GELOSE A LA PENICILLINE ET A LA PIMARICINE (PPA)

DENOMBREMENT DES PSEUDOMONAS SPP

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose à la pénicilline et à la pimaricine (PPA) est un milieu sélectif destiné au dénombrement des *Pseudomonas* psychrophiles pigmentés et non pigmentés dans le lait, les produits laitiers, ainsi que dans les échantillons des environnements du secteur laitier.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme XP ISO/TS 11059.

2 PRINCIPES

La peptone pancréatique de gélatine et la Tryptone constituent les substrats nutritifs nécessaires à la multiplication rapide des *Pseudomonas*.

La présence de chlorure de magnésium et de sulfate de potassium permet d'assurer l'équilibre osmotique du milieu, et stimule la production de pyocyanine (pigment bleu, non fluorescent, soluble dans l'eau et le chloroforme) des *Pseudomonas*.

La concentration en pénicilline G et en pimaricine permet d'inhiber la majeure partie des germes contaminants.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu complet :

- Peptone pancréatique de gélatine	16,0 g
- Tryptone	10,0 g
- Sulfate de potassium	10,0 g
- Chlorure de magnésium	1,4 g
- Chlorure de magnésium Pénicilline G	10 ⁵ ŬĬ
- Pimaricine	10,0 mg
- Agar agar bactériologique	12,0 g

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

4 MODE D'EMPLOI

- Préparer une suspension mère du produit à analyser selon les recommandations de la norme expérimentale XP ISO/TS 11059.
- A la surface du milieu pré-coulé (BM156), transférer 0,1 mL de la suspension mère et de ses dilutions décimales successives.
- Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 25 ± 1 °C pendant 48 ± 2 heures.

✓ Ensemencement : 0,1 mL en surface ✓ Incubation : 48 ± 2 h à 25 ± 1 °C

5 LECTURE

Procéder au comptage des boîtes contenant 150 colonies au maximum.

Sélectionner au hasard 5 colonies sur chaque boîte afin de procéder à leur purification sur gélose nutritive à 2 % (BK185 ou BM118) en vue de la confirmation du genre *Pseudomonas* par la recherche de l'oxydase et la mise en évidence de la fermentation du glucose (Gélose glucosée - BM099).



Les *Pseudomonas* sont caractérisés par une réaction positive au test de l'oxydase et par l'absence de fermentation du glucose.

6 CONTROLE QUALITE

Milieu complet : gélose blanchâtre.

Réponse culturale sur milieu complet après 48 heures d'incubation à 25 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
Pseudomonas aeruginosa Pseudomonas fluorescens Escherichia coli	WDCM 00025 WDCM 00115 WDCM 00013	$P_{\rm R} \geq$ 50 %, colonies caractéristiques $P_{\rm R} \geq$ 50 %, colonies caractéristiques Inhibée

7 CONSERVATION

Milieu pré-coulé en boîtes : 2-8 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

8 PRESENTATION

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :

9 REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

XP ISO/TS 11059. Octobre 2009. Lait et produits laitiers. Méthode de dénombrement des Pseudomonas spp...

10 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 : PPA AGAR_FR_V3.

Date création : 12-2010 Date de révision : 11-2015

Motif de révision : Révision générale.

