

P.C.A./Gélose (Plate-Count Agar)

355-4459 / 355-4457
356-3989 / 356-4475

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu gélosé utilisé pour le dénombrement de la flore aérobie totale des produits alimentaires.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

• MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF EN ISO 4833 (Mai 2003)** : Directives générales pour le dénombrement des micro-organismes - Technique de comptage des colonies à 30°C (IC : V 08-011).

• **NF ISO 7698 (Août 1991)** : Céréales, légumineuses et produits dérivés - Dénombrement des bactéries, levures et moisissures (IC : V 03-763).

• **NF V 08-051 (Février 1999)** : Microbiologie des aliments - Dénombrement des micro-organismes par comptage des colonies obtenues à 30°C - Méthode de routine.

• **NF V 08-301 (Juin 1983)** : Microbiologie alimentaire - Produits déshydratés - Examen microbiologique.

• Méthodes d'analyses des laits pasteurisés (Arrêté du 3 Janvier 1985 paru au JO du 17 Février 1985 modifiant l'arrêté du 21 Juin 1982 paru au JO du 11 Juillet 1982).

• Appréciation de la qualité bactériologique des laits (Arrêté du 2 Mai 1985 paru au JO le 12 Juin 1985).

PRINCIPE

La croissance de la plupart des bactéries aérobies est favorisée par les substances nutritives apportées par la peptone, les facteurs de croissance de l'extrait de levure, et le glucose utilisé comme source énergétique.

PRESENTATION

Pré-coulé

• 90 mm x 20 boîtes

code 356-3989

Prêt à l'emploi

• 100 ml x 6 flacons

code 355-4459

• 200 ml x 6 flacons

code 355-4457

Déshydraté

• 500 g

code 356-4475

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Pré(coulé) : + 2 - 20 °C
- Prêt à l'emploi : + 15 - 25 °C
- Déshydraté : + 15 - 25 °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro de lot ont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Digestat enzymatique de caséine	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	1 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25 °C) final = 7,0 ± 0,2	

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

(facultatif)

- Gélose blanche stérile (**codes 356 4946 ou 356 4985**)
- Diluant (s)
- Eau distillée

Voir Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)

MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI) (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur- homogénéisateur
- Agitateur de type Vortex
- Flacons en Pyrex avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø= 90 mm)
- Bains-marie avec une précision de ± 1 °C
- Pipettes stériles (0,1 ml, 1 ml,.....)
- Etaleur stérile
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Autoclave

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 20,5 grammes de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution.

P.C.A./Gélose (Plate-Count Agar)

Répartir en flacons et stériliser à l'autoclave à 121 °C (± 1 °C) pendant 15 ou 20 minutes.

Taux de reconstitution : 20,5 g/l
500 g de poudre permettent de réaliser 24,4 litres de milieu.

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

Ensemencement en profondeur

Placer dans les boîtes de Pétri stériles 1 ml de chaque échantillon à analyser.

Verser rapidement 10 à 15 ml de milieu de culture fondu et ramené à une température entre 44 °C-47 °C. Homogénéiser parfaitement.

Après solidification complète et uniquement dans le cas où l'on suspecte le produit à examiner de contenir des micro-organismes dont les colonies envahissent la surface du milieu, couler à la surface du milieu ensemencé, 4 ml de gélose blanche.

Lorsque celle-ci est solidifiée, retourner les boîtes de Pétri et les incubent dans cette position 72 heures (± 3 h) à 20°C, 30°C et 37°C en fonction du produit analysé et de la flore recherchée.

Ensemencement en surface

Couler le milieu en boîte de Pétri et après refroidissement, déposer à la surface 0,1 ml de l'échantillon à analyser. Étaler l'inoculum rapidement et soigneusement à l'aide d'un étaleur stérile. Retourner les boîtes et les incubent dans cette position.

La température et la durée d'incubation varient selon les bactéries que l'on désire dénombrer (mésophiles, psychotrophes, thermophiles).

LECTURE ET INTERPRÉTATION

Compter toutes les colonies dans les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies. Exprimer le résultat par millilitre ou par gramme de l'échantillon examiné.

PRECAUTION D'EMPLOI

- Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la solution mère (ou de la dilution 10^{-1} dans le cas d'un produit solide) et le moment où les dilutions sont en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 15 minutes.

- Le développement des colonies sur le fond de la boîte de Pétri pouvant nuire à la lecture, il est recommandé de limiter la durée entre le

dépôt de l'inoculum au fond de la boîte et la répartition de la première couche.

De plus, homogénéiser l'inoculum et le milieu de culture par des mouvements rotatifs.

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Résultats après 72H à 30 °C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	PR ≥ 0.7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	PR ≥ 0.7
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	PR ≥ 0.7

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

PCA / Flore aérobie totale / Produits alimentaires / Dénombrement / Milieu.

BIBLIOGRAPHIE

- **Standard methods for the examination of water and waste water, 15th Ed. (1980):** American Public Health Association, Inc., Washington D.C.
- **Standard methods for the examination of dairy products, 14th Ed - (1978):** American Public Health Association, Inc., Washington D.C.