

Exercices: numération et colimétrie

Exercice 1: comptage des colonies

Interpréter les résultats suivants (le type de micro-organisme recherché et l'aliment testé ne sont pas pris en considération).

a) Dénombrement dans la masse, V = 1 mL

| | | | |
|----------|-----------|-----------|-----------|
| dilution | 10^{-2} | 10^{-3} | 10^{-4} |
| Colonies | 165 | 20 | 1 |
| | 144 | 11 | 2 |

b) Dénombrement dans la masse, V = 1 mL

| | | | |
|----------|--------|-----------|-----------|
| dilution | 10^0 | 10^{-1} | 10^{-2} |
| Colonies | 18 | 2 | 0 |
| | 13 | 0 | 0 |

c) Dénombrement en surface, V = 0,1 mL

| | | | |
|----------|-----------|-----------|-----------|
| dilution | 10^{-2} | 10^{-3} | 10^{-4} |
| Colonies | >300 | >300 >300 | >300 |
| | >300 | | >300 |

d) Dénombrement en surface V = 0,1 mL de l'échantillon ; l'échantillon est obtenu par homogénéisation de 10g d'aliment dans 90 mL d'eau peptonée tamponnée ce qui constitue la solution mère SM. Exprimer le résultat par mL d'échantillon puis par gramme d'aliment.

| | | | |
|----------|-----------|-----------|-----------|
| Dilution | 10^{-1} | 10^{-2} | 10^{-3} |
| Colonies | >300 | 26 | 2 |
| | 288 | 36 | 6 |

Exercice 2: choix des dilutions de dilutions

Quelles dilutions choisir pour un dénombrement :

a) de la flore totale mésophile aérobie dans le lait ; dans la masse : 1 mL par boîte ; norme: $N < 5 \cdot 10^4$ microorganismes.mL⁻¹

b) de *Staphylococcus aureus* dans la viande hachée ; 0,1 mL étalés en surface ; 10g de viande hachée sont broyés dans 90 ml d'eau peptonee pour obtenir une suspension mère : $N < 10^2$ microorganismes.g⁻¹ de viande

Exercice 3: dénombrement par la méthode du NPP

On réalise un dénombrement après culture en milieu liquide des conformes dans des quenelles fraîches (NF ISO 4831 indice de classement V 08-016 de juillet 1991)

Le milieu utilisé est un bouillon tryptose + lactose + lauryl sulfate (détergent) : double et simple concentration nommé milieu MLL, avec cloche de Durham.

La suspension mère (SM) est réalisée par broyage de 10g de quenelles dans 90 mL de diluant.tryptone sel. Les ensemencements suivants sont réalisés :

Trois lots différents A, B et C sont testés

| Dilution | Milieu double concentration | Milieu simple concentration | | | |
|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | Suspension mère | Sm | 10^{-2} | 10^{-3} | 10^{-4} |
| Volume inoculé (mL) | 10 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Nombre de tubes | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Résultats positifs lot A | 3 | 3 | 3 | 2 | 0 |
| Résultats positifs lot B | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Résultats positifs lot C | 3 | 1 | 3 | 0 | 0 |

Les tubes sont incubés 24h à 30°C.

1. Comment définir « pratiquement » un coliforme à l'aide de ce protocole ? qu' est ce

qu'un tube « positif », qu'est ce qu'un tube négatif ?

2. Quel est l'intérêt d'un milieu « double concentration » ?

3. Analyser les résultats ; Calculer la concentration en coliformes par gramme de quenelles (utiliser la méthode du NPP) pour les différents lots.

Exercice 4: colimétrie en milieu solide

Un laboratoire vérifie la qualité microbiologique d'un pâté.

Pour les coliformes, la teneur maximum admissible est de 1000 par gramme.

Le protocole d'analyse est le suivant:

- pesée de 10 g à 0,1g près
- mise en suspension et broyage stérile dans 90 mL d'eau peptonée tamponnée
- dilution décimales jusqu'à 10^{-2}
- Incorporation dans la masse d'un mL des dilutions testées.

Résultats :

| Dilution de la solution mère SM | 10^0 | 10^{-1} | 10^{-2} |
|---------------------------------|--------|-----------|-----------|
| Colonies | >300 | 113 | 8 |
| | >300 | 123 | 7 |

1. Quelle est l'allure d'une colonie suspecte d'être un coliforme ? Pourquoi n'est-on pas certain que toutes les colonies suspectes sont des coliformes ?

2. Le pâté contient-il une seule espèce de bacilles gram - lactose + ?

3. Donner la concentration en coliformes présumés dans l'échantillon de pâté.

4. Pourquoi le laboratoire limite-il sa gamme de dilutions à 10^{-2} ?

5. Quelle est à votre avis la détectabilité théorique de la méthode ? Justifier

