

CONTACT VRBG + NEUTRALISANTS

RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES ENTEROBACTERIES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose VRBG (gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) avec neutralisants est utilisée pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries, mais également pour la recherche des bactéries à Gram négatif et résistant aux sels biliaires. Ce milieu est utilisé dans le cadre des contrôles des 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 présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif.

La dégradation du glucose en acide est révélée par le virage au rouge de l'indicateur de pH, le rouge neutre.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu, **avec neutralisants** :

- Digestat enzymatique de tissus animaux.....	7,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Glucose.....	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.....	7,2 g
- Agar agar bactériologique.....	13,0 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 à 37°C pendant 24 ± 2 heures, conformément à la norme NF EN ISO 21528-1 ou selon les conditions du référentiel utilisé.

✓ **Incubation** :
24 ± 2h à 37 ± 1°C

NOTES :

Alternativement, la température de 30 °C peut être choisie lorsque le dénombrement des entérobactéries mésophiles est entrepris dans le cadre du contrôle sanitaire d'un procédé technologique.

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 entérobactéries présentent des colonies roses à rouges violacées, entourées ou non d'un halo violet de sels biliaires précipités.

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

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

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 37°C, (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes	Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques	
<i>Salmonella</i> Typhimurium <i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00031 WDCM 00012 WDCM 00087	$P_R \geq 50 \%$ $P_R \geq 50 \%$ Inhibée	Colonies roses à rouge-violacé, avec halo violet -

7 CONSERVATION

Milieu préparé en boîtes : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

8 PRESENTATION

Milieu pré-coulé en boîtes :

Gélose VRBG, avec neutralisants Coffret de 20 boîtes BM20708

9 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF V08-054. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des entérobactéries présumées par comptage des colonies obtenues à 30°C ou à 37°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 21528-1. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae - Partie 1 : recherche des Enterobacteriaceae.

NF EN ISO 21528-2. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire. Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae. Partie 2 : Méthode par comptage des colonies.

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 VRBG avec Neutralisants_FR_V4.

Date création : Octobre -2019

Date de révision : Juin-2021

Motif de révision : Révision générale

CONTACT VRBG + NEUTRALISANTS

Recherche et dénombrement des Entérobactéries

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37 °C.

