

**TABLES POUR LE DENOMBREMENT
DES MICRO-ORGANISMES APRES CULTURE
(MILIEUX SOLIDES)
extension à la recherche**



INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PECHES MARITIMES

RUE DE L'ILE D'YEU - B.P. 1049
44037 NANTES CEDEX - FRANCE
TELEX: 711 196 F

Les "Rapports techniques ISTPM" sont édités par l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes. Ces rapports concernent les techniques et le développement des pêches, et les sciences océaniques en général. Ils intéressent la communauté scientifique et les professionnels, sans toutefois se prêter à une publication en version imprimée dans une revue scientifique (résultats préliminaires, sujets trop restreints, nombreux tableaux...). Les "Rapports techniques ISTPM" font l'objet d'un dépôt légal à la Bibliothèque nationale et sont répertoriés dans le Bulletin signalétique du C.N.R.S. Il s'agit donc d'une publication à part entière mais non périodique.

Directeur de la Publication : A. Pambrun - Vincent
Dépôt légal : octobre 1983

TABLES POUR LE DENOMBREMENT

DES MICRO-ORGANISMES APRES CULTURE

(MILIEUX SOLIDES)

Extension à la recherche

On dénombreant des micro-organismes en général, et des coliformes
entre autres, par recensement des colonies obtenues à 30°C à l'aide de
normes AFNOR, respectivement : TABLES POUR LE DENOMBREMENT
DES MICRO-ORGANISMES APRES CULTURE
(MILIEUX SOLIDES)
Extension à la recherche

par

François CAMPELLO

Il est recommandé de ne compter que les colonies qui sont
boîtes ne contenant pas plus de 50 colonies (C.F.C. "unités formées
des colonies"). Certaines espèces (PSEUDOMONAS et S. aureus) dépassent ces
limites différentes de boîtes présumées en fonction de rang de dilution
de la suspension-céca, soit 10 - 100, 100 - 1000 et 1000 - 10000 colonies par
boîte pour les dilutions respectives de 1/2, 1/5 et 1/10. Selon ces critères
les risques d'erreurs inhérentes et évitables sont ainsi réduits au
minimum.

TABLES POUR LE DENOMBREMENT
DES MICRO-ORGANISMES APRES CULTURE
(MILIEUX SOLIDES)
Extension à la recherche

Le dénombrement des microorganismes en général, et des coliformes entre autres, par comptage des colonies obtenues à 30°C a fait l'objet de normes AFNOR, respectivement V 08-011 et V 08-015, qui en fixent les directives générales. L'adaptation des principes de ces normes à des travaux de recherche nous a conduit à formuler quelques commentaires pour présenter les tableaux, inspirés des directives, permettant la lecture directe du résultat en fonction du nombre d'unités qui ont donné naissance aux colonies ("unités formant des colonies : U.F.C.").

Dans le mode opératoire décrit par la norme l'opération qui consiste à couler une gélose non nutritive à la surface de la gélose nutritive après ensemencement est facultative. Trois types de colonies peuvent se développer à sa surface. Il est facile d'écarter de la numération les colonies de moisissures et de les dénombrer à part ; jusqu'à ce que des travaux spécifiques aient confirmé leur présence dans les produits, nous les considérerons comme des souillures. Notre opinion est fondée sur leurs variations morphologiques et sur l'irrégularité de leur mise en évidence à partir d'un même produit, d'une analyse à une autre. Les colonies de levures et de bactéries ont la même apparence. Les micro organismes à retenir à 30°C sont donc de deux types.

Il est recommandé de ne retenir pour le dénombrement que les boîtes ne contenant pas plus de 300 colonies ou U.F.C. ("unités formant des colonies"). Certains auteurs (TOMASIEWICZ et al., 1980) retiennent des limites différentes de celles préconisées en fonction du taux de dilution de la suspension-mère, soit 70 - 140, 40 - 200 et 25 - 250 colonies par boîte pour les dilutions respectives au 1/2, 1/5 et 1/10. Selon ces auteurs les risques d'erreurs intrinsèques et extrinsèques sont ainsi réduits au minimum.

En fait 30, multiple de 5 à retenir si $N < 100$, est représentatif d'un nombre de colonies compris entre 28 et 32.

De même 300 est retenu pour un nombre de colonies compris entre 295 et 305. La limite 30 - 300 est reportée à 28 - 305.

Dans l'expression des résultats de la norme le nombre compris entre 1,0 et 9,9 doit souffrir quelques exceptions. En effet, si le facteur de dilution est 5 il est nécessaire de connaître le deuxième chiffre après la virgule pour rester dans les intervalles habituels si $195 < N < 305$. Dans le cas contraire, un seul nombre 1,3, par exemple, serait retenu pour des nombres d'U.F.C. compris entre 255 et 274 alors que deux multiples de 10 sont inclus dans cet intervalle. Le facteur de dilution est l'inverse du produit du taux de dilution de la suspension-mère par la fraction de millilitreensemencée. Le tableau 1 donne les facteurs de dilution susceptibles d'être utilisés le plus fréquemment en recherche. Ils sont, le cas échéant, à multiplier par autant de puissances de 10 qu'il y a de dilutions successives de raison 10.

ml ou fraction de ml de la dilution-mèreensemencée	Dilutions-mères	1/2	1/5	1/10
1,0		2	5	10
0,2		10	25	50
0,1		20	50	100

Tabl. 1.- Facteurs de dilution les plus courants.

Il est devenu habituel dans le département "Utilisation et Valorisation des Produits de la Mer" de l'I.S.T.P.M. d'appliquer ces directives à tous les dénombrements de microorganismes quelle que soit la température

d'incubation. Dans le cas particulier des travaux de recherche les deux cas suivants peuvent se présenter.

1. Des microorganismes primitivement en nombre important (ou très faible) diminuent (ou augmentent) jusqu'au (ou depuis le) niveau "moins de 1 U.F.C.". Deux transcriptions sont possibles :

a) ou bien la limite des mesures reste fixée à 13 ou à 28 et l'on crée un niveau zéro artificiel ; c'est cette attitude que nous avons adoptée ;

b) ou bien l'on dénombre les U.F.C. jusqu'au niveau "moins de 1 U.F.C." en faisant état des valeurs comprises entre 1 et 13, ou 1 et 28, pour appréhender de façon plus précise la biocénose microbienne du produit ; il y a dans ce cas trop de risques d'erreurs.

2. Les colonies sont en nombre suffisant, mais plusieurs types morphologiques (taille - couleur) sont représentés. Il se peut que certains soient présents en quantités inférieures aux valeurs sus-indiquées. Chaque type est dénombré jusqu'au (ou depuis le) stade "moins de 1 U.F.C."

Les directives de la norme sont interprétées de la manière suivante.

A. Boîtes valables au niveau d'une seule dilution.

1. Dénombrer :

* soit 2 boîtes dont $28 < N < 305$

* soit 1 boîte dont $28 < N < 305$ et 1 boîte dont $N < 28$.

2. Retenir deux chiffres significatifs selon que :

$N < 100$, prendre le plus proche multiple de 5

$N > 100$, non terminé par 5, prendre le plus proche multiple de 10.

$N > 100$, terminé par 5, prendre le plus proche multiple de 20.

3. Multiplier par le facteur de dilution.

4. Exprimer le nombre de colonies par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 (cf. remarque supra) multiplier par 10^n (n est la puissance appropriée de 10 égale à la caractéristique du logarithme du nombre retenu, éventuellement augmentée de la valeur absolue de l'exposant de la dilution de lecture).

B. Boîtes valables au niveau de deux dilutions.

1. Dénombrer les boîtes séparément pour chacune des dilutions comme en A.1.

2. Retenir deux chiffres significatifs comme en A.2.

3. Multiplier par le facteur de dilution comme en A.3.

4. Faire le rapport R de la valeur la plus forte à la valeur la plus faible :

R < 2, prendre la moyenne arithmétique des deux valeurs

R > 2, prendre la valeur la plus faible.

5. Exprimer comme en A.4.

C. Les deux boîtes contiennent moins de 15 (cas de coliformes) ou moins de 30 colonies (cas des microorganismes).

Exprimer le résultat sous la forme :

- moins de 15 U.F.C./g ou /ml x facteur de dilution

- moins de 30 U.F.C./g ou /ml x facteur de dilution.

D. Les boîtes ne présentent aucune colonie.

Exprimer le résultat sous la forme :

- moins de 1. U.F.C./g ou /ml x facteur de dilution..

Sur ces bases nous proposons une série de tableaux dans chacun desquels figurent les nombres, expressions des résultats, à multiplier par 10^n et le logarithme correspondant pour les nombres de colonies retenus en fonction des dilutions utilisées. Ces nombres ne sont valables que si les dénombrements sont effectués sur des boîtesensemencées avec la solution-mère. Pour les dilutions ultérieures il suffit d'ajouter à la caractéristique du log (et à la puissance de 10) autant d'unités positives qu'il y a de dilutions successives de raison 10.

Exemples pris hors expérimentation, destinés à expliquer le mode d'utilisation des tables.

A. Suspension-mère au 1/2 : tableau 2.

1. Volumeensemencé : 1 ml. Facteur de dilution : 2

Lectures : boîte 1 : 79 ; boîte 2 : 81 ; valeur retenue : 80.

a) Si dilutionensemencée : suspension-mère

Expression du résultat : $1,6 \cdot 10^2$ U.F.C./g ou /ml, lg : 2,20

b) Si dilutionensemencée : dilution 10^{-3}

Expression du résultat : $1,6 \cdot 10^5$ U.F.C./g ou /ml, lg : 5,20

2. Volumeensemencé : 0,2 ml. Facteur de dilution : 10

Lectures : boîte 1 : 116 ; boîte 2 : 123 ; valeur retenue : 120

a) Si dilutionensemencée : suspension-mère

Expression du résultat : $1,2 \cdot 10^3$ U.F.C./g ou /ml, lg : 3,07

b) Si dilutionensemencée : dilution 10^{-1}

Expression du résultat : $1,2 \cdot 10^4$ U.F.C./g ou /ml, lg : 4,07.

B. Suspension-mère au 1/5 : tableau 3.

1. Volumeensemencé : 1 ml. Facteur de dilution : 5

Lectures : boîte 1 : 71 ; valeur retenue : 70

boîte 2 : 84 ; valeur retenue : 85.

Les valeurs à retenir étant différentes nous prendrons celle arrondie à la valeur inférieure ; ici $\frac{70 + 85}{2} = 77$ soit : 75.

Dilutionensemencée : 10^{-2}

Expression du résultat : $3,7 \cdot 10^4$ U.F.C./g ou /ml, lg : 4,57.

2. Volumeensemencé : 0,2 ml. Facteur de dilution : 25

A priori il semble y avoir des boîtes valables au niveau de deux dilutions successives.

a) Dilutionensemencée : 10^{-1}

Lectures : boîte 1 : 277 ; boîte 2 : 284 ; valeur à retenir : 280.

Résultat intermédiaire : $7,0 \cdot 10^4$ U.F.C./g ou /ml

b) Dilutionensemencée : 10^{-2}

Lectures : boîte 1 : 58 ; boîte 2 : 61 ; valeur à retenir : 60.

Résultat intermédiaire : $1,5 \cdot 10^5$ U.F.C./g ou /ml .

c) Le rapport R de $1,5 \cdot 10^5 / 7,0 \cdot 10^4$ est > 2

Nous retenons la valeur la plus petite.

Expression du résultat : $7,0 \cdot 10^4$ U.F.C./g ou /ml, lg : 4,84.

C. Suspension-mère au 1/10 : tableau 4.

A priori il semble y avoir des boîtes valables au niveau de deux dilutions successives.

1. Volumeensemencé : 0,2 ml. Facteur de dilution : 50

Dilutionensemencée : suspension-mère.

Lectures : boîte 1 : 185 ; valeur retenue : 185 ;

boîte 2 : 210 ; valeur retenue : 210.

Pratiquement nous retenons : 200.

Résultat intermédiaire : $1,0 \cdot 10^4$ U.F.C./g ou /ml

2. Volumeensemencé : 0,2 ml. Facteur de dilution : 50.

Dilutionensemencée : 10^{-1}

Lectures : boîte 1 : 25 ; valeur à retenir : 25

boîte 2 : 34 ; valeur à retenir : 35.

Pratiquement, valeur retenue : 30.

Résultat intermédiaire : $1,5 \cdot 10^4$ U.F.C./g ou /ml

3. Le rapport R des deux résultats intermédiaires est < 2 .

Comme résultat définitif nous retenons leur moyenne arithmétique :

$$\frac{1,5 \cdot 10^4 + 1,0 \cdot 10^4}{2} = 1,2 \cdot 10^4$$

Expression du résultat : $1,2 \cdot 10^4$ U.F.C./g ou /ml, lg : 4,09.

Références bibliographiques citées.

Association Française de Normalisation (A.F.N.O.R.). Tour Europe 92080 PARIS
LA DEFENSE CEDEX 7.

. Norme NF-V 08-011, novembre 1978. Directives générales pour le dénombrement des microorganismes. Méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C.

. Norme NF-V 08-015, novembre 1978. Directives générales pour le dénombrement des coliformes. Méthode par comptage des colonies obtenues à 30°C.

TOMASIEWICZ (D.M.), HOTCHKISS (D.K.), REINBOLD (G.W.), READ (R.B.Jr) et HARTMAN (P.A.) ; 1980.- The most suitable number of colonies on plates for counting.- *J. Food Protection* 43 (4) : 282 - 286.

Plage de numération	Valeur retenue	Facteurs de dilution			
		2		10	
		Nombre	log	Nombre	log
68 72	70	1,4	2,14	7,0	2,84
73 77	75	1,5	2,17	7,5	2,87
78 82	80	1,6	2,20	8,0	2,90
83 87	85	1,7	2,23	8,5	2,92
88 92	90	1,8	2,25	9,0	2,95
93 97	95	1,9	2,27	9,5	2,97
98 105	100	2,0	2,30	1,0	3,00
106 114	110	2,2	2,34	1,1	3,04
115 125	120	2,4	2,38	1,2	3,07
126 134	130	2,6	2,41	1,3	3,11
135 145	140	2,8	2,44	1,4	3,14

Tabl. 2.- Dans le cas d'une suspension-mère au 1/2 (p/v)
Nombres et \log_{10} correspondants aux nombres des U.F.C.

Plage de numération	Valeur retenue	Facteurs de dilution			
		5		25.	
		Nombre	log	Nombre	log
13 17	15	7,5	1,87	3,7	2,57
18 22	20	1,0	2,00	5,0	2,69
23 27	25	1,2	2,09	6,2	2,79
28 32	30	1,5	2,17	7,5	2,87
33 37	35	1,7	2,24	8,7	2,94
38 42	40	2,0	2,30	1,0	3,00
43 47	45	2,2	2,35	1,1	3,05
48 52	50	2,5	2,39	1,2	3,09

Tabl. 3.- Dans le cas d'une suspension-mère au 1/5 (p/v) :
 Nombres et \log_{10} correspondants aux nombres des U.F.C.
 et aux facteurs de dilution retenus.

Plage de numération	Valeur retenue	Facteurs de dilution			
		5		25	
		Nombre	log	Nombre	log
53 57	55	2,7	2,43	1,3	3,13
58 62	60	3,0	2,47	1,5	3,17
63 67	65	3,2	2,51	1,6	3,21
68 72	70	3,5	2,54	1,7	3,24
73 77	75	3,7	2,57	1,8	3,27
78 82	80	4,0	2,60	2,0	3,30
83 87	85	4,2	2,62	2,1	3,32
88 92	90	4,5	2,65	2,2	3,35
93 97	95	4,7	2,67	2,3	3,37
98 100	100	5,0	2,69	2,5	3,39

Tabl. 3 (suite 1)

Plage de numération	Valeur retenue	Facteurs de dilution			
		5		25	
		Nombre	log	Nombre	log
100 105	100	5,0	2,69	2,5	3,39
106 114	110	5,5	2,74	2,7	3,43
115 125	120	6,0	2,77	3,0	3,47
126 134	130	6,5	2,81	3,2	3,51
135 145	140	7,0	2,84	3,5	3,54
146 154	150	7,5	2,87	3,7	3,57
155 165	160	8,0	2,90	4,0	3,60
166 174	170	8,5	2,92	4,2	3,62
175 185	180	9,0	2,95	4,5	3,65
186 194	190	9,5	2,97	4,7	3,67
195 200	200	1,0	3,00	5,0	3,69

Tabl. 3 (suite 2)

Plage de numération	Valeur retenue	Facteurs de dilution			
		5		25	
		Nombre	log	Nombre	log
200 205	200	1,00	3,00	5,0	3,69
206 214	210	1,05	3,02	5,2	3,72
215 225	220	1,10	3,04	5,5	3,74
226 234	230	1,15	3,06	5,7	3,75
235 245	240	1,20	3,07	6,0	3,77
246 254	250	1,25	3,09	6,2	3,79
255 265	260	1,30	3,11	6,5	3,81
266 274	270	1,35	3,13	6,7	3,82
275 285	280	1,40	3,14	7,0	3,84
286 294	290	1,45	3,16	7,2	3,86
295 305	300	1,50	3,17	7,5	3,87

Tabl. 3 (fin)

Plage de numération	Valeur retenue	Facteurs de dilution			
		10		50	
		Nombre	Log	Nombre	Log
23 27	25	2,5	2,39	1,2	3,09
28 32	30	3,0	2,47	1,5	3,17
33 37	35	3,5	2,54	1,7	3,24
38 42	40	4,0	2,60	2,0	3,30
43 47	45	4,5	2,65	2,2	3,35
48 52	50	5,0	2,69	2,5	3,39
53 57	55	5,5	2,74	2,7	3,43
58 62	60	6,0	2,77	3,0	3,47
63 67	65	6,5	2,81	3,2	3,51
68 72	70	7,0	2,84	3,5	3,54
73 77	75	7,5	2,87	3,7	3,57
78 82	80	8,0	2,90	4,0	3,60
83 87	85	8,5	2,92	4,2	3,62
88 92	90	9,0	2,95	4,5	3,65
93 97	95	9,5	2,97	4,7	3,67

Tabl. 4.- Dans le cas d'une suspension-mère au 1/10 (p/v)

Plage de numération	Valeur retenue	Facteurs de dilution			
		10		50	
		Nombre	Log	Nombre	Log
98 105	100	1,0	3,00	5,0	3,69
106 114	110	1,1	3,04	5,5	3,74
115 125	120	1,2	3,07	6,0	3,77
126 134	130	1,3	3,11	6,5	3,81
135 145	140	1,4	3,14	7,0	3,84
146 154	150	1,5	3,17	7,5	3,87
155 165	160	1,6	3,20	8,0	3,90
166 174	170	1,7	3,23	8,5	3,92
175 185	180	1,8	3,25	9,0	3,95
186 194	190	1,9	3,27	9,5	3,97
195 205	200	2,0	3,30	1,0	4,00
206 214	210	2,1	3,32	1,05	4,02
215 225	220	2,2	3,34	1,10	4,04
226 234	230	2,3	3,36	1,15	4,06
235 245	240	2,4	3,38	1,20	4,07
246 254	250	2,5	3,39	1,25	4,09

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PÊCHES MARITIMES

RUE DE L'ILE D'YEU - B.P. 1049
44037 NANTES CEDEX - FRANCE
TELEX: 711 196 F

Les "Rapports techniques ISTPM" sont édités par l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes. Ces rapports concernent les techniques et le développement des pêches, et les sciences océaniques en général. Ils intéressent la communauté scientifique et les professionnels, sans toutefois se prêter à une publication en version imprimée dans une revue scientifique (résultats préliminaires, sujets trop restreints, nombreux tableaux...). Les "Rapports techniques ISTPM" font l'objet d'un dépôt légal à la Bibliothèque nationale et sont répertoriés dans le Bulletin signalétique du C.N.R.S. Il s'agit donc d'une publication à part entière mais non périodique.

Directeur de la Publication : A. Pambrun - Vincent
Dépôt légal : octobre 1983