

## Exercices en microbiologie alimentaire

### Exercice 1. Colimétrie en milieu solide.

10 grammes de pâté sont broyés stérilement dans 90 ml d'eau peptonnée tamponnée.

1. quelle est la valeur de la dilution ainsi réalisée ?

Des dilutions sont ensuite réalisées en eau peptonnée tamponnée.

Pour chaque dilution 1ml est placé dans chacune des 4 des boites prévues. 15 ml de gélose au désoxycholate à 0.1% sont versé dans chacune des boîtes, puis 4 ml après solidification (double couche).

2. quelles colonies devront être compté et pourquoi ?

Les résultats suivants sont obtenus (les valeurs des dilutions se réfèrent au pâté) :

ND=Non Dénombrable	30° C		44° C	
	1 <sup>ere</sup> boîte	2 <sup>eme</sup> boîte	1 <sup>ere</sup> boîte	2 <sup>eme</sup> boîte
10 <sup>-1</sup>	ND	ND	50	47
10 <sup>-2</sup>	115	122	4	5
10 <sup>-3</sup>	7	13	0	0

3. conclure le dénombrement

3.1 comparer les 2 résultats obtenus. Sont-ils cohérents ? justifier.

3.2 la suspension de pâté contenait-elle une espèce de bacilles Gram- lactose+ ?

4. imaginer quels auraient été les résultats si au lieu de milieux solides, on avait utilisé des BLBVB+ cloche (essai simple)

5. quelle conclusion tirer pour la qualité sanitaire du pâté ?

### Exercice 2 : Dénombrement de la microflore du lait

On dénombre en milieu solide les coliformes fécaux d'un lait pasteurisé (un seul E) par dénombrement indirect en ensemençant 1ml des différentes dilutions. On obtient les valeurs suivantes :

Dilution	-1	-2	-3
Boîte 1	152	73	08
Boîte 2	147	40	07
Boîte 3	124	30	01

1. Quelle est la concentration en microorganismes de ce lait ?

2. Ce lait, est-il conforme aux normes ?

Catégories des denrées alimentaires	Microorganismes	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
lait pasteurisé et autres produits	Germes aérobies à 30°C	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
	Enterobacteriaceae	5	0	10	

### Exercice 3

Des agents de la DSV ont effectués des prélèvements en vue d'analyses bactériologiques à la fin du service d'un self. Les analyses ont porté sur plusieurs produits dont un plat cuisiné de type blanquette de veau à la graine de moutarde. Il a été prélevé 5 échantillons de ce produit (E1, E2, E3, E4, E5).

1. A partir du tableau suivant, expliquer, en utilisant le plan à trois classes, les résultats des analyses. Quelle est la base d'interprétation du résultat pour les salmonelles ?

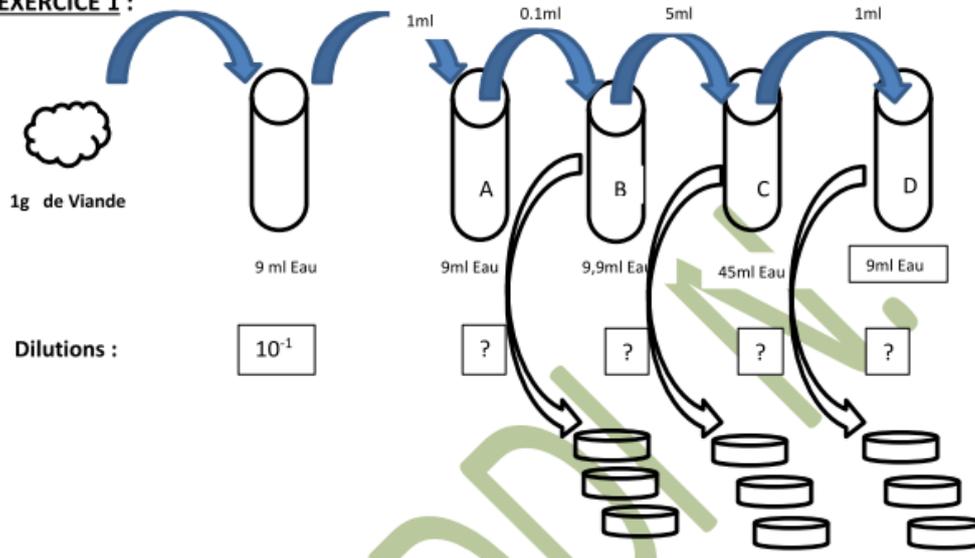
Que conclure sur le classement de ce produit ?

On considère que  $M = 10$  m

	CRITERES MICROBIOLOGIQUES	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>
<b>Aérobies 30°C</b>	300.000/g	1.10 <sup>6</sup>	8.10 <sup>5</sup>	7.10 <sup>5</sup>	8.10 <sup>5</sup>	7.10 <sup>5</sup>
<b>Coliformes</b>	1000/g	800	500	600	700	900
<b>Coliformes fécaux</b>	10/g	20	15	25	15	25
<b>Anaérobies sulfitoréducteurs</b>	30/g	-	-	-	-	-
<b>Staphylocoque</b>	100/g	250	400	250	200	200
<b>Salmonelles</b>	0/25g	ABS	ABS	ABS	ABS	ABS

2. Quels sont les germes témoins de contamination fécale ? Pourquoi est-il important de s'assurer qu'un produit n'a pas subi de contamination fécale ?

#### EXERCICE 1 :



1) Donnez les dilutions des tubes A, B, C, D ?

2) Le comptage des colonies sur boîtes de pétri, nous a permis de réaliser le tableau suivant :

Tubes	B	C	D
Dilutions	?	?	?
Boîte 1	2450	123	40
Boîte 2	2140	110	23
Boîte 3	Contaminé	100	15

On retient les boîtes contenant entre 10 et 300 colonies.

### Corrigé type

#### Exercice 1

1. quelle est la valeur de la dilution ainsi réalisée ?  $d=10g/(10g+90ml)$   
 $=10/100=0.1=10^{-1}$

2. quelles colonies devront être compté et pourquoi ? on compte les colonies lactose+(rouges) de grandeur suffisante (0.5 mm de diamètre en 24h) qui sont des coliformes à 30°C et des coliformes thermotolérants à 44°C.

3. On applique la loi  $N_{ufc} = \Sigma \text{colonies} / (N_1 \cdot 1 + N_2 \cdot 0,1 + N_3 \cdot 0,01) \cdot d \cdot v$

On retient les boîtes contenant entre 10 et 300 colonies.

Nombre des coliformes totaux 30° C

$N_{ufc} = (115+122+13) / (2 \cdot 1 + 1 \cdot 0,1) \cdot 10^{-2} \cdot 1 = (250) / (2,1) \cdot 10^{-2} \cdot 1 = 1,2 \cdot 10^4$  **ufc (coliforme totaux)/ml de pâté**

Nombre des coliformes hermotolerant fecaux à 44° C

$N_{ufc} = (50+47) / (2 \cdot 1) \cdot 10^{-1} \cdot 1 = (97) / (2) \cdot 10^{-1} \cdot 1 = 4,85 \cdot 10 \cdot 10 = 4,85 \cdot 10^2 = 4,9 \cdot 10^2$  **ufc (coliforme fécaux thermotolérants) /ml de pâté.**

3.1 comparer les 2 résultats obtenus. Sont-ils cohérents ? justifier.

Il y a moins de coliformes thermotolérants que de coliformes totaux, ce qui est préférable puisque les coliformes thermotolérants sont des coliformes. Il y donc des coliformes qui ne sont pas des thermotolérants dans le pâté.

3.2 la suspension de pâté contenait-elle une espèce de bacilles Gram- lactose+ ?

on 3.1., on a démontré qu'il y avait au moins 2 types de coliformes, donc au moins 2 types de bacilles G<sup>-</sup>, Lact<sup>+</sup>

4. imaginer quels auraient été les résultats si au lieu de milieux solides, on avait utilisé des BLBVB+ cloche (essai simple)

coliformes : les tubes de  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$  +, les autres –

Puis test de Mackensie : + pour  $10^{-1}$  à  $10^{-2}$ , - ensuite

5. quelle conclusion tirer pour la qualité sanitaire du pâté ?

Critères (JO) : coliformes  $10^3$ , coliformes thermotolérants : 10 (par gramme).

Simplement : il y a manifestation trop de coliformes et de coliformes thermotolérants, le pâté doit être déclaré non consommable.

Après pondération (interprétation statistique) non satisfaisant pour les coliformes et coliformes thermotolérants.

Le pâté sera donc déclaré au moins non satisfaisant ou corrompu suivant les résultats.

### Exercice 2

1. Quelle est la concentration en microorganismes de ce lait ?

1. On applique la loi  $N_{ufc} = \sum \text{colonies} / (N_1 \cdot 1 + N_2 \cdot 0,1 + N_3 \cdot 0,01) \cdot d \cdot v$

$$(152+147+124+73+40+30) / (3 \cdot 1 + 3 \cdot 0,1) \cdot 10^{-1} \cdot 1 = 566 / (3,3) \cdot 10^{-1} \cdot 1 = 1,7 \cdot 10^2 \cdot 10 = \mathbf{1,7 \cdot 10^3 \text{ ufc/ml}}$$

2. cet échantillon est insatisfaisant pour les coliformes fécaux (enterobacteriaceae).

### Exercice 3

1. A partir du tableau suivant, expliquer, en utilisant le plan à trois classes, les résultats des analyses. Quelle est la base d'interprétation du résultat pour les salmonelles ?

- Germes aérobies :  $m=3 \cdot 10^5$ . Le nombre des germes aérobies des 5 E est inférieure à m, donc l'aliment est satisfaisant pour ces germes.
- Coliforme :  $m=10^3$ . Le nombre des Coliforme des 5 E est inférieure à m, donc l'aliment est satisfaisant pour ces germes.
- Coliformes fécaux :  $m=10$ ,  $M=10^2$   
 $E_1=2 \cdot 10$ ,  $E_2=1,5 \cdot 10$ ,  $E_3=2,5 \cdot 10$ ,  $E_4=1,5 \cdot 10$ ,  $E_5=2,5 \cdot 10$   
Tous les 5E contiennent un nombre de Coliformes fécaux entre m et M, l'aliment est inacceptable.
- Anaérobies sulfitoréducteurs :  $m=3 \cdot 10 \text{ ufc/g}$ ,  $M=3 \cdot 10^2$ . Les 5 E ne contenant aucun germe Anaérobies sulfito-réducteurs.
- staphylocoque :  $m=10^2$ ,  $M=10^3$ .  
 $E_1=2,5 \cdot 10^2$ ,  $E_2=4 \cdot 10^2$ ,  $E_3=2,5 \cdot 10^2$ ,  $E_4=2 \cdot 10^2$ ,  $E_5=2 \cdot 10^2$ . le nombre de germe dans tous les E est entre m et M, donc l'aliment inacceptables.
- Salmonelles :  $m=M=0 \text{ ufc/25g}$ . l'aliment est satisfaisant pour ce germe.

Quelle est la base d'interprétation du résultat pour les salmonelles ? :

Les bactéries **Salmonella** sont une des principales causes d'intoxication alimentaire.

L'interprétation des résultats s'effectue selon un plan à deux classes, dans le cas où la valeur « c » est égale à zéro (0).

Les résultats s'expriment de la façon suivante :

Pour l'expression "absence dans" :

- le résultat du critère microbiologique est satisfaisant lorsqu'il y a absence du micro-organisme dans toutes les unités de l'échantillon ;
- le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant, lorsque la présence du micro-organisme est détectée dans, au moins, une unité de l'échantillon.

Dans le cas des micro-organismes suivants : *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Campylobacter* spp (thermotolérants), le résultat révèle que le lot contrôlé est impropre à la consommation.

Pour la valeur limite " $m=M$ " : Si le résultat de l'analyse est inférieur ou égal à « m », le résultat du critère microbiologique est satisfaisant ; Si le résultat de l'analyse excède « m », le résultat du critère microbiologique est non satisfaisant.

Dans le cas de *Listeria monocytogenes*, le résultat révèle que le lot contrôlé est impropre à la consommation.

Que conclure sur le classement de ce produit ?

L'aliment contient une charge en coliformes fécaux et en staphylocoques dépassant les critères fixés, l'aliment est inapte à la consommation. Il peut provoquer une toxi-infection alimentaire.

2. Quels sont les germes témoins de contamination fécale ?

Les germes retenus comme indicateurs sont :

- Coliformes, *E. coli*, Entérobactéries,
- Entérocoques,
- Spores d'anaérobies sulfite-réducteurs et *Clostridium perfringens*.

Pourquoi est-il important de s'assurer qu'un produit n'a pas subi de contamination fécale ?

- une contamination fécale est anormale, elle révèle un problème d'Hygiène Générale.
- Parce que cela signifie la présence possible de pathogènes = un grand nombre de pathogènes.

Les agents pathogènes les plus souvent associés aux toxi-infections alimentaires.