

# TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

## Méthodes de dénombrement des suspensions bactériennes

### 1- Dénombrement par étalement en surface

Pr. Rachida MIMOUNI, Faculté des Sciences, Agadir.

---

---

## ***Dénombrement par étalement d'une suspension bactérienne sur une surface d'un milieu gélosé***

- Première étape: préparer une suspension mère à partir d'une colonie ou d'une culture jeune de 18h,
  - Deuxième étape : préparer plusieurs dilutions au 1/10, c'est à dire transvaser 1mL de la suspension mère dans 9mL d'un liquide physiologique stérile en tube à essai pour préparer la dilution  $10^{-1}$  et continuer ainsi pour les autres dilutions,
  - Important: agiter les suspensions avant de prélever les 1mL,
  - Important: utiliser une pipette graduée stérile de 1mL pour la préparation de chaque dilution.
- 
-

## ***Dénombrement par étalement d'une suspension bactérienne sur une surface d'un milieu gélosé***

- Troisième étape: déposer 0,1 mL de la suspension mère sur la surface d'une gélose nutritive stérile et sèche.
  - Quatrième étape: utiliser un étaloir stérile pour étaler la suspension sur toute la surface de la gélose.
  - Important: utiliser la même pipette et le même étaloir si vous commencez par la dilution  $10^{-2}$ , ensuite  $10^{-1}$  et à la fin la suspension mère.
  - Changer la pipette et stériliser l'étaloir si vous commencez par la suspension mère.
  - Incuber toutes les boites 24h à 37°C.
- 
-

# Résultat du dénombrement par étalement d'une suspension bactérienne sur une surface d'un milieu gélosé



Milieu de culture: Gélose nutritive

Volumeensemencé: 0,1 mL

Durée d'incubation: 24h

Température d'incubation: 37°C

Bactérieensemencée: *E. coli*

# Détermination du nombre de colonies par millilitre de la suspension bactérienne mère

	Suspension mère	Dilution $10^{-1}$	Dilution $10^{-2}$
Volumeensemencé en mL	0,1	0,1	0,1
Nombre de colonie par surfaceensemencée et par dilution	Supérieure à 300 colonies : impossible de compter	Supérieure à 300 colonies : difficile de compter car risque de compter une colonie deux fois ou plus	Entre 30 et 300 colonies soit : 80 colonies
Nombre de colonie par dilution	Boite éliminée	Boite éliminée	80 colonies X 10 = 800
Nombre de colonie par millilitre de la suspension mère	Boite éliminée	Boite éliminée	$800 \times 10^2 = 80000$ $= 8 \times 10^4$

## ***Détermination du nombre de colonies par millilitre de la suspension bactérienne mère***

- Multiplier le nombre de colonie compté sur la dilution retenue pour le dénombrement par **10** pour déterminer le nombre de colonie par mL si le volumeensemencé est de 0,1 mL.
  - Multiplier ensuite le nombre trouvé par le taux de dilution retenue pour calculer le nombre de colonie par 1 mL de la suspension mère.
  - Équation à appliquer = Nombre de colonie compté sur la boîte retenue x Volume total de la dilution qui a servi au dénombrement x Taux de dilution
- 
-

## ***Détermination du nombre de colonies par millilitre de la suspension bactérienne mère***

- Expression des résultats: comme une colonie peut provenir d'une seule cellule bactérienne ou de plusieurs cellules bactériennes (1 streptocoque par exemple est composé de plusieurs cocci, il donne une seule colonie), on exprime le résultat final par le nombre d'unités formant colonies par mL et non par cellules par mL.
  - Le nombre est donc:  $8 \cdot 10^4$  UFC/mL de la suspension mère.
- 
-

# Bon courage



## LIENS UTILES 🙌

### Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

