
CONTACT PCA + TTC + NEUTRALISANTS

DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES TOTAUX

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose PCA (Plate Count Agar), supplémentée de TTC et de neutralisants est un milieu prêt à l'emploi-utilisé pour la détection et le dénombrement de la flore totale présente sur les surfaces. Le format en boîte contact permet, par empreinte sur gélose, de contrôler les points critiques en industrie (exemples : les aires protégées, les programmes de surveillance microbiologique des surfaces et des environnements industriels).

2 HISTORIQUE

L'appréciation des flores microbiennes de surface présente un intérêt primordial pour les contrôles d'hygiène alimentaire selon J. Rozier et J. Pantaléon. Ils citent l'exemple de la viande pour montrer que ce sont les germes répandus sur le revêtement aponévrotique des carcasses ou bien sur les surfaces du matériel et des instruments qui réalisent très rapidement le « microbisme » indésirable de cette denrée. Ils étudient et comparent les techniques de dénombrement des germes de surface. Elles consistent en des écouvillonnages, des prélèvements de lambeaux tissulaires superficiels, la prise de décalques au moyen de tampons de liège, de caoutchouc, d'étoffe ou de papier, ou bien encore l'application de plaques de gélose. Le principal inconvénient est la complexité d'emploi. L'opérateur, qui se doit d'être compétent, a généralement besoin de matériel d'aseptisation pour effectuer convenablement son prélèvement. Par ailleurs, un laboratoire, même faiblement équipé, est nécessaire pour tirer profit de cette opération préliminaire. Ils proposent donc une méthode simple à réaliser qui consiste en l'utilisation de boîtes en plastique contenant des géloses nutritives de divers types. Celles-ci sont coulées de manière à former un ménisque de 1 à 2 mm d'épaisseur venant coiffer le fond de la boîte. Elles peuvent ainsi être facilement appliquées sur les surfaces à contrôler.

3 PRINCIPES

Le milieu forme un ménisque convexe qui permet l'application directe de la gélose sur les zones de contrôle, aussi bien sur les murs, les sols, les ustensiles ou encore sur le personnel. Le milieu contient plusieurs neutralisants qui permettent d'inhiber les résidus de désinfectants éventuellement présents sur les surfaces à contrôler, afin d'évaluer les niveaux de contamination avant et après désinfection de l'environnement de la chaîne alimentaire.

Les neutralisants sont sélectionnés pour inactiver les résidus de désinfectants pouvant être présents sur les surfaces, tels les aldéhydes et phénols, les ammoniums quaternaires, les composés oxydants.

Le TTC (Chlorure de triphényltétrazolium) est réduit en formazan insoluble par les bactéries (incluant Proteus et Pseudomonas), donnant une coloration rosée à rouge aux colonies.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	2,5 g
- Glucose	1,0 g
- Chlorure de triphényltétrazolium (TTC).....	0,1 g
- Mélange de neutralisants	7,2 g
- Sodium thiosulfate.....	0,5 g
- Agar agar bactériologique.....	12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,0 ± 0,2.

NOTE : Le chlorure de triphényltétrazolium (TTC) est utilisé afin de faciliter la lecture des colonies.

5 MODE D'EMPLOI

- Utiliser les milieux de culture à température ambiante et sur une surface sèche.
- Ouvrir la boîte et appliquer la gélose directement sur la surface à contrôler, et maintenir une pression uniforme dans la durée (exemple 500g pendant 10s selon la norme NF EN ISO 18593). Fermer et conserver la boîte entre 1 et 8°C dans un conteneur de transport approprié et incuber dans les 48 heures suivantes.
- Procéder au nettoyage de la surface échantillonnée afin d'enlever les traces de nutriments, d'humidité et d'éléments chimiques ou physiques résultants de l'application de la gélose.
- Incuber à 30°C pendant 48 à 72 heures.

✓ **Incubation :**
48-72h h à 30 °C

NOTE : Il est recommandé de procéder à un contrôle d'efficacité du mélange de neutralisants présent dans les milieux par rapport au produit désinfectant utilisé, compte tenu de la diversité des antiseptiques existants sur le marché.

6 LECTURE

Procéder au comptage de toutes les colonies. Le quadrillage du fond des boîtes permet de faciliter la numération.

Diviser le nombre de colonies caractéristiques par l'aire de la surface prélevée et en déduire le nombre d'unités formant colonies (UFC) par centimètre carré de surface.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

7 CONTROLE QUALITE

Réponse culturelle après 72 heures d'incubation à 30 ±1 °C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 70 \%$
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00193	$P_R \geq 70 \%$
<i>Bacillus subtilis ssp. spizizenii</i>	WDCM 00003	colonies oranges

8 CONSERVATION

Milieu préparé en boîtes : 2-8°C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Les sachets fermés peuvent être stockés pendant 30 jours à 25°C.

9 PRESENTATION

Milieu pré-coulé en boîtes :

Coffret de 20 boîtes BM20608

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rozier, J.; Pantaléon, J. 1969. Méthode simple et rapide d'appréciation des flores microbiennes de surface (note préliminaire). Académie vétérinaire de France, Paris (FRA).

NF EN 1040. Avril 2006. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide de base des antiseptiques et des désinfectants chimiques.

NF EN ISO 18593. Juillet 2018. Microbiologie de la chaîne alimentaire Méthodes horizontales pour les prélèvements de surface.

11 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prépondérantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : CONTACT PCA+TTC+Neutralisants_FR_V3.

Date création : Octobre 2019

Date de révision : Juin 2021

Motif de révision : Révision générale

ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

CONTACT PCA + TTC + NEUTRALISANTS

Dénombrement des microorganismes totaux.

Lecture :

Croissance obtenue après 48 heures d'incubation à 30 °C.

