

## NUMERATION DE LA FLORE TOTALE ET DES COLIFORMES DU LAIT CRU A L'AIDE DES PETRIFILM® SM ET VRB

Il s'agit des films secs rehydratables, mis au point par la société 3M.

Cette technique se développe depuis quelques années pour remplacer les méthodes de dénombrement en boîtes de Petri de la flore aérobie mésophile (ou flore totale) et des coliformes. Elle évite en effet la préparation fastidieuse de milieux, n'occasionne qu'un faible encombrement et facilite le stockage.

### Rappel du principe

Ces milieux sont constitués de deux films enduits de produits deshydratés. Le film inférieur est le support du milieu de culture et contient un agent gélifiant soluble dans l'eau froide. Dans le cas du Petrifilm® SM (flore totale), le milieu de culture est du PCA (Plate Count Agar) ; pour le Petrifilm® VRB (coliformes), il s'agit de VRBL (Violet Red Bile Lactose). Le film supérieur est enduit de l'agent gélifiant et d'un indicateur au tétrazolium pour repérer la croissance des colonies (coloration rouge). Il permet aussi le piégeage et l'accumulation autour des colonies, du gaz dégagé lors de la fermentation du lactose par les coliformes.

### Validation(s)

Cette méthode a été validée par l'AFNOR en décembre 1989, pour le lait cru.

Des études sont en cours actuellement en vue de la validation des Petrifilm® SM et VRB pour les

dénombrements dans le beurre et dans le lait pasteurisé, et dans le fromage –pâtes molles- pour le Petrifilm® VRB.

Il existe également un Petrifilm® pour le dénombrement des *Escherichia coli*, comprenant du milieu VRBL et un indicateur coloré BCIG, réagissant à la présence de  $\beta$ -D-glucuronidase, produite spécifiquement par les colonies d'*E. coli*. Elles apparaissent alors en bleu, entourées de gaz. Il est actuellement étudié, en vue de la validation pour les dénombrement d'*E. coli* dans le beurre, le lait pasteurisé et le fromage.

### Caractéristiques analytiques

Les chiffres donnés ici ont été extraits des articles de PITON et RONGVAUX-GAIDA, Lait, 1990, Vol. 70, p. 345-355 et PITON et GRAPPIN, J. Ass. Off. Anal. Chem., 1991, Vol. 74, N° 1, p. 92-104.

L'étude de la justesse de la méthode a été effectuée sur des échantillons de lait cru de citernes de ramassage contenant entre  $10^4$  et  $6,6 \cdot 10^7$  UFC/ml. Les résultats obtenus avec les Petrifilm® ont été comparés à ceux des méthodes de référence ; l'ensemencement étant cependant réalisé à l'aide de l'appareil Spiral dans ce cas.

L'étude de la répétabilité et de la reproductibilité de la méthode a été effectuée sur des échantillons de lait cru contenant entre  $6,5 \cdot 10^3$  et  $2,9 \cdot 10^5$  UFC/ml ; les méthodes de référence utilisées correspondant aux normes FIL 100A et 73A, alors en vigueur.

| Flore étudiée                       | Flore aérobie mésophile | Coliformes           |
|-------------------------------------|-------------------------|----------------------|
| Justesse                            |                         |                      |
| nombre d'échantillons               | 138                     | 137                  |
| équation de calibrage               | $y = 0,991x + 0,021$    | $y = 0,891x + 0,471$ |
| r                                   | 0,985                   | 0,934                |
| Syx en log UFC/ml                   | 0,128                   | 0,250                |
| X – Y en log UFC/ml                 | 0,028                   | -0,123               |
| X – Y en % par rapport à Y (UFC/ml) | +6,7                    | -32,7                |
| Répétabilité                        |                         |                      |
| nombre d'échantillons               | 40                      | 40                   |
| Sr en log UFC/ml                    | 0,089                   | 0,171                |
| GRSDr en % UFC/ml                   | 22,7                    | 48,3                 |
| RD <sub>95</sub> en % UFC/ml        | 77,5                    | 201,2                |
| Reproductibilité                    |                         |                      |
| nombre d'échantillons               | 40                      | 40                   |
| nombre de laboratoires              | 14                      | 14                   |
| Sr en log UFC/ml                    | 0,167                   | 0,199                |
| GRSDr en % UFC/ml                   | 46,9                    | 58,1                 |
| RD <sub>95</sub> en % UFC/ml        | 193,5                   | 260,7                |

y : log (UFC/ml) méthode de référence, enseigneur Spiral

x : log (UFC/ml) Petrifilm® SM ou VRB selon le cas

r : coefficient de corrélation

Syx : écart-type résiduel

X – Y : différence moyenne entre les résultats des deux techniques

Sr : écart-type de répétabilité

GRSDr : écart-type relatif géométrique de répétabilité

RD<sub>r95</sub> : répétabilité : écart maximum observé dans 95% des cas par rapport à la valeur la plus faible

SR : écart-type de reproductibilité

GRSDR : écart-type relatif géométrique de reproductibilité

RD<sub>r95</sub> : reproductibilité : écart maximum observé dans 95% des cas par rapport à la valeur la plus faible