
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 gélases 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
- Sodium thiosulfate	0,5 g
- Agar agar bactériologique.....	12,0 g

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

Un mélange de neutralisants est ajouté en fonction des spécificités du milieu.

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 500 g pendant 10 s 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 :**

48-72 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.

7 CONTROLE QUALITE

Réponse culturale après 72 heures d'incubation à 30 ± 1 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Bacillus subtilis</i>	WDCM 00003	$P_R \geq 50$ %, colonies rouge foncé
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 50$ %, colonies rouge foncé
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00032	$P_R \geq 50$ %, colonies rouge foncé

8 CONSERVATION

Milieu préparé en boîtes : 2-25°C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

9 PRESENTATION

Milieu pré-coulé en boîtes :

Coffret de 30 boîtes BM20609

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.

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 11133/A1. Mars 2018. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 11133/A2. Mai 2020. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

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_BM20609_v1(fr)

Date création : 12-2025

Date de révision : -

Motif de révision : -