

Pour évaluer la croissance d'une population cellulaire, on utilise des lames microscopiques particulières qui permettent d'effectuer un comptage : les lames Kova.

- ▶ La lame contient 10 cupules dans lesquelles se trouve un quadrillage dont le volume est de $1 \mu\text{L}$. Cette grille est divisée en 9 grands carrés dont le volume est ramené à $0,1 \mu\text{L}$. Chaque grand carré est ensuite divisé en 9 petits carrés dont le volume est ramené à $0,01 \mu\text{L}$.

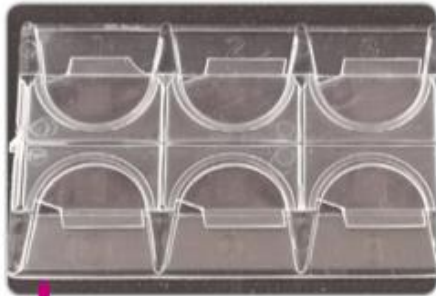
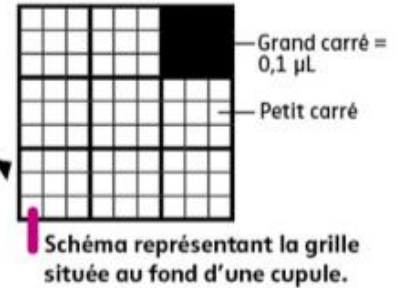
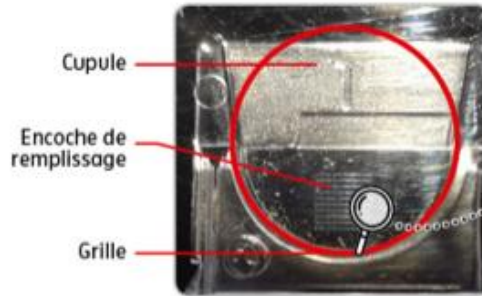


Photo d'une lame Kova.



Méthode

étape 1

À l'aide d'une pipette fine (1 ml), prélever de la solution contenant les cellules (penser à bien homogénéiser) et remplir une cupule au niveau de l'encoche. Vérifier que le liquide passe bien sur le quadrillage.

étape 2

Observer le quadrillage au microscope avec un grossissement $\times 40$ (objectif $\times 4$) puis zoomer sur un grand carré au grossissement $\times 100$ (objectif $\times 10$). Cela suffit si les cellules sont grandes (cas des euglènes). S'il y a beaucoup de cellules à compter ou si elles sont petites (cas des levures), zoomer sur un petit carré au grossissement $\times 400$ (objectif $\times 40$). Prendre alors une photo avec le logiciel d'acquisition.

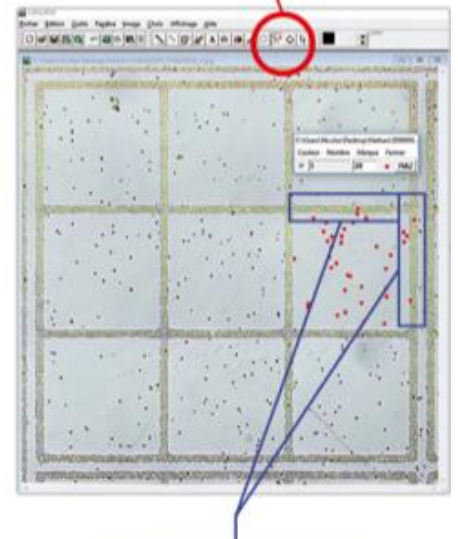
étape 3

Pour effectuer le comptage, on utilise le logiciel Mesurim, téléchargeable sur le site : <http://acces.ens-lyon.fr/acces/logiciels/applications/mesurim> et dont la fiche technique est disponible sur le site : <https://disciplines.ac-toulouse.fr/svt/fiches-techniques>.

- ▶ Ouvrir Mesurim et importer l'image depuis son lieu d'enregistrement.
- ▶ Déplacer la photo pour avoir un grand carré entièrement visible à l'écran.
- ▶ Que ce soit sur un grand ou un petit carré, si des cellules sont sur les bords, ne compter que celles sur 2 côtés (en gardant les mêmes côtés si l'opération est à répéter).
- ▶ Ouvrir le menu **Outil/comptage** ou cliquer sur l'**icône Comptage** et choisir dans Nombre la quantité d'éléments différents à compter (il est possible de changer la couleur et la marque). En cas d'erreur, on peut supprimer une marque en cliquant à nouveau dessus.
- ▶ Répéter l'opération autant de fois que possible pour faire une moyenne de cellules par petit ou grand carré.
- ▶ Calculer alors, connaissant le volume des petits et grands carrés, la concentration du milieu de culture en nombre de cellules par μL .

Résultats

Menu de comptage



Bordures prises en compte

Comptage dans une solution de levures.