53ème ANNEE



Correspondant au 23 novembre 2014

الجمهورية الجسزائرية الجمهورية الديمقرطية الشغبية

المركب ال

اِتفاقات دولیة، قوانین، ومراسیم فرارات و آراء، مقررات ، مناشیر، إعلانات و بلاغات

JOURNAL OFFICIEL

DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

CONVENTIONS ET ACCORDS INTERNATIONAUX - LOIS ET DECRETS ARRETES, DECISIONS, AVIS, COMMUNICATIONS ET ANNONCES

(TRADUCTION FRANÇAISE)

ABONNEMENT ANNUEL	Algérie Tunisie Maroc Libye Mauritanie	ETRANGER (Pays autres que le Maghreb)	DIRECTION ET REDACTION SECRETARIAT GENERAL DU GOUVERNEMENT WWW. JORADP. DZ Abonnement et publicité:
	1 An	1 An	IMPRIMERIE OFFICIELLE Les Vergers, Bir-Mourad Raïs, BP 376 ALGER-GARE
Edition originale	1070,00 D.A	2675,00 D.A	Tél : 021.54.3506 à 09 021.65.64.63 Fax : 021.54.35.12
Edition originale et sa traduction	2140,00 D.A	5350,00 D.A (Frais d'expédition en sus)	C.C.P. 3200-50 ALGER TELEX: 65 180 IMPOF DZ BADR: 060.300.0007 68/KG ETRANGER: (Compte devises) BADR: 060.320.0600 12

Edition originale, le numéro : 13,50 dinars. Edition originale et sa traduction, le numéro : 27,00 dinars. Numéros des années antérieures : suivant barème. Les tables sont fournies gratuitement aux abonnés. *Prière de joindre la dernière bande pour renouvellement, réclamation, et changement d'adresse.*

Tarif des insertions : 60,00 dinars la ligne

MINISTERE DU COMMERCE

Arrêté du 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014 rendant obligatoire la méthode de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*staphylococcus aureus* et autres espèces).

Le ministre du commerce,

Vu le décret présidentiel n° 14-154 du 5 Rajab 1435 correspondant au 5 mai 2014 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce :

Vu le décret exécutif n° 05-465 du 4 Dhou El Kaada 1426 correspondant au 6 décembre 2005 relatif à l'évaluation de la conformité ;

Vu l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, modifié et complété relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires ;

Arrête :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire une méthode de dénombrement des staphylocoques à coagulase positive.

Art. 2. — Pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet doivent employer la méthode jointe en annexe du présent arrêté.

Cette méthode doit être utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal* officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 21 Rajab 1435 correspondant au 21 mai 2014.

Amara BENOUNES.

ANNEXE

Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces)

(Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker et inclusion des données de fidélité)

La présente méthode spécifie une technique horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale, par comptage des colonies obtenues sur milieu solide (milieu de Baird-Parker) après incubation en aérobiose à 35° C ou 37° C.

1 - Termes et définitions :

Pour les besoins de la présente méthode, les termes et définitions suivants s'appliquent :

1.1 - Staphylocoques à coagulase positive,

Bactéries formant des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques à la surface d'un milieu de culture sélectif et donnant une réaction positive à la coagulase. lorsque l'essai est effectué selon la présente méthode.

1.2 - Dénombrement des staphylocoques à coagulase positive, détermination du nombre de staphylocoques à coagulase positive trouvé par millilitre ou par gramme d'échantillon, lorsque l'essai est effectué selon la présente méthode.

2 - Principe:

2.1 - Ensemencement en surface d'un milieu gélosé sélectif coulé dans deux séries de boîtes, avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide, ou de la suspension mère dans le cas d'autres produits.

Dans les mêmes conditions, ensemencement des dilutions décimales obtenues à partir de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère, à raison de deux boîtes par dilution.

- **2.2 -** Incubation de ces boîtes à 35° C ou à 37° C (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse) en aérobiose et examen après 24 h et 48 h.
- 2.3 Calcul du nombre de staphylocoques à coagulase positive par millilitre ou par gramme d'échantillon, à partir du nombre de colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques obtenues dans les boîtes retenues aux niveaux de dilution donnant un résultat significatif, et confirmées par un résultat positif de l'essai de la coagulase.

3 - Diluant et milieux de culture :

3.1 - Diluant

Voir la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.

3.2 - Milieu gélosé de Baird-Parker (le milieu gélosé est celui de Baird - Parker avec addition de sulfamézathine dans le cas où l'on suspecte la présence de *Proteus*).

NOTE : des milieux commercialisés peuvent être utilisés. Dans ce cas. il convient de se conformer strictement aux prescriptions du fabricant.

3.2.1 - Milieu de base :

3.2.1.1 - Composition :

Digestat pancréatique de caséine 1	0 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Pyruvate de sodium	0 g
L-Glycine	2 g
Chlorure de lithium	5 g
Agar-agar 12 g à 22	g a)

Eau, pour obtenir un volume final de 1000 ml.

3.2.1.2 - Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition.

Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7.2 ± 0.2 à 25° C.

Répartir le milieu, par quantités de 100 ml, dans des flacons ou fioles (4.5) de capacité appropriée.

Stériliser le milieu à 121°C pendant 15 min.

3.2.2 - Solutions :

3.2.2.1 - Solution de tellurite de potassium :

3.2.2.1.1 - Composition :

Tellurite de potassium ^a (K ₂ T _e 0 ₃)		1 g
Eau	100	ml.

a : Il est recommandé de s'assurer au préalable que le tellurite de potassium dont on dispose convient pour cet essai (3.2.2.1.2).

3.2.2.1.2 - Préparation :

Dissoudre complètement le tellurite de potassium dans l'eau, en chauffant le moins possible.

Il convient que la poudre soit rapidement soluble. Si un composé blanc insoluble est présent dans l'eau, ne pas retenir la poudre.

Stériliser par filtration sur des membranes de $0,22~\mu m$ de porosité.

La solution peut être conservée au maximum 1 mois à $+3^{\circ}$ C \pm 2° C.

Eliminer la solution si un précipité blanc se forme.

3.2.2.2 - Emulsion de jaune d'œuf (à une concentration d'environ 20 % ou selon les instructions du fabricant).

NOTE : Si une préparation commerciale est disponible, il convient de l'utiliser.

Utiliser des œufs frais de poule à coquille intacte. Nettoyer les œufs avec une brosse à l'aide d'un détergent liquide.

Les rincer à l'eau courante puis désinfecter les coquilles, soit en les plongeant dans l'éthanol à 70 % (fraction volumique) pendant 30 s et les laissant sécher à l'air, soit en les pulvérisant d'alcool suivi de flambage.

En opérant de façon aseptique, casser chaque oeuf et séparer le jaune du blanc par transferts répétés du jaune d'une demi-coquille dans l'autre. Placer les jaunes dans un flacon stérile (4.5) et ajouter quatre fois leur volume d'eau stérile. Mélanger vigoureusement. Chauffer le mélange dans le bain d'eau (4.4) réglé à 47° C pendant 2 h et entreposer à +3° C ± 2° C pendant 18 h à 24 h pour laisser se former un précipité. Recueillir aseptiquement le liquide surnageant dans un flacon récemment stérilisé pour l'utilisation.

L'émulsion peut être conservée 72 h au maximum à + 3° C \pm 2° C.

3.2.2.3 - Solution de sulfamézathine (sulfaméthazine, sulfadimidine) :

NOTE : A être utilisée seulement dans le cas où l'on suspecte la présence d'espèces de *Proteus* dans l'échantillon pour essai.

3.2.2.3.1 - Composition :

Sulfaméz	athine	 	 0	,2 g
	d'hydroxyde			
Fau			90	ml

3.2.2.3.2 - Préparation :

Dissoudre la sulfamézathine dans la solution d'hydroxyde de sodium.

Compléter à 100 ml avec de l'eau.

Stériliser par filtration sur des membranes de $0,22~\mu m$ de porosité.

La solution peut être conservée au maximum 1 mois à + 3° C \pm 2° C.

3.2.3 - Milieu complet:

3.2.3.1 - Composition :

Milieu de base (3.2.1)...... 100 ml

a) (Selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar).

Solution de tellurite de potassium (3.2.2.1) 1 ml
Emulsion de jaune d'œuf (3.2.2.2) 5 ml
Solution de sulfamézathine (3.2.2.3) (si nécessaire)

3.2.3.2 - Préparation :

Faire fondre le milieu de base, puis le refroidir à environ 47° C au moyen du bain d'eau (4.4).

Ajouter, de façon aseptique, les deux autres solutions (3.2.2.1 et 3.2.2.2) et, si nécessaire (si l'on suspecte la présence d'espèces de *Proteus* dans l'échantillon pour essai), la solution de sulfamézathine (3.2.2.3), chaque solution étant préalablement réchauffée au bain d'eau à 47 °C, en mélangeant soigneusement après chaque addition.

3.2.4 - Préparation des boîtes de milieu gélosé :

Couler la quantité nécessaire du milieu complet (3.2.3), dans des boîtes de Petri stériles de façon à obtenir une épaisseur de gélose d'environ 4 mm, et laisser se solidifier.

Les boîtes peuvent être conservées, avant séchage, 24 h au maximum à $+3^{\circ}$ C \pm 2° C.

NOTE : pour la durée de conservation de boîtes préparées industriellement, il convient de suivre les instructions du fabricant.

Avant utilisation, sécher les boîtes, de préférence avec le couvercle enlevé, et avec la surface de la gélose tournée vers le bas, dans une étuve réglée entre 25° C et 50° C, jusqu'à disparition des gouttelettes à la surface du milieu.

3.3 - Bouillon cuœr-cervelle :

3.3.1 - Composition:

Digestat enzymatique de tissus animaux	10 g
Extrait déshydraté de cervelle de veau	12,5 g
Extrait déshydraté de coeur de bœuf	5 g
Glucose	2 g
Chlorure de sodium	5 g
Hydrogénorthophosphate disodique anhydre	
(Na ₂ HP0 ₄)	2,5 g
Eau	. 1000 ml

3.3.2 - Préparation :

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en chauffant si nécessaire.

Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,4 \pm 0,2 à 25° C.

Répartir le milieu de culture, par quantités de 5 ml à 10 ml, dans des tubes ou fioles (4.5) de capacité appropriée.

Stériliser le milieu à 121° C pendant 15 min.

3.4 - Plasma de lapin:

Utiliser un plasma déshydraté de lapin, disponible dans le commerce, et le réhydrater en se conformant aux instructions du fabricant.

Si l'on ne peut se procurer du plasma de lapin déshydraté, diluer un plasma de lapin frais et stérile à 1 volume pour 3 volumes d'eau stérile.

Si du citrate de potassium ou du citrate de sodium a été utilisé comme anticoagulant du plasma, ajouter une solution d'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) de manière à avoir 0,1 % d'EDTA dans le plasma réhydraté ou dilué (le plasma oxalaté ou hépariné ne demande pas d'EDTA).

A défaut d'instructions du fabricant, le plasma réhydraté ou dilué doit être utilisé extemporanément.

Avant utilisation, contrôler chaque lot de plasma avec des souches de staphylocoques à coagulase positive ainsi qu'avec des souches de staphylocoques à coagulase négative.

4 - Appareillage et verrerie :

NOTE: Le matériel à usage unique est acceptable au même titre que la verrerie réutilisable, à condition que ses spécifications soient convenables.

Matériel courant de laboratoire de microbiologie et en particulier, ce qui suit.

- 4.1 Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (four) et en chaleur humide (autoclave).
- **4.2 Etuve,** permettant de maintenir les milieux inoculés, les boîtes et les flacons à l'intérieur d'une plage de températures de 35° C \pm 1° C ou 37° C \pm 1° C.
- **4.3** Enceinte de séchage ou étuve, pouvant être maintenue à une température entre 25° C \pm 1° C et 50° C \pm 1° C.
- **4.4 Bain d'eau,** ou dispositif similaire, réglable à 47° C \pm 2° C.
- **4.5 Tubes à essai, flacons** ou **fioles avec des bouchons à vis**, de capacités appropriées, pour la stérilisation et la conservation des milieux de culture et l'incubation des milieux liquides ; en particulier, tubes stériles à hémolyse, ou flacons à fond rond de dimensions 10 mm. 75 mm, environ.
- **4.6 Boîtes de Pétri,** stériles, en verre ou en matière plastique.
 - 4.7 Fil droit, et pipette Pasteur.
- **4.8 Pipettes graduées à écoulement total,** de 1 ml, 2 ml et 10 ml de capacité nominale, graduées respectivement en 0,1 ml et 0,5 ml.

- **4.9 Étaleurs,** stériles, en verre ou en matière plastique.
- **4.10 pH-mètre,** ayant une précision de lecture de \pm 0,01 unité pH à 25° C, permettant de réaliser des mesures précises à \pm 0,1 unité pH.

5 - Echantillonnage

L'échantillonnage et la préparation des échantillons doivent être effectués dans des conditions appropriées.

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

6 - Mode opératoire :

6.1 - Prise d'essai, suspension mère et dilutions

Voir la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique-Règles générales pour la préparation de suspension mère et des dilutions décimales.

6.2 - Ensemencement

6.2.1 - Transférer, à l'aide d'une pipette stérile (4.8), 0,1 ml de l'échantillon pour essai s'il est liquide ou 0,1 ml de suspension mère (dilution 10⁻¹) pour les autres produits, à la surface de chacune des deux boîtes de milieu gélosé (3.2.4).

Répéter l'opération avec la dilution 10^{-2} et les dilutions suivantes si nécessaire.

- **6.2.2** S'il est nécessaire, pour certains produits, de procéder à l'estimation de petits nombres de staphylocoques à coagulase positive, les limites du dénombrement peuvent être augmentées d'une puissance de 10 en ensemençant 1 ml de l'échantillon pour essai s'il est liquide, ou 1 ml de la suspension mère pour les autres produits, soit à la surface d'une grande boîte (140 mm) de milieu gélosé, soit à la surface de trois (3) petites boîtes (90 mm) de milieu gélosé. Dans les deux cas, effectuer ces opérations en double, de façon à avoir deux grandes boîtes ou six petites boîtes.
- **6.2.3** Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé en évitant de toucher les bords de la boîte avec l'étaleur (4.9). Laisser sécher les boîtes, avec leur couvercle en place, pendant, environ, 15 min à la température ambiante.

6.3 - Incubation:

Retourner les boîtes préparées selon 6.2.3, les incuber pendant 24 h \pm 2 h, puis les réincuber pendant 24 h \pm 2 h supplémentaires dans l'étuve (4.2) à 35° C ou à 37° C. (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse).

6.4 - Sélection des boîtes et interprétation

6.4.1 - Après 24 h \pm 2 h d'incubation, marquer sur le fond des boîtes les positions des colonies caractéristiques éventuellement présentes (note 1).

Incuber à nouveau toutes les boîtes à 35° C ou à 37° C (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse) durant 24 h ± 2 h supplémentaires, et marquer les nouvelles colonies caractéristiques. Marquer également les colonies non caractéristiques éventuellement présentes (note 2).

Ne retenir pour le dénombrement que les boîtes renfermant au maximum 300 colonies dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques au niveau de deux dilutions successives. Il faut qu'une des boîtes renferme au moins 15 colonies.

Choisir, en vue de la confirmation (6.5), un nombre déterminé A (en général 5 colonies caractéristiques s'il n'y a que des colonies caractéristiques, ou 5 colonies non caractéristiques, ou 5 colonies caractéristiques et 5 colonies non caractéristiques, ou 5 colonies caractéristiques et 5 colonies non caractéristiques si les deux types sont présents, à partir de chaque boîte).

S'il y a moins de 15 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques sur les boîtes ensemencées avec un produit liquide non dilué ou avec la dilution la plus faible pour les autres produits, il est possible de faire une estimation comme décrit en (6.4.3) et en (7.2).

NOTE 1: Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, brillantes et convexes (1 mm à 1,5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1,5 mm à 2,5 mm de diamètre après 48 h d'incubation) et sont entourées d'une auréole claire qui peut être partiellement opaque. : Après, au moins, 24 h d'incubation, un anneau opalescent peut apparaître dans cette zone claire immédiatement au contact des colonies.

NOTE 2:

Les colonies non caractéristiques ont la même taille que les colonies caractéristiques et peuvent présenter l'une des morphologies suivantes :

- colonies noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit; la zone claire et l'anneau opalescent sont absents ou à peine visibles ;
 - colonies grises dépourvues de zone claire.

Les colonies non caractéristiques sont surtout formées de souches de staphylocoques à coagulase positive contaminant, par exemple, les produits laitiers, les crevettes et les abats. Ce sont moins souvent des souches de staphylocoques à coagulase positive qui contaminent les autres produits.

- **NOTE 3 :** Les **autres colonies** sont celles éventuellement présentes sur les boîtes et qui n'ont pas l'apparence décrite dans les notes 1 et 2 pour les colonies caractéristiques et non caractéristiques. Ces colonies sont considérées comme faisant partie de la flore annexe.
- **6.4.2** Si 1 ml d'inoculum a été réparti sur trois boîtes (7.2.2), effectuer les opérations de dénombrement et de confirmation sur l'ensemble de ces boîtes comme s'il s'agissait d'une seule boîte.
- **6.4.3** Pour faire une estimation de petits nombres de staphylocoques à coagulase positive, retenir toutes les boîtes qui contiennent des colonies caractéristiques et non caractéristiques. Retenir toutes ces colonies en vue de la confirmation sans sortir des limites fixées ci-dessus.

6.5 - Confirmation (recherche de la coagulase)

À l'aide d'un fil stérile (4.7), prélever une partie de chaque colonie sélectionnée (6.4) et l'ensemencer dans un tube ou dans un flacon de bouillon cœur-cervelle (3.3).

Incuber à 35° C ou 37° C (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse) pendant 24 h ± 2 h.

Ajouter aseptiquement 0,1 ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin (3.4) (à moins que d'autres quantités soient spécifiées par le fabricant) dans des tubes stériles à hémolyse ou flacons (spécifiés en 4.5) et incuber à 35° C ou à 37° C (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse).

En inclinant le tube, examiner la coagulation du plasma après 4 h à 6 h d'incubation et, si le test est négatif, réexaminer après 24 h d'incubation, ou examiner après les temps d'incubation préconisés par le fabricant.

Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus de la moitié du volume initialement occupé par le liquide.

A titre de contrôle négatif, ajouter, pour chaque lot de plasma, 0,1 ml de bouillon cœur - cervelle stérile (3.3) à la quantité recommandée de plasma de lapin (3.4) et faire incuber sans ensemencement. Pour que la réaction soit valable, le plasma du tube témoin ne devra pas montrer de signes de coagulation.

7 - Expression des résultats

7.1 - Cas général

7.1.1 - Calcul du nombre α de staphylocoques à coagulase positive identifiés pour chaque boîte retenue :

Calculer, pour chacune des boîtes, le nombre α de staphylocoques à coagulase positive identifiés, selon l'équation suivante :

$$\alpha = \frac{b_c}{A_c} \times C_c + \frac{b_{nc}}{A_{nc}} \times C_{nc}$$

Où

 $A_{\mathcal{C}}$: Nombre de colonies caractéristiques soumises au test de la coagulase (6.5);

 A_{nc} : Nombre de colonies non caractéristiques soumises au test de la coagulase (6.5);

 $b_{\mathcal{C}}$: Nombre de colonies caractéristiques qui ont répondu positivement au test de la coagulase ;

 b_{nc} : Nombre de colonies non caractéristiques qui ont répondu positivement au test de la coagulase ;

 C_c : Nombre total de colonies caractéristiques repérées sur la boîte (6.4);

 $C_{\it RC}$: Nombre total de colonies non caractéristiques repérées sur la boîte (6.4);

Arrondir α à un nombre entier.

7.1.2 - Calcul du nombre N de staphylocoques à coagulase positive identifiés présents dans la prise d'essai :

Pour celles des boîtes qui contiennent 300 colonies au maximum, dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques pour deux dilutions successives, calculer le nombre de staphylocoques à coagulase positive pour chaque boîte tel qu'il est indiqué en (7.1.1) et calculer le nombre N de staphylocoques à coagulase positive identifiés présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée à partir des deux dilutions successives à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum \alpha}{V(n_1 + 0.1 \ n_2) d}$$

Où:

 $\sum\!\alpha$: Somme des colonies de staphylocoques à coagulase positive identifiées sur l'ensemble des boîtes retenues ;

V: Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

 n_1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

 n_2 : Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (la suspension mère est une dilution).

Arrondir à deux chiffres significatifs les résultats obtenus.

Noter le résultat comme étant le nombre de staphylocoques à coagulase positive par millilitre (produit liquide) ou par gramme (autre produit), exprimé par un nombre compris entre 1 et 9,9 multiplié par 10^x , où x est la puissance appropriée de 10.

- **7.1.3 Exemple :** Un dénombrement d'un produit après ensemencement avec 0,1 ml de produit a donné les résultats suivants :
- à la première dilution retenue (10⁻²) : 65 colonies caractéristiques et 85 colonies caractéristiques (aucune colonie non caractéristique);
- à la deuxième dilution retenue (10⁻³) : 3 colonies caractéristiques et 7 colonies caractéristiques (aucune colonie non caractéristique).

Ont été repiquées :

- parmi les 65 colonies, 5 colonies dont toutes les 5 se sont révélées être à coagulase positive ; d'où a = 65 ;
- parmi les 85 colonies, 5 colonies dont 3 se sont révélées être à coagulase positive ; d'où a = 51;
- parmi les 3 colonies, 3 colonies dont toutes les 3 se sont révélées être à coagulase positive ; d'où a = 3 ;
- parmi les 7 colonies, 5 colonies dont toutes les 5 se sont révélées être à coagulase positive ; d'où a =7.

$$N = \frac{65 + 51 + 3 + 7}{0.22 \times 10^{-2}} = 57272$$

Le résultat, après arrondissement, est 5,7 x 10⁴.

7.2 - Estimation de petits nombres :

- **7.2.1** Si les deux boîtes, au niveau de l'échantillon pour essai (produits liquides) ou de la suspension mère (autres produits), contiennent chacune moins de 15 colonies identifiées, exprimer l résultat comme suit.
- **a)** Pour les produits liquides, nombre estimé de staphylocoques à coagulase positive par, millilitre :

$$N\alpha = \frac{\sum \alpha}{V \times 2}$$

Où:

 Σ^{α} : Somme des colonies de staphylocoques à coagulase positive identifiées (7.1.1) sur les deux boîtes retenues :

V : Volume étalé sur chaque boîte.

b) : Pour les autres produits, nombre estimé de staphylocoques à coagulase positive par gramme :

$$N_e = \frac{\sum \alpha}{V \times 2 \times d}$$

Où

 $\Sigma\alpha$: Somme des colonies de staphyloêoques à coagulase positive identifiées (7.1.1) sur les deux boîtes retenues ;

d : Taux de dilution de la suspension mère ;

V : Volume étalé sur chaque boîte.

- **7.2.2** Si les deux boîtes, au niveau de l'échantillon pour essai (produits liquides) ou de la suspension mère (autres produits), ne contiennent aucune colonie de staphylocoques à coagulase positive et si l'ensemencement a été effectué avec 0,1 ml d'échantillon, exprimer le résultat comme suit (cas général d'un inoculum de 0,1 ml):
- moins de 10 staphylocoques à coagulase positive par millilitre (produits liquides);
- moins de 10/d staphylocoques à coagulase positive par gramme (autres produits), où d est le taux de dilution de la suspension mère.
- Si l'ensemencement a été effectué avec 1 ml d'échantillon, exprimer le résultat comme suit :
- moins de 1 staphylocoque à coagulase positive par millilitre (produits liquides);
- moins de 1/d staphylocoque à coagulase positive par gramme (autres produits).

8 - Fidélité:

8.1- Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants (transformés en \log_{10}) (nombre de staphylocoques à coagulase positive par gramme ou par millilitre) où le rapport, sur une échelle normale, entre le plus élevé et le plus bas des deux résultats d'essai obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire , par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un intervalle de temps le plus court possible, n'excédera que dans 5% des cas au plus la limite de répétabilité.

8.2- Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels (transformés en \log_{10}) (nombre de staphylocoques à coagulase positive par gramme ou par millilitre), où le rapport, sur une échelle normale, entre le plus élevé et le plus bas des deux résultats d'essai obtenus à l'aide de la même méthode, sur un matériau identique soumis à l'essai dans des laboratoires différents, par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents, n'excédera que dans 5% des cas au plus la limite de reproductibilité.