

# GELOSE ROSE BENGALE CHLORAMPHENICOL

## DETECTION ET DENOMBREMENT DES LEVURES ET MOISSURES

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose rose bengale chloramphénicol est recommandée pour l'isolement sélectif et le dénombrement des levures et des moisissures dans les produits alimentaires, les prélèvements issus de l'environnement et tout autre prélèvement d'origine animale susceptible d'en contenir.

### 2 HISTORIQUE

En 1962, les travaux réalisés par Mossel sur la recherche des levures et des moisissures dans les aliments, démontrent la supériorité des milieux à pH neutre contenant un agent antibactérien sur ceux dont le système sélectif est basé sur un pH acide. En 1973, Jarvis développe et utilise avec succès le milieu rose bengale chlortétracycline. Au cours de travaux ultérieurs, réalisés en 1978 par Korburger et Rodgers et en 1981 par Baggerman, le chloramphénicol ou la gentamicine remplacent la chlortétracycline. Les formules actuelles contiennent du chloramphénicol.

### 3 PRINCIPES

La peptone papainique de soja et le glucose assurent la croissance des levures et des moisissures.

Le rose bengale inhibe le développement des bactéries et prévient l'envahissement des boîtes de Petri par les moisissures, en limitant leur prolifération. Assimilé par les levures, il facilite leur dénombrement en colorant les colonies en rose.

La présence de chloramphénicol, antibiotique thermostable, permet de renforcer la sélectivité du milieu vis-à-vis de la plupart des bactéries contaminantes.

### 4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone papainique de soja ..... 5,0 g
- Glucose ..... 10,0 g
- Phosphate monopotassique..... 1,0 g
- Sulfate de magnésium, 7 H<sub>2</sub>O..... 0,5 g
- Rose bengale ..... 50,0 mg
- Chloramphénicol ..... 0,1 g
- Agar agar bactériologique ..... 13,0 g

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

### 5 PREPARATION

- Mettre en suspension 29,7 g de milieu déshydraté (BK151) 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.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**  
29,7 g/L

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

## 6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- A la surface du milieu préparé en boîtes, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales.
- Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 20-25 °C pendant 3 à 5 jours, à l'obscurité.

✓ **Ensemencement :**  
0,1 mL en surface

✓ **Incubation :**  
3 à 5 jours à 20-25 °C

## 7 LECTURE

Dénombrer les levures et les moisissures.

Les colonies de levures apparaissent en rose en raison de l'assimilation du rose bengale.

Les colonies de levures et de certaines bactéries, non inhibées, pouvant être confondues, il est nécessaire de réaliser un test de confirmation au microscope.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

## 8 CONTROLE QUALITE

**Milieu déshydraté :** poudre crème à rosâtre, fluide et homogène.

**Milieu préparé :** gélose rose.

Réponse culturale après 5 jours d'incubation à 25 °C.

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, score 0
<i>Bacillus subtilis</i>	WDCM 00003	Inhibée, score 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée, score 0

## 9 CONSERVATION

**Milieu déshydraté :** 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

**Milieu préparé en flacons (\*) :** 90 jours à 2-8 °C.

**Milieu préparé en boîtes (\*) :** 7 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 ..... BK151HA

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

Jarvis, B.. 1973. Comparison of an improved rose bengal-chlortetracycline agar with other media for the selective isolation and enumeration of moulds and yeasts in food., Journal of Applied Bacteriology, **36** : 723-727.

Korbinger, J.A. and Rodgers, M.F.. 1978. Single or multiple antibiotic-amended media to enumerate yeasts and moulds. Journal of Food Protection, **41** : 367-369.

Baggerman, W.I.. 1981. A modified Rose Bengal medium for the enumeration of yeasts and moulds from foods. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, **12** : 242-247.

MacFaddin, J.F.. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Williams & Wilkins, Baltimore, volume 1: 681-682.

Mislivec, P.B., Beuchat, L.R. and Cousin, M.A.. 1992. Yeasts and Molds. *In* Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3<sup>rd</sup> Ed. American Public Health Assoc., Washington D.C : 239-249.

## 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 ROSE BENGALE CHLORAMPHENICOL\_FR\_V5.

Date création : 10-2002

Date de révision : 03-2016

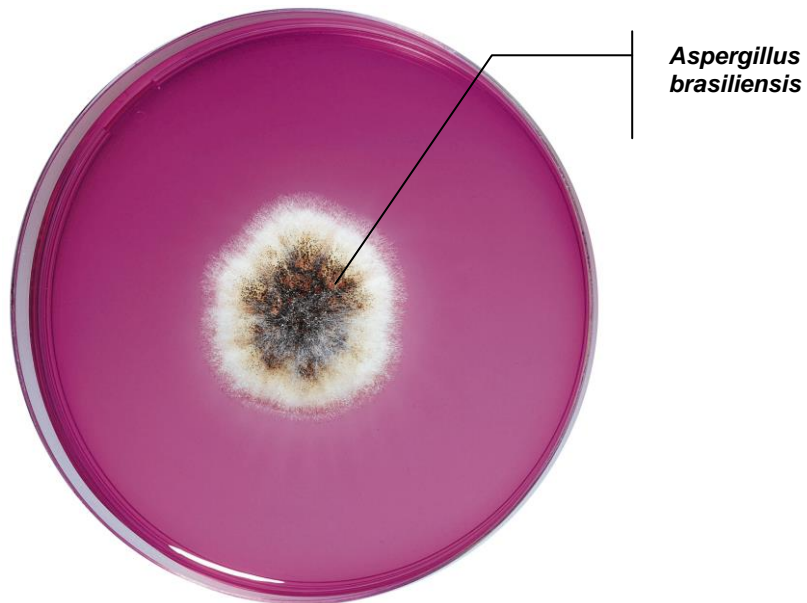
Motif de révision : Révision générale.

**Gélose rose bengale Chloramphénicol**

Détection et dénombrement des levures et moisissures.

**Lecture :**

Croissance obtenue après 3 à 5 jours d'incubation à 20-25 °C.



**Caractéristiques :**

Bonne croissance avec sporulation (moisissures)

Les levures apparaissent rosées (assimilation du rose bengale).