

CONTACT VRBL + NEUTRALISANTS

RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES COLIFORMES TOTAUX ET FECAUX

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants dans les produits alimentaires. Ce milieu est supplémenté de neutralisants permettant son utilisation pour contrôler les points critiques en industrie (exemples : les aires protégées, les programmes de surveillance microbiologique des surfaces et des environnements industriels).

2 PRINCIPE

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.

La fermentation du lactose se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur pH (rouge neutre), et par la précipitation d'acides biliaires autour des colonies.

La présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande	7,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Sels biliaires	1,5 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Rouge neutre	30,0 mg
- Cristal violet.....	2,0 mg
- Mélange de neutralisants	7,2g
- Agar agar bactériologique.....	12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,4 ± 0,2.

4 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 pendant 24 heures à 30, 37 ou 44°C selon le référentiel utilisé.

✓ **Incubation :**
24h à 30, 37 ou 44°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.

5 LECTURE

Les coliformes présentent des colonies rouges roses à violacées de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm et parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

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 surface prélevée et en déduire le nombre d'unités formant colonies (UFC) par centimètre carré de surface

6 CONTROLE QUALITE

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 30 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	$P_R \geq 50 \%$	Colonies rouge pourpre à rouge violacée
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025		Colonies incolores à beige-rosé
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée	-

7 CONSERVATION

Milieu préparé en boîtes : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Les sachets fermés peuvent être stockés pendant 10 jours à 25°C.

8 PRESENTATION

Milieu pré-coulé en boîtes :

Coffret de 20 boîtes BM20908

9 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF ISO 4832. Juillet 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes. Méthode par comptage des colonies.

NF V08-050. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes présumés par comptage des colonies obtenues à 30°C.

NF V08-060. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture (Tirage 2 (2016-01-01)).

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

10 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.

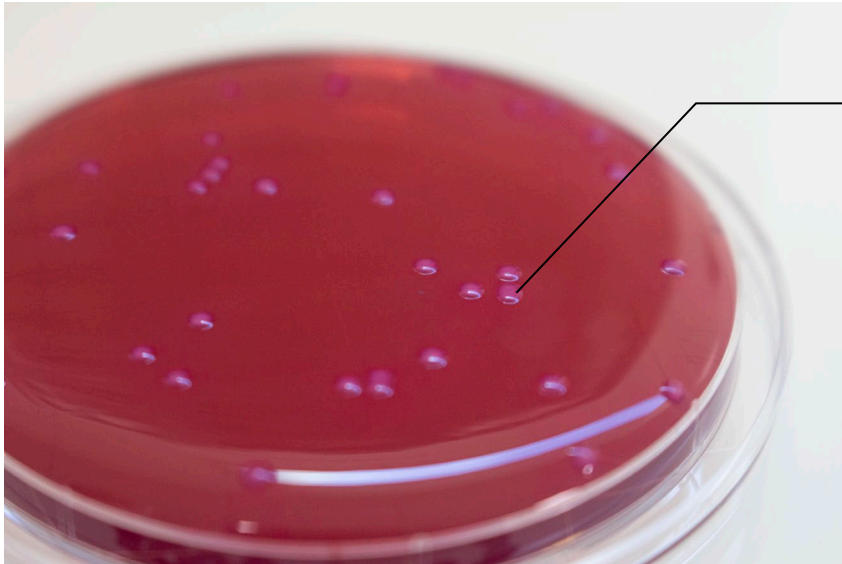
Code document : Contact VRBL+ Neutralisants_FR_V3.
Date création : Octobre - 2019
Date de révision : Juin - 2021
Motif de révision : Révision générale (V2 non applicable).

CONTACT VRBL + NEUTRALISANTS

Détection et dénombrement des coliformes.

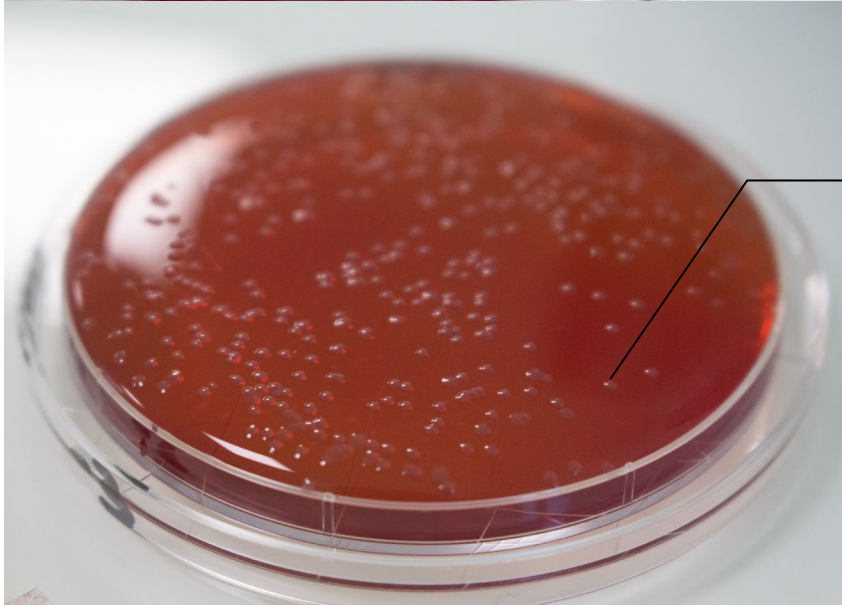
Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 30 °C



Citrobacter freundii

Colonie caractéristique :
couleur rouge-rose à violacée



Pseudomonas aeruginosa

Colonie non caractéristique : incolore à
beige rosé