

GELOSE GLUCOSEE AU CHLORAMPHENICOL

DENOMBREMENT DES LEVURES ET DES MOISSURES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose glucosée au chloramphénicol est destinée à la recherche et au dénombrement des levures et des moisissures dans les produits alimentaires.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF V08-059, ISO 6611 et NF EN 15789.

2 PRINCIPES

L'extrait de levure et le glucose favorisent la croissance des levures et des moisissures.

La présence de chloramphénicol, antibiotique thermostable, permet d'inhiber la croissance des bactéries contaminantes.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait autolytique de levure..... 5,0 g
- Glucose 20,0 g
- Chloramphénicol 0,1 g
- Agar agar bactériologique 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 6,6 ± 0,2.

4 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 40,1 g de milieu déshydraté (BK007) 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 le milieu à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
40,1 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier :

- Faire fondre le milieu prêt-à-liquéfier (BM021 ou BM079) pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliqufaction totale.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.

Note :

L'addition extemporanée de Gentamicine (supplément lyophilisé BS009) au milieu est proposée dans la norme V08-059. Elle permet d'augmenter la sélectivité du milieu, particulièrement en présence de bactéries à Gram négatif contaminant les viandes et les produits de la pêche crus.

Dans ce cas, ajouter 2 mL de supplément, réhydraté avec 5 mL d'eau stérile, par flacon de 100 mL de base.

5 MODE D'EMPLOI

- Transférer 1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à 25 ± 1 °C pendant 5 jours. Ne pas retourner les boîtes pendant l'incubation et entre les lectures, afin d'éviter le réensemencement des spores de moisissures pendant les manipulations.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
5 jours à 25 °C

Notes :

- Dans le cadre de la norme NF V08-059, l'ensemencement peut également être pratiqué à la surface de boîtes de Petri pré-coulées. Dans ce cas, ensemençer 0,1 mL de la dilution décimale appropriée en surface du milieu préalablement séché. De plus, la température d'incubation peut être de 20°C ou 22°C, dans le cas de dénombrement de moisissures supposées connues, après accord entre les parties.
- Pour l'isolement et le dénombrement des souches probiotiques de levures, la norme NF EN 15789 préconise l'incubation à 35 ± 1 °C pendant 2 jours.

6 LECTURE

Dénombrer séparément les levures et les moisissures.
Faire un test de confirmation au microscope sur chaque type de colonies rencontré.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturelle après 72 heures d'incubation à 25 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	WDCM 00058	$P_R \geq 50$ %
<i>Candida albicans</i>	WDCM 00054	$P_R \geq 50$ %
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	WDCM 00053	$P_R \geq 50$ %
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée
<i>Bacillus subtilis</i>	WDCM 00003	Inhibée

8 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 flacon (*) : 180 jours à 2-8 °C

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

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

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK007HA

Milieus prêts-à-liquéfier :

Pack de 10 flacons de 100 mL BM02108

Pack de 10 flacons de 200 mL BM07908

Supplément sélectif Gentamicine (25 mg) :

Coffret de 10 flacons BS00908

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF V08-059. Novembre 2002. Microbiologie des aliments. Dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25°C. Méthode de routine.

ISO 6611. Octobre 2004. Lait et produits laitiers. Dénombrement des unités formant colonie de levures et/ou moisissures. Comptage des colonies à 25°C.

NF EN 15789. Décembre 2009. Aliments des animaux. Isolation et dénombrement de souches probiotiques de levures (*Saccharomyces cerevisiae*).

11 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 GLUCOSEE CHLORAMPHENICOL_FR_V8.

Date création : 06-2003

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.