
GELOSE OXFORD

DETECTION DES *LISTERIA*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Oxford est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et la détection de *Listeria monocytogenes* et des autres *Listeria* dans les produits alimentaires, même fortement contaminés.

Le milieu peut être utilisé comme second milieu au choix dans le cadre de la méthode de recherche de *Listeria monocytogenes* en microbiologie des aliments NF EN ISO 11290-1.

2 HISTORIQUE

Le milieu a été réalisé par Curtis *et al.* en 1988 pour l'isolement de *Listeria monocytogenes* à partir d'échantillons cliniques contenant une importante microflore contaminante. Dans la plupart des cas, les auteurs ont observé que les colonies de *Listeria* apparaissaient en 24 heures d'incubation et que les microorganismes associés étaient inhibés. Les études ont été fondées sur les travaux de Rodriguez (1984) qui le premier a utilisé l'esculine et les sels ferriques afin de visualiser *Listeria monocytogenes* par son caractère esculinase-positif. Cependant, beaucoup de milieux sélectifs pour *Listeria* qui contenaient de l'esculine, laissaient également cultiver les entérocoques. Curtis *et al.* ont démontré qu'en présence de chlorure de lithium, d'acriflavine, de cycloheximide, de colistine, de céfotétan et de fosfomycine, la microflore secondaire était inhibée.

3 PRINCIPES

La peptone favorise l'excellente croissance des *Listeria*.

L'extrait de levure est une source du complexe vitaminique B.

L'amidon représente la source énergétique du développement.

Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.

Les *Listeria* hydrolysent l'esculine en glucose et en esculetine. Ce dernier composé forme un complexe noir en présence des ions ferriques apportés par le citrate de fer.

Le mélange inhibiteur est composé de trois antibiotiques (colistine, céfotétan et fosfomycine), d'un antifongique (cycloheximide), du chlorure de lithium et d'un colorant antiseptique (acriflavine).

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu complet :

- Peptones	23,0 g
- Amidon	1,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Esculine	1,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal	0,5 g
- Chlorure de lithium	15,0 g
- Cycloheximide	400,0 mg
- Colistine sulfate	20,0 mg
- Céfotétan	2,0 mg
- Fosfomycine	10,0 mg
- Acriflavine	5,0 mg
- Agar agar bactériologique	13,0 g

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

Pour 58,5 g de base déshydratée BK110

- Peptones	23,0 g
- Amidon	1,0 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Esculine.....	1,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	0,5 g
- Chlorure de lithium.....	15,0 g
- Agar agar bactériologique.....	13,0 g

Pour un flacon de supplément BS003

- Cycloheximide	200,0 mg
- Colistine (sulfate)	10,0 mg
- Céfotétan	1,0 mg
- Fosfomycine	5,0 mg
- Acriflavine	2,5 mg

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 58,5 g de milieu déshydraté (BK110) 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 complète.
- Répartir en flacons à raison de 100 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C

- Réhydrater le supplément BS003 avec 5 mL d'une solution [1/1] éthanol / eau distillée stérile.
- Agiter ou vortexer le flacon de supplément de façon à assurer une complète dissolution, tout en évitant la formation de mousse.

- Ajouter stérilement 1 mL de supplément par volume de 100 mL de base.
- Homogénéiser parfaitement.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
58,5 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

✓ **Réhydratation :**
5 mL 1 : 1 éthanol / eau

✓ **Ajout base :**
1 mL / 100 mL

6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Effectuer un isolement au moyen d'une anse bouclée, à partir d'un bouillon d'enrichissement sélectif.
- Incuber à 37 ± 1 °C pendant 24 à 48 heures.

Note :

Pour des aliments peu contaminés par une flore annexe, le milieu peut être incubé à 30 °C ou à 35 °C.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 h à 48 h à 37 °C

7 LECTURE

Après 24 heures d'incubation, les *Listeria* forment des colonies vert-olive entourées d'un halo noir. Après 48 heures, elles deviennent plus foncées avec un centre noir en creux et sont entourées de zones noires.

La gélose Oxford est un milieu très sélectif, cependant il est parfois possible d'observer des colonies de staphylocoques ou d'entérocoques (qui cultivent légèrement en donnant une faible coloration jaune ou noire, généralement après 30 à 40 heures d'incubation).

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu de base déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.

Supplément : lyophilisat jaune, donnant après reconstitution une solution jaune vert, fluorescente.

Milieu préparé (complet) : gélose jaune-vert à reflet bleuâtre.

Réponse culturale de croissance après 24-48 heures d'incubation à 37 °C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021	$P_R \geq 50 \%$	Colonies vert-olive avec halo noir
<i>Listeria monocytogenes</i>	WDCM 00109	$P_R \geq 50 \%$	Colonies vert-olive avec halo noir
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée, score 0	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée, score 0	-

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30 °C.

Supplément sélectif : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu de base préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

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

Supplément lyophilisé reconstitué (*) : 7 jours à 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté : Gélose Oxford base

Flacon de 500 g BK110HA

Supplément sélectif pour gélose Oxford (CCCFA) :

Coffret de 10 flacons qsp 500 mL BS00308

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Curtis G.D.W., Mitchell R.G., King A.F., and Griffin E.J. 1989. A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. Letters in Appl. Microb., 8: 95-98.

Curtis G.D.W., Nichols W.W., and Falla T.J. 1989. Selective agents for *Listeria* can inhibit their growth. Letters in Appl. Microb., 8: 169-172.

Tiwari, N.P. and Aldenrath S.G. 1990. Isolation of *Listeria monocytogenes* from Food Products on Four Selective Plating Media. Journ. of Food Protection, 53: 382-385.

Journal Officiel du 7 Avril 1992. Contrôle microbiologique des produits végétaux ou d'origine végétale. (arrêté du 13 mars 1992).

NF EN ISO 11290-1. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* et *Listeria* spp. - Partie 1 : méthode de recherche.

12 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 : GELOSE OXFORD_FR_V13

Date création : 01-2003

Date de révision : 07-2022

Motif de révision : Modification d'une souche dans le paragraphe contrôle qualité.

Gélose OXFORD

Détection et dénombrement des *Listeria*

Lecture :

Croissance obtenue après 48 heures d'incubation à 37 °C.

Listeria monocytogenes

Colonie caractéristique :
couleur vert-olive à centre noir en
creux entourée d'un halo noir

