

## **TP 01 Toxicologie M01 QPSA**

### **Le dénombrement des bactéries**

#### **Introduction**

Les industriels doivent contrôler la qualité microbiologique et la composition des produits alimentaires, pharmaceutiques ou cosmétiques qu'ils fabriquent. En conséquence ils sont amenés à vérifier la stérilité des produits, ou l'absence de bactéries pathogènes, ou encore le taux de bactéries commensales. Ces contrôles microbiologiques sont ainsi réalisés tout au long de la chaîne de fabrication, de la matière première au produit fini, passant par l'environnement de production. Le dénombrement est l'une des solutions pour les industries agroalimentaires, afin de réaliser la sécurité alimentaire, le contrôle de la qualité, ainsi pour les contrôles de stérilité et de la qualité de l'eau ou de l'environnement.

#### **Le but**

Le but de notre manipulation est d'évaluer le nombre de bactéries présentes dans un produit par dénombrement de la flore totale après en les cultivant sur le milieu PCA.

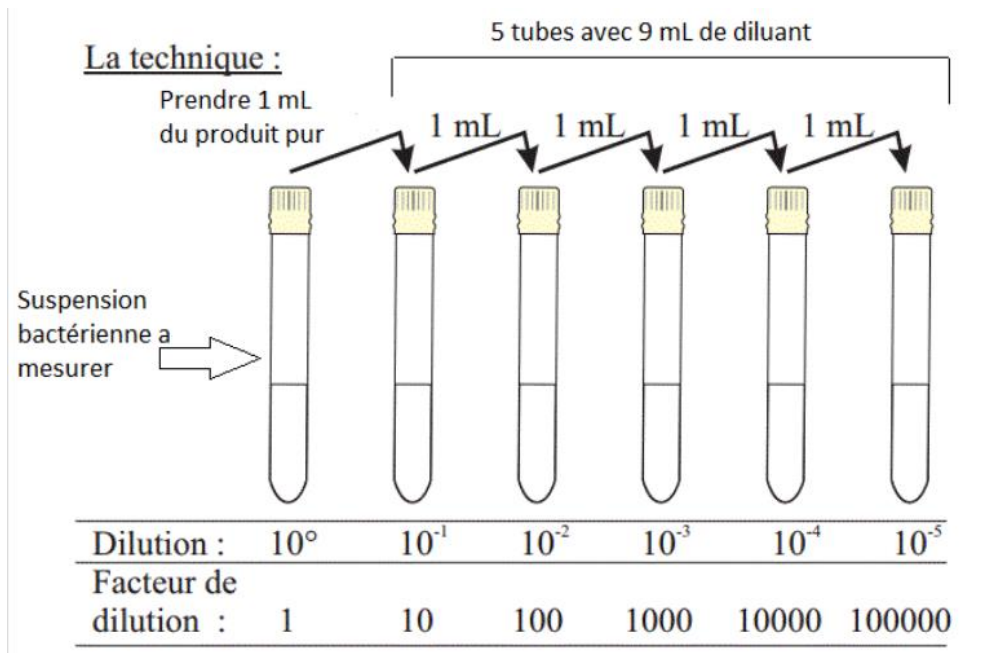
#### **Principe :**

Il s'agit de la numération des microorganismes sur le milieu PCA par étalement ou ensemencement en profondeur des différentes dilutions de la suspension bactérienne.

#### **Mode opératoire :**

Préparation des dilutions :

- Peser 1g de viande hachée.
- Faire un broyage dans un mixeur jusqu'à obtenir un mélange homogène : broyat.
- Effectuer à partir de ce broyat nos différentes dilutions :  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , et  $10^{-4}$ .



### **Étalement des dilutions :**

On étale les dilutions dans différentes boîtes de pétrie contenant le milieu **PCA**

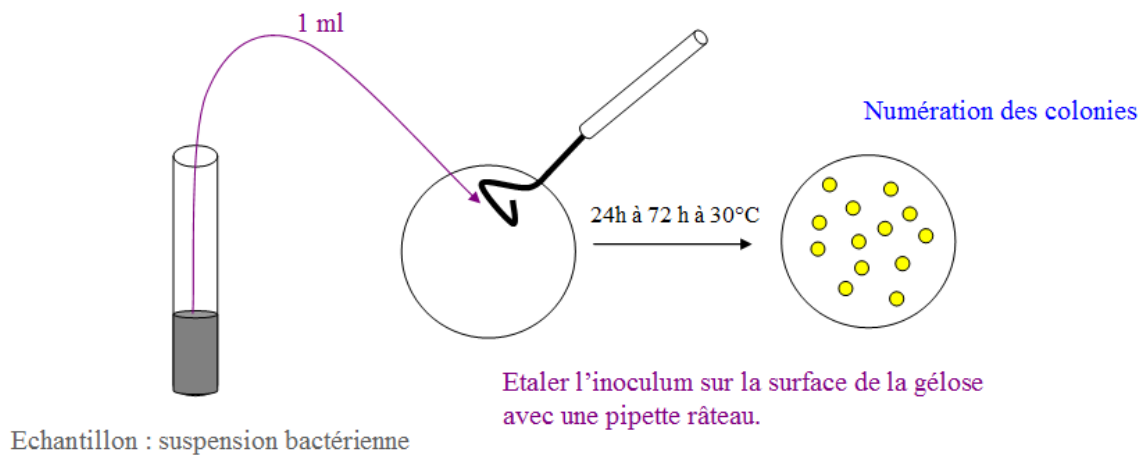
**PCA** : La gélose glucosée à l'extrait de levure appelée par les Anglo-Saxons "Plate Count Agar" est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières.

### **Ensemencement en profondeur :**

- Transférer 1 ml du produit à analyser et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Pétri stériles.
- Couler 15 ml de milieu.- Homogénéiser parfaitement.- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber : à 30°C pendant 72 heures.

**Ensemencements en surface :** Pour effectuer les ensemencements en surface à l'étaleur, il est nécessaire de couler les boîtes avant de procéder à leur inoculation

Incubation de 24h à 72 h à 30°C.



### Résultas :

	Dilution 10 <sup>-1</sup>	Dilution 10 <sup>-2</sup>	Dilution 10 <sup>-3</sup>	Dilution 10 <sup>-4</sup>
<b>Boite 1</b>	indénombrable	215	18	2
<b>Boite 2</b>	indénombrable	180	23	1

### Lecture et interprétation

Selon la norme Française XPV08-102, chaque boite retenue devra contenir au plus 300 colonies et au moins 15 colonies.

Le nombre de micro organismes par ml de produit est calculé à partir des boites retenues au niveau de deux dilutions successives à l'aide de la formule suivante:

$$N = \frac{\sum c}{V (n_1 + 0,1 n_2) d}$$

N : Nombre d'UFC par gramme ou par mL de produit initial.

$\sum C$  : somme totale des colonies comptées.

n<sub>1</sub> : nombre de boites comptées dans la première dilution (la plus faible).

n<sub>2</sub> : nombre de boites comptées dans la seconde dilution (la plus forte).

d : taux de dilution à partir du quel les premiers comptages ont été obtenus.

v : le volume de solution déposée.