

GÉLOSE GLUCOSÉE À L'OXYTÉTRACYCLINE

DENOMBREMENT DES LEVURES ET MOISSURES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose glucosée à l'oxytétracycline est utilisée pour le dénombrement des levures et des moisissures dans les produits alimentaires.

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

2 HISTORIQUE

En 1965, Buttiaux et Catsaras ont recommandé l'emploi de ce milieu pour la recherche des levures et moisissures dans les bières, puis Sainclivier et Roblot pour l'analyse du beurre. Mossel a également démontré que sur plusieurs types d'aliments, un milieu à pH neutre permettrait d'obtenir une meilleure récupération qu'un milieu à bas pH (le pH étant le seul mécanisme de sélection contre la croissance des bactéries).

3 PRINCIPES

La croissance des levures et des moisissures est favorisée en présence de glucose et d'extrait de levure.

L'oxytétracycline permet d'inhiber les bactéries, y compris les lactobacilles (microorganismes acidophiles qui sont susceptibles de représenter la flore dominante de certains produits alimentaires).

Si une contamination massive est suspectée, notamment dans les produits carnés et produits de la pêche crus, l'ajout de gentamicine permet d'inhiber la majorité de la flore gram négatif présente.

4 FORMULE-TYPE

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

La formule type diffère selon la norme à appliquer.

Pour 1010 mL de milieu complet (ISO 6611):

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

Pour 1100 mL de milieu complet (NF V 08-059):

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

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

Pour 40 g de base déshydratée BK053

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

Pour un flacon de supplément BS008

- Oxytétracycline..... 50 mg

5 PREPARATION

Reconstitution du supplément

- Reprendre le lyophilisat BS008 en y ajoutant aseptiquement 5 mL d'eau distillée stérile.
- Vortexer ou agiter le flacon de façon à assurer une complète dissolution, tout en évitant la formation de mousse.

Préparation du milieu gélosé (ISO 6611)

- Mettre en suspension 40,0 g de milieu déshydraté (BK053) 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.
- Ajouter stérilement 1,0 mL de supplément sélectif Oxytétracycline 50 mg reconstitué (BS008) à 100 mL de milieu de base.
- Maintenir à 44-47 °C pour utilisation.

✓ **Reconstitution :**
40,0 g /L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Préparation du milieu gélosé (NF V08-059)

- Mettre en suspension 40,0 g de milieu déshydraté (BK053) dans 1,1 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 110 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Ajouter stérilement 1,0 mL de supplément sélectif Oxytétracycline 50 mg reconstitué (BS008) à 110 mL de milieu de base.
- Maintenir à 44-47 °C pour utilisation.

✓ **Reconstitution :**
40,0 g /1,1 L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

NOTE :

Dans les 2 normes citées, il est possible de réaliser les dénombrements en remplaçant l'oxytétracycline par du chloramphénicol aux mêmes concentrations.

Utiliser dans ce cas le supplément sélectif Chloramphénicol 50 mg (BS021).

Réhydrater le supplément avec 5 mL d'eau stérile et ajouter 1 mL de supplément par flacon gélosé.

6 MODE D'EMPLOI

- Transférer 1 mL de la suspension 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 °C pendant 5 jours. Ne pas retourner les boîtes pendant l'incubation.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
5 jours à 25 °C

NOTE :

L'ensemencement de l'échantillon en surface peut également être réalisé.

7 LECTURE

Après l'incubation, dénombrer séparément les levures et les thalles de moisissures.
Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

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

Supplément oxytétracycline : lyophilisat jaune, donnant après reconstitution une solution jaune, limpide.

Milieu préparé (complet) : gélose ambrée.

Réponse culturale 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

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons : 2-25 °C.

Supplément sélectif Oxytétracycline 50 mg : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu de base préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-25 °C.

Supplément oxytétracycline réhydraté (*) : 30 jours à 2-8 °C. Pendant la durée de conservation, la solution peut devenir opalescente à trouble. Ce phénomène n'a pas d'incidence sur l'activité bactériologique du réactif.

Milieu complet préparé en boîtes (*) : 15 jours à 2-8 °C.

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

10 PRESENTATION

Milieu de base déshydraté (sans oxytétracycline) :

Flacon de 500 g BK053HA

Seau de 5 kg BK053GC

Supplément sélectif Oxytétracycline 50 mg :

Coffret de 10 flacons BS00808

Milieu prêt-à-liquéfier (sans oxytétracycline, NF V 08-059) :

Pack de 10 flacons de 110 mL BM02208

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mossel, D.A.A., Visser, M., and Mengerink, W.H.J. 1962. A comparison of media for the enumeration of moulds and yeasts in foods and beverages. Lab. Pract., 11: 109-112.

Buttiaux, R., et Catsaras, M. 1965. L'analyse bactériologique des bières. Ann. Inst. Pasteur, 16: 167.

Sainclivier, M., et Roblot, A.M. 1966. Choix d'un milieu de culture pour le dénombrement des levures et moisissures dans le beurre. Ann. Inst. Pasteur, 17: 181.

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 / FIL 94. Octobre 2004. Lait et produits laitiers. Dénombrement des unités formant colonie de levures et/ou moisissures. Comptage des colonies à 25 °C.

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 GLUCOSEE OXYTERACYCLINE_FR_V7.

Date création : 06-2003

Date de révision : 02-2019

Motif de révision : Correction préparation NF V08-059

Gélose glucosée à l'Oxytétracycline

Détection et dénombrement des levures et moisissures

Lecture :

Croissance obtenue après 3 jours d'incubation à 25 °C.

