

# GELOSE GLUCOSEE AU BCP

## DENOMBREMENT DES SPORES

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose glucosée au pourpre de bromocrésol (BCP) est utilisée pour le dénombrement des spores de *Bacillus* et autres bactéries aérobies mésophiles et thermophiles (notamment *Bacillus stearothermophilus* responsable du "flat sour") dans les matières premières et ingrédients entrant dans la composition des conserves non acides (pH > 4,5). Elle est aussi utilisée pour l'analyse des prélèvements de surface et des eaux de process des conserveries.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF V08-602.

### 2 HISTORIQUE

Le milieu a été développé par les laboratoires de la National Canners Association pour le dénombrement des germes aérobies mésophiles et thermophiles dans le sucre employé dans les conserves alimentaires.

### 3 PRINCIPES

L'amidon soluble, qui est un agent protecteur, favorise la germination des spores.

Les germes qui acidifient le milieu à partir du glucose font virer au jaune l'indicateur de pH, le pourpre de bromocrésol.

Les colonies non acidifiantes restent bleues.

### 4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone .....	10,0 g
- Glucose .....	5,0 g
- Amidon soluble.....	2,0 g
- Pourpre de bromocrésol.....	40,0 mg
- Agar agar bactériologique .....	15,0 g

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

### 5 PREPARATION

#### Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 32,0 g de milieu déshydraté (BK042) 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 tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution:**  
32,0 g/L

✓ **Stérilisation:**  
15 min à 121 °C

#### Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier :

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou le milieu prêt-à-liquéfier (BM168) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir à 44-47°C.

## 6 MODE D'EMPLOI

### Dénombrement des spores bactériennes thermorésistantes (V08-602)

- Chauffer le produit à analyser pendant 10 minutes à 95-100 °C afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores.
- Transférer 1 mL de l'échantillon et de ses dilutions décimales suivantes dans 2 boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu préalablement maintenu à 44-47 °C.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Ajouter une seconde couche de gélose et laisser solidifier.
- Incuber à 37 ± 1 °C, pour la recherche des bactéries aérobies mésophiles, pendant 48 ± 2 heures.
- Incuber la seconde boîte à 55 ± 1 °C pour la recherche des bactéries aérobies thermophiles, pendant 48 ± 2 heures.

✓ **Ensemencement:**  
1 mL en double couche

✓ **Incubation :**  
48 ± 2 h à 37 ± 1 °C  
48 ± 2 h à 55 ± 1 °C

### Dénombrement des spores de *Bacillus* et autres bactéries aérobies mésophiles et thermophiles

- Chauffer le produit à analyser afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores.
- Transférer l'inoculum dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler 15 mL de milieu préalablement maintenu à 47°C.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à :
  - 30 ± 1 °C pendant 5 jours, pour les spores de *Bacillus* mésophiles.
  - 55 ± 1 °C pendant 5 jours, pour les spores de *Bacillus* thermophiles, en prenant soin de couler dans le couvercle des boîtes quelques gouttes d'huile de paraffine stérile pour assurer l'étanchéité.

✓ **Ensemencement:**  
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**  
5 jours à 30 °C  
5 jours à 55 °C

#### NOTE :

Pour éviter le dessèchement des boîtes à 55 °C, il est possible d'ajouter sur le bord de la boîte quelques gouttes d'huile de paraffine stérile pour assurer l'étanchéité.

## 7 LECTURE

Dénombrer séparément les colonies acidifiantes de couleur jaune et les colonies non acidifiantes de couleur bleue. Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

## 8 CONTROLE QUALITE

**Milieu déshydraté :** poudre beige-vert, fluide et homogène.

**Milieu prêt-à-l'emploi :** gélose violette.

Réponse culturale après 48 heures d'incubation (V 08-602, NF EN ISO 11133) :

Microorganismes	Température d'incubation	Croissance (Rapport de productivité : $P_R$ )
<i>Bacillus licheniformis</i> WDCM 00068	37 °C	$P_R \geq 70\%$
<i>Geobacillus stearothermophilus</i> WDCM 00069	55 °C	$P_R \geq 70\%$

## 9 CONSERVATION

**Milieu déshydraté :** 2-30 °C.

**Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :** 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

**Milieu préparé en tubes ou en flacons (\*) :** 180 jours à 2-8 °C.

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

## 10 PRESENTATION

---

### Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g ..... BK042HA

### Milieu prêt-à-liquéfier :

Pack de 10 flacons de 200 mL ..... BM16808

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

National Canners Association. 1933. Bacterial Standards for Sugar.

NF V08-602. Mai 2011. Microbiologie des aliments. Dénombrement des spores dans les produits alimentaires avant traitement d'appertisation par comptage des colonies.

## 12 AUTRES INFORMATIONS

---

Les mentions portées sur l'étiquette 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 GLUCOSEE BCP\_FR\_V8

Date de création : 11-2000

Date de révision : 05-2017

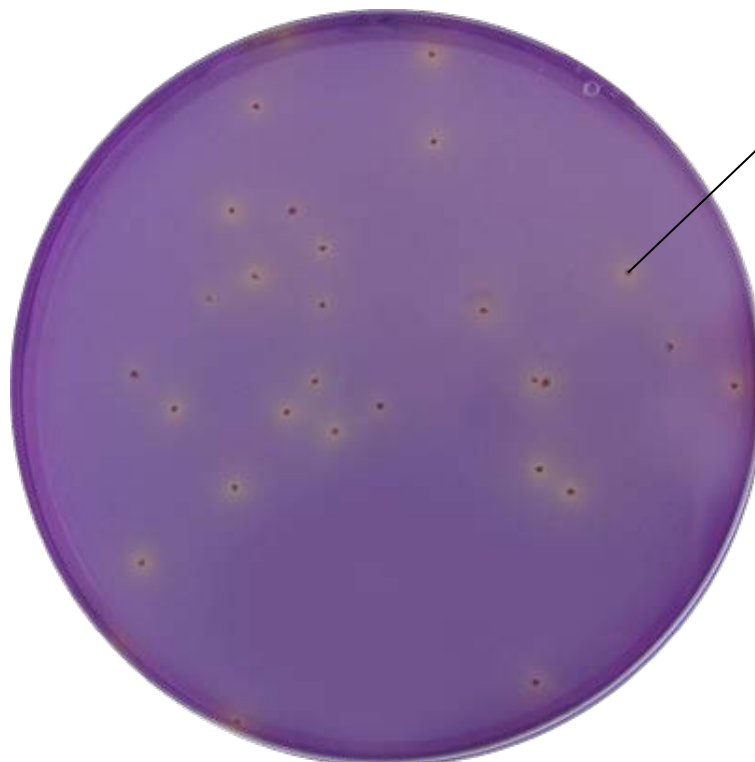
Motif de la révision : Modification du mode d'emploi : ajout du protocole de dénombrement des spores de *Bacillus*.

### Gélose glucosée au BCP

Le dénombrement des spores de bactéries aérobies mésophiles et thermophiles (notamment *Bacillus stearothermophilus*).

#### Lecture :

Croissance obtenue après 48 heures d'incubation à 55 °C.



***Bacillus thermophile***

Colonie caractéristique :  
petite colonie jaune  
(acidification du milieu) sur le  
fond violet de la gélose.