

GELOSE POUR LE COMPTAGE DES GERMES DE SURFACE

DENOMBREMENT DES GERMES DE SURFACE

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose pour le comptage des germes de surface permet de dénombrer les microorganismes par application directe de la gélose sur les surfaces à tester. La mise en œuvre de cette technique simplifiée permet de bien vérifier l'état sanitaire de l'équipement après le nettoyage et la désinfection. En outre, elle peut servir à l'estimation de la charge bactérienne cutanée du personnel.

La gélose peut être aussi utilisée pour le contrôle de l'air.

2 PRINCIPES

L'association entre la peptone de caséine (Tryptone) et la peptone de soja permet d'obtenir une croissance optimale qui est due à la synergie réalisée entre l'apport protidique de la caséine et l'apport glucidique du soja.

Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.

Le milieu, dérivé de la gélose Tryptone-caséine-soja, contient 4 substances neutralisantes qui assurent l'inactivation de la plupart des désinfectants pouvant se trouver éventuellement présents à l'état de traces après un nettoyage. Cette association facilite le développement des microorganismes résiduels revivifiables.

L'association lécithine-polysorbate-histidine-thiosulfate permet de neutraliser la plupart des désinfectants.

Le polysorbate neutralise l'hexachlorophène et les phénols.

La lécithine neutralise l'activité de la chlorhexidine et des phénols.

L'association entre la lécithine et le polysorbate provoque l'inhibition des ammoniums quaternaires.

Le thiosulfate de sodium neutralise les dérivés halogénés.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	15,0 g
- Peptone papainique de soja	5,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Lécithine	0,7 g
- Polysorbate (Tween 80)	5,0 g
- Thiosulfate de sodium, 5H ₂ O	0,5 g
- L-histidine	1,0 g
- Agar agar bactériologique	20,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,3 ± 0,2.

4 PREPARATION

- Mettre en suspension 52,2 g de milieu déshydraté (BK130) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes à raison de 18 mL.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Couler la gélose dans une boîte de Petri quadrillée stérile, de 65 mm de diamètre.
- Laisser solidifier sur une surface froide, sous flux laminaire d'air stérile et remettre le couvercle sur la boîte.

✓ **Reconstitution :**
52,2 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

NOTE

La quantité de milieu versé doit permettre l'obtention d'un ménisque bien formé. Pour d'autres diamètres de boîte, adapter le volume de gélose.

5 MODE D'EMPLOI

- Presser directement et fermement la gélose sur la surface à tester, sans décrire de mouvement latéral.
- Maintenir un temps de contact de 10 secondes et une pression telle que celle exercée par une masse de 500 g.
- Fermer les boîtes de contact immédiatement après l'ensemencement.
- Incuber suivant le protocole analytique utilisé, en maintenant le couvercle vers le haut.

6 LECTURE

Procéder au comptage des colonies. Le quadrillage du fond des boîtes permet de faciliter la numération. Diviser le nombre de colonies caractéristiques par l'aire de la boîte (en général 25 cm²) et en déduire le nombre d'unités formant colonies (UFC) par centimètre carré de surface.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-crème, homogène, légèrement mottée.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale après incubation à 32,5 °C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
¹ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 70 \%$
¹ <i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00033	$P_R \geq 70 \%$
¹ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026	$P_R \geq 70 \%$
¹ <i>Candida albicans</i>	WDCM 00054	$P_R \geq 70 \%$
² <i>Aspergillus brasiliensis</i>	WDCM 00053	$P_R \geq 70 \%$

⁽¹⁾ pendant 48 heures

⁽²⁾ pendant 72 heures

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-20 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en tubes (*) : 180 jours à 2-25 °C.

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK130HA

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rozier, J., et Pantaléon, J. 1969. Méthode simple et rapide d'appréciation des flores microbiennes de surface. Bull. Acad. Vet., XII: 119-125.

Desbordes, J. 1977. Biodégradation microbienne des antiseptiques et conservateurs. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon, 10 (4): 291-311.

Drouin, P., et Toux J.Y. 1985. Méthode bactériologique pour apprécier la désinfection des poulaillers. Bull. d'Inf. Station Exp. d'Aviculture de Ploufragan, 25: 176-178.

Singer, S. 1987. The use of Preservative Neutralizers in Diluents and Plating Media. *Cosmetics and Toiletries*, 102: 55-60.

ISO 18593. Juin 2004. Microbiologie des aliments — Méthodes horizontales pour les techniques de prélèvement sur des surfaces, au moyen de boîtes de contact et d'écouvillons.

11 AUTRES INFORMATIONS

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

Code document : COMPTAGE SURFACE_FR_V6.

Date création : 11-2000.

Date de révision : 03-2016.

Motif de révision : Révision générale.