

Norme ISO 7218 – mai 1996**Concernant les numérations par comptage de colonies**

Après la période d'incubation nécessaire, procéder au comptage des colonies pour chaque boîte contenant moins de 300 colonies (des normes spécifiques traitent des cas des colonies difficiles à compter comme les colonies envahissantes).

1. Calcul standard après simple comptage

Le calcul de la concentration en micro-organismes (ou UFC) [N] présents dans l'échantillon essai est une moyenne pondérée à partir des résultats de 2 dilutions successives.

Pour que le calcul soit valable, il est nécessaire de compter sur au moins une boîte contenant au moins 15 colonies.

Soit Σc la somme de toutes les colonies comptées sur toutes les boîtes retenues (et tel que au moins une des boîtes comptées contenait au moins 15 colonies).

Soit V le volume inoculum appliqué à chaque boîte (en général exprimé en mL).

Soit n_1 le nombre de boîtes retenues à la première dilution (en général 2).

Soit n_2 le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution (en général 2).

Soit d le taux de dilution de la première dilution retenue pour les comptages sur boîte.

$$[N] = \frac{\Sigma c}{(n_1 + 0,1n_2)d.V}$$

Arrondir le résultat calculé à deux chiffres significatifs.

Il est possible d'utiliser une formule mathématique donnant l'intervalle de confiance 8 caractérisant la répartition des micro-organismes dans l'échantillon avec une probabilité de 95%.

$$\delta = \left[\frac{\Sigma c}{(n_1 + 0,1n_2)V} + \frac{1,92}{(n_1 + 0,1n_2)V} \pm \frac{1,96\sqrt{\Sigma c}}{(n_1 + 0,1n_2)V} \right] \frac{1}{d}$$

2. Calcul lorsque le comptage est suivi d'une identification

Lorsque la méthode utilisée nécessite une identification, un nombre déterminé α (en général 5) de colonies sont repiquées à partir de chacune des boîtes retenues pour le comptage des colonies. Après identification, on calcule, pour chacune des boîtes, le nombre A de micro-organismes probablement identifiées par la formule :

$$A = \frac{\beta}{\alpha} c$$

où β est le nombre de colonies répondant aux critères d'identification et c le nombre total de colonies dénombrées sur la boîte. A est arrondi au nombre entier le plus proche.

On calcule alors $[N_{\text{ident}}]$ la concentration en micro-organismes identifiés présents dans l'échantillon essai, à l'aide de l'équation :

$$[N_{\text{ident}}] = \frac{\sum A}{(n_1 + 0,1n_2)dV}$$

3. Estimation des petits nombres

3.1. Si aucune boîte ne contient au moins 15 colonies, faire la moyenne arithmétique des colonies comptées sur les 2 boîtes de la plus petite dilution d et tenir compte de cette dilution.

Bien préciser dans l'expression du résultat qu'il s'agit alors d'une estimation en rédigeant ainsi : « nombre estimé de micro-organismes par millilitre = ... »

Les 2 tableaux ci-dessous peuvent aussi être utilisé :

Dénombrement à partir de 2 boîtes de Petri					
Nombre total de colonies comptées sur 2 boîtes	Nombre de microorganismes	Limite de confiance à 95%		Erreur en % par rapport à la limite ¹⁾	
		basse	haute	basse	haute
1	1	<1	3	-97	+457
2	1	<1	4	-88	+261
3	2	<1	4	-79	+192
4	2	1	5	-73	+156
5	2	1	6	-68	+133
6	3	1	6	-63	+118
7	4	2	7	-60	+106
8	4	2	8	-57	+97
9	4	2	9	-54	+90
10	5	2	9	-52	+84
11	6	3	10	-50	+79
12	6	3	10	-48	+75
13	6	3	11	-47	+71
14	7	4	12	-45	+68
15	8	4	12	-44	+65
16	8	5	13	-43	+62
17	8	5	14	-42	+60
18	9	5	14	-41	+58
19	10	6	15	-40	+56
20	10	6	15	-39	+54
21	10	6	16	-38	+53
22	11	7	M	-37	+51
23	12	7	M	-36	+50
24	12	8	18	-36	+49
25	12	8	18	-35	+48
26	13	8	19	-35	+47
27	14	9	20	-34	+46
28	14	9	20	-34	+45
29	14	9	21	-33	+44
30	15	10	21	-32	+43

1) L'erreur en % est calculé entre chaque limite haute et basse et la valeur de la 2^e colonne.

Dénombrement à partir de une seule boîte de Pétri				
Nombre de colonies comptées	Limite de confiance à 95%		Erreur en % par rapport à la limite 1)	
	basse	haute	basse	haute
1	<1	6	-97	+457
2	<1	7	-88	+261
3	<1	9	-79	+192
4	1	10	-73	+156
5	2	12	-68	+133
6	2	13	-63	+118
7	3	14	-60	+106
8	3	16	-57	+97
9	4	17	-54	+90
10	5	18	-52	+84
11	6	20	-50	+79
12	6	21	-48	+75
13	7	22	-47	+71
14	8	24	-45	+68
15	8	25	-44	+65

1) L'erreur en % est calculé entre chaque limite haute et basse et la valeur de la 2° colonne.

3.2. Aucune colonie apparue même à la plus petite dilution d.

Exprimer le résultat comme suit : « moins de x micro-organismes par g ou par mL..... ».