressort donc de cette expérience que, sur gélose et à la température de 37°, de nouvelles colonies d'Escherichia coli peuvent apparaître jusqu'au 6e jour. Il est nécessaire, en conséquence, de laisser incuber les plaques à l'étuve sept jours durant.

*Quelle a été l'influence de la température ?*

En comparant les résultats des séries A et B, nous remarquons immédiatement que pour l'espèce envisagée, la croissance a été beaucoup plus rapide à 37° qu'à 20—21°. Ce fait n'a rien pour nous étonner puisque l'optimum d'Escherichia coli est justement 37°, température à laquelle la multiplication atteint son maximum de rapidité. Par contre, si la majorité des germes a pu être mise en évidence après 24 heures en culture à 37° il a fallu attendre le 3e jour en culture à 20—21° pour percevoir macroscopiquement l'apparition des premières colonies Le 69 % des germes devient visible ce jour-là. Cette constatation nous permet d'admettre que certains éléments microbiens ont de la peine à se reproduire ou ne peuvent le faire que lentement. Il y en a qui, probablement, quoique vivants au moment de l'ensemencements n'arrivent pas à se multiplier à une température inférieure à la température optima. C'est pour cette raison, nous semble-t-il, que le nombre moyen des colonies par plaque est nettement inférieur (147,8) à la température de 20° à celui des colonies ayant cultivé à la température de 37°.

On pourrait objecter que tous les germes ont certainement commencé à se multiplier mais qu'ils n'ont pu *tous* former de colonies macroscopiques. Les colonies visibles ne sont-elles pas, en effet, de dimensions variées ? Certainement. Cela prouverait que selon la plus ou moins grande vitalité du germe initial, selon sa potentialité reproductrice, il n'aurait pas eu la puissance de «procréer» un groupement colonial étendu. Certaines colonies seraient donc restées invisibles à l'oeil nu. Pour vérifier expérimentalement cette objection — pour la confirmer ou l'infirmer — nous avons inspecté minutieusement au microscope, à un grossissement de 60 fois, chacune des plaques après le 20e jour de culture: nous n'avons jamais pu déceler une colonie qui ne serait restée qu'à l'état de groupement microscopique. Il semble donc bien que certains germes n'ont point donné de descendance en culture à 20° alors qu'ils auraient peut-être eu cette possibilité s'ils avaient été placés à la température optimum de croissance. Il se pourrait pourtant que quelques bactéries aient réussi à opérer plusieurs divisions successives sans pouvoir cependant former de colonies qui puissent devenir suffisamment volumineuses pour être vues à un faible grossissement microscopique. Mais même en ce cas, l'on aurait certainement trouvé au microscope de très petites colonies microscopiques — de petites et même de moyennes et de grandes colonies microscopiques, tout comme l'on voit de petites, de moyennes et de grandes colonies macroscopiques — dont les dimensions s'échelonneraient graduellement dans le «visible microscopique». Rien de tel: toutes les colonies sont visibles macroscopiquement: aucune qui ne le soit que microscopiquement. Il est donc

évident que tous les germes qui ont été capables de se multiplier sont arrivés à former un groupement colonial visible à l'oeil nu.

Il est entendu que ces considérations ne s'appliquent qu'à l'espèce étudiée. Il n'en est pas obligatoirement de même pour les cultures comportant plusieurs espèces microbiennes où un certain nombre de colonies n'atteignent jamais des dimensions macroscopiques et ne peuvent être décelées qu'à l'aide du microscope.

*Série C*

Dans cette série, le seul facteur modifié expérimentalement a été le milieu (gélatine en lieu et place de gélose). Les résultats (tableau 4) peuvent se commenter rapidement. Les colonies apparaissent dès le 3e jour. Puis à chacun des jours suivants et jusqu'au 11e jour des colonies nouvelles deviennent macroscopiquement visibles en nombre régulièrement décroissant au fur et à mesure que s'accroît la durée d'incubation. Aucune nouvelle colonie n'a pu être notée après le 11e jour de séjour à l'étuve.

*Tableau 4 Série C*

Milieu: Gélatine Température d'incubation: 20—21°

| Après incubation de | Colonies dénombrées | Augmentation en 24 h. | Augmentation en % en 24 h. | % des colonies developpées |
|---|---|---|---|---|
| 24 h. | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 h. | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3e j. | 458 | 458 | 67,9 | 67,9 |
| 4e j. | 545 | 87 | 13 | 80,9 |
| 5e j. | 595 | 50 | 7,4 | 88,3 |
| 6e j. | 637 | 42 | 6,2 | 94,5 |
| 7e j. | 652 | 15 | 2,2 | 96,7 |
| 8e j. | 660 | 8 | 1,2 | 97,9 |
| 9e j. | 666 | 6 | 0,9 | 98,8 |
| 10e j. | 672 | 6 | 0,9 | 99,7 |
| 11e j. | 674 | 2 | 0,3 | 100 |
| 12e j. | 674 | 0 | 0 | 100 |
| 13 au 20e j. | 674 | 0 | 0 | 100 |

Il résulte donc de cette expérience que sur gélatine nutritive et à 20—21°, tous les germes capables de proliférer ont formé leur colonie dans les 11 premiers jours.

*Etude comparative des séries A et B*

La température d'incubation ayant été identique (20—21°) dans les deux cas, nous pouvons étudier comparativement les résultats des séries A et C. Toutes deux ayant séjourné à l'étuve durant le même temps (20 jours), les variations — si variations il y a — ne pourront être portées au compte que du seul facteur modifié expérimentalement: le milieu.

*Tableau 5*

| Série | Nombre des plaques | Total des germes dénombrés sur 5 plaques | Moyenne | Médiane | Résultats extrêmes | Ecart-type | Coefficient de variation | Moyenne probable comprise entre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 5 | 739 | 147,8 | 156 | 123—172 | 20,5 | 13,9 | 129, 18—166,42 |
| C | 5 | 674 | 134,8 | 132 | 123—156 | 12,1 | 8,9 | 123, 80—145,80 |

A première vue, l'on pourrait croire, d'après le nombre de germes décelés, que la gélose est un milieu plus favorable au développement du bacterium coli que la gélatine, puisque nous obtenons une différence de 65 colonies en plus (total des 5 plaques) en faveur de la culture sur gélose. De même, et en conséquence, la moyenne des colonies par plaque est légèrement plus élevée (de 12,7 colonies) sur gélose que sur gélatine. Or, nous l'avons vu, le colibacille est une espèce qui supporte facilement sans en être incommodée des fluctuations importantes de température et de pH et à laquelle tous les milieux usuels permettent une croissance luxuriante et rapide. Il semble donc bien que le substratum mis à sa disposition doit lui être indifférent, pour autant, bien entendu, qu'il puisse y trouver toutes les substances nutritives dont il a besoin et qu'on le place dans des conditions de culture eugénésiques, ce qui est bien le cas des séries A et C. Ne forçons-nous pas les chiffres obtenus à révéler plus de renseignements qu'ils n'en peuvent donner? Si nous examinons dans quelles limites la probabilité des moyennes peut varier, nous voyons que pour la série A la moyenne est certainement comprise entre 129 et 166 alors que pour la série C elle est comprise entre 124 et 146. Nous remarquons donc que la fluctuation probable de la moyenne de la série C se trouve presque entièrement englobée dans la variation probable de la série A. L'on ne peut assurer, en conséquence, que la différence entre les valeurs les plus probables des moyennes (147,8 et 134,8) soit déterminante comme preuve de l'influence du milieu.

## *Expérience No 2*

La plupart des auteurs incriminent la multiplicité des espèces qui peuplent un matériel quelconque (eau, lait, etc.) comme cause déterminant la nécessité de prolonger la durée d'incubation aussi longtemps qu'apparaissent de nouvelles colonies. Cela est certainement vrai, mais «pro parte» seulement. Nous venons de montrer (expérience précédente) que, quand bien même il s'agit d'une *unique espèce microbienne,* l'on est dans l'obligation de laisser les cultures à l'étuve pendant un certain temps avant que *toutes* les colonies deviennent macroscopiquement visibles. C'est donc non seulement l'espèce qui conditionne la rapidité avec laquelle peut se constituer une colonie, mais également *l'individualité du germe* de l'espèce lequel en raison de sa faible ou de sa forte potentialité créatrice se multipliera avec peu ou beaucoup de vigueur et formera, en conséquence, une colonie minuscule ou volumineuse. Il n'est pas certain, par ailleurs, que tous les germes vivants à la mise en culture soient capables de se multiplier. Il en est, fort probablement, qui sont «stériles» et n'arriveront pas à donner de descendance comme l'on connait des individus qui placés dans des conditions favorisant la sporulation ne forment pas de spores bien que l'espèce à laquelle ils appartiennent ait cette possibilité.

Nous voulons donc résoudre le problème: à température fixe donnée et sur milieu approprié, un matériel comportant plusieurs espèces microbiennes demandera-t-il pour que toutes les colonies puissent apparaître, une durée d'incubation plus longue qu'un matériel monomicrobien ?

Pour ce faire, nous avons choisi comme matériel polymicrobien l'eau du réseau de la ville de Genève, prélevée à la fontaine de la rue des bains. Nous avons conduit l'expérience selon le protocole suivant:

*Série I:* Ensemencement de 5 boites de Petri au moyen de 0,05 $cm^3$ d'eau par plaque. Milieu: gélatine nutritive.

*Série II:* Ensemencement de 5 Petri au moyen de 0,05 $cm^3$ d'eau par plaque. Milieu: gélose nutritive.

La température d'incubation choisie a été de 20—21$^0$. C'est en effet, à une telle température que l'on décèle le maximum de germes: elle n'est pas trop élevée pour inhiber la croissance des microbes d'origine purement hydrique et elle n'est certainement point trop basse pour ne pas permettre la multiplication de diverses espèces dont le minimum thermique de croissance se trouve aux environs de 20$^0$. C'est le cas notamment des microbes pathogènes que l'eau pourrait renfermer.

Toutes les plaques ont été inspectées chaque jour et 20 jours durant: nous avons noté le jour d'apparition des colonies nouvelles (tableau 6 et 7).

*Tableau 6 Série I*

Milieu: Gélatine Température d'incubation: 20—21°

| Plaque No | Nombre de colonies après x jours d'incubation | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1er | 2e | 3e | 4e | 5e | 6e | 7e | 8e | 9e | 10e | 11e | 12e | 13e | 14e—20e |
| 1 | 0 | 1 | 2 | 5 | 5 | 6 | 7 | 7 | 8 | 8 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 2 | 0 | 1 | 4 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 8 | 8 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 3 | 0 | 3 | 3 | 5 | 7 | 7 | 8 | 9 | 9 | 10 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| 4 | 0 | 3 | 5 | 9 | 11 | 13 | 15 | 15 | 17 | 17 | 17 | 17 | 18 | 18 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 3 | 4 | 4 | 5 | 9 | 10 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Total | 0 | 8 | 14 | 28 | 33 | 36 | 41 | 46 | 52 | 55 | 58 | 59 | 61 | 62 |
| Augmentation quotidienne | 0 | +8 | +6 | +14 | +5 | +3 | +5 | +5 | +6 | +3 | +3 | +1 | +2 | +1 |

*Tableau 7 Série II*

Milieu: Gélose Température d'incubation: 20—21°

| Plaque No | Nombre de colonies après x jours d'incubation | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1er | 2e | 3e | 4e | 5e | 6e | 7e | 8e | 9e | 10e | 11e | 12e | 13e | 14e—20e |
| 1 | 0 | 0 | 3 | 5 | 9 | 9 | 9 | 10 | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| 2 | 0 | 2 | 3 | 3 | 5 | 6 | 6 | 7 | 8 | 10 | 10 | 10 | 11 | 11 |
| 3 | 0 | 1 | 6 | 9 | 11 | 13 | 14 | 15 | 16 | 16 | 16 | 17 | 18 | 18 |
| 4 | 0 | 2 | 5 | 7 | 8 | 8 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 10 | 10 |
| 5 | 0 | 0 | 3 | 6 | 7 | 8 | 9 | 9 | 9 | 10 | 10 | 11 | 11 | 11 |
| Total | 0 | 5 | 20 | 30 | 40 | 44 | 47 | 50 | 53 | 56 | 56 | 59 | 62 | 62 |
| Augmentation quotidienne | 0 | +5 | +15 | +10 | +10 | +4 | +3 | +3 | +3 | +3 | 0 | +3 | +3 | 0 |

*Série I:* Les premières colonies apparaissent après 48 h. d'étuve. L'augmentation résultant de la «naissance» de colonies nouvelles est relativement régulière puisqu'elle est, pour la somme des colonies visibles sur les 5 plaques de 8, 6, 14, 5, 3, 5, 5 et 6 colonies du 2e au 9e jour. Elle baisse ensuite presque graduellement de 3, 3, 1, 2, 1 à 0 colonie du 10e au 15e jour. Nous n'avons pas noté l'apparition de colonies nouvelles du 15e au 20e jour.

Il ressort donc de cette expérience que dans les conditions thermiques fixées, tous les germes capables de se multiplier sur gélatine ont formé une colonie, visible macroscopiquement, durant les 14 premiers jours d'incubation.

*Série II:* Les premières colonies apparaissent également après 48 h. de culture. Le nombre des colonies s'accroît assez régulièrement durant les premiers jours (5, 15, 10 et 10 colonies nouvelles du 2e au 5e jour) puis tombe de 4 à 3, 3, 3, 3, 0, 3 colonies du 6e au 13e jour.

Il ressort donc de cette expérience qu'après 13 jours d'incubation de 20—21°, tous les germes susceptibles de végéter sur gélose ont formé une colonie macroscopiquement visible.

*Examen comparatif des résultats des séries I et II.* Si nous comparons les résultats des séries I et II, nous pouvons formuler les considérations suivantes:

1° Les résultats sont d'une concordance parfaite. Nous arrivons, en effet, pour la série I aussi bien que pour la série II, à un total de 62 germes, somme des colonies dénombrées sur 5 plaques, soit 248 germes au $cm^3$.

2° L'influence du milieu, — la gélose et la gélatine ayant été ajustée au même pH (7—7,2) — a donc été nulle dans le cas particulier.

3° Dans les deux séries aucune colonie nouvelle n'est apparue après le 14e jour de culture.

## *Conclusions*

Il ressort de nos diverses expériences que:

1° A la température d'incubation de 20—21°, aussi bien sur gélose que sur gélatine, il faut 14 jours au minimum pour que toutes les colonies deviennent visibles.

2° Cette durée d'incubation minima est valable pour un matériel d'ensemencement monomicrobien ou comportant plusieurs espèces microbiennes.

3° Quant au nombre de germes, les résultats obtenus sont absolument comparables, que l'on utilise comme milieu soit la gélatine, soit la gélose, pour une incubation à 20—21°.

L'on sait que la technique préconisée par le «Manuel suisse des denrées alimentaires» permet d'utiliser, pour le dénombrement total des germes contenu dans une quantité déterminée d'eau, aussi bien la gélose que l'agar-agar.

Théoriquement, la numération des germes doit être effectuée de 15e jour si l'on veut être assuré de dénombrer toutes les colonies susceptibles de se développer. Or souvent, très souvent même, dans le cas de cultures sur gélatine, la présence de quelques colonies liquéfiantes oblige le bactériologiste à effectuer le dénombrement après quelques jours d'incubation seulement. Mais alors, la numération est entachée d'erreur et une correction s'imposerait. Mais que valent les tables et les coefficients de correction et quelle est leur valeur ? C'est ce que nous dirons dans un prochain article.

De tels inconvénients n'existent pas avec les cultures sur gélose: aucun danger de liquéfaction prématurée; possibilité d'attendre le temps nécessaire à l'apparition de toutes les colonies susceptibles de se développer et par conséquent d'obtenir un dénombrement exact.

C'est pourquoi nous préconisons, en vue d'une uniformisation rationnelle des techniques officielles utilisées pour l'analyse bactériologique des eaux, le seul emploi de la gélose comme milieu standard lors du dénombrement total des germes.


*Résumé*

Le travail ci-dessus est une étude comparative des résultats obtenus lors de la numération totale des germes dans l'eau en employant, comme milieu de culture, soit la gélose, soit la gélatine. L'étude de ces résultats conduit l'auteur à recommander l'adoption, comme seule technique officielle, de l'emploi de la gélose comme milieu standard pour le dénombrement total des germes.

*Zusammenfassung*

Die vorliegende Arbeit ist eine vergleichende Studie der Resultate, welche bei der Bestimmung der Keimzahl im Wasser einerseits auf Agar-Agar und anderseits auf Gelatine als Nährboden erhalten werden. Das Ergebnis dieser Studie veranlasst den Autor, als einzige offizielle Methode die Verwendung von Agar-Agar als Standardnährboden für die Bestimmung der Keimzahl zu empfehlen.