
GELOSE BAIRD-PARKER JAUNE D'ŒUF TELLURITE

DENOMBREMENT DES STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Baird-Parker avec jaune d'œuf au tellurite de potassium est un milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et d'autres espèces) dans les prélèvements biologiques d'origine animale, les produits pharmaceutiques, les produits cosmétiques, les produits alimentaires et les eaux.

La formule-type de la gélose répond à la composition définie dans les normes en microbiologie de la chaîne alimentaire NF EN ISO 6888-1 et NF EN ISO 6888-3.

2 HISTORIQUE

La formule au jaune d'œuf et au tellurite de potassium, mise au point par Baird-Parker en 1962, s'avéra satisfaisante pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive. En 1964, Smith et Baird-Parker montrèrent que l'addition de sulfaméthazine au milieu permettait d'inhiber la croissance des *Proteus*. En 1971, Tardio et Baer observèrent que parmi 18 milieux d'isolement sélectif testés, le milieu de Baird-Parker était moins inhibiteur que le milieu de Vogel-Johnson antérieurement utilisé de façon fréquente.

3 PRINCIPES

La croissance des staphylocoques est favorisée par le pyruvate de sodium et la glycine.

La microflore secondaire est inhibée en présence de chlorure de lithium, de tellurite de potassium (ajouté extemporanément), ainsi que par la forte concentration en glycine.

L'addition facultative de sulfaméthazine après autoclavage assure l'inhibition de la presque totalité des *Proteus* et en conséquence limite fortement l'envahissement du milieu par ces microorganismes.

L'enrichissement au jaune d'œuf aide à l'identification en démontrant l'action de la lécithinase.

Staphylococcus aureus présente des colonies noires ou grises (réduction du tellurite en tellure), entourées dans la majorité des cas d'un halo d'éclaircissement du jaune d'œuf.

En principe, les autres microorganismes sont inhibés. Toutefois, il est possible d'observer des colonies brunes ou verdâtres de microcoques, des colonies blanches de levures, des colonies brunes de *Bacillus* ou de *Proteus*.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1050 mL de milieu complet :

| | |
|---|---------|
| - Digestat enzymatique de caséine | 10,0 g |
| - Extrait de viande | 5,0 g |
| - Extrait autolytique de levure..... | 1,0 g |
| - Pyruvate de sodium | 10,0 g |
| - Glycine | 12,0 g |
| - Chlorure de lithium | 5,0 g |
| - Agar agar bactériologique | 15,0 g |
| - Emulsion de jaune d'œuf | 50,0 mL |
| - Tellurite de potassium | 100 mg |
| - Sulfaméthazine (si nécessaire) | 50,0 mg |

Pour 58 g de base déshydratée BK055

| | |
|---------------------------------------|--------|
| - Tryptone | 10,0 g |
| - Extrait de viande | 5,0 g |
| - Extrait autolytique de levure | 1,0 g |
| - Pyruvate de sodium | 10,0 g |
| - Glycine | 12,0 g |
| - Chlorure de lithium..... | 5,0 g |
| - Agar agar bactériologique | 15,0 g |

pH du milieu de base à 25 °C : 7,2 ± 0,2

Pour un flacon de supplément BS060

(50 mL)

| | |
|---------------------------|---------|
| - Emulsion de jaune d'œuf | 50,0 mL |
| - Tellurite de potassium | 100 mg |

Pour un flacon de supplément BS028

| | |
|-----------------------|---------|
| - Sulfaméthazine..... | 25,0 mg |
|-----------------------|---------|

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 58,0 g de milieu déshydraté (BK055) dans 950 mL d'eau distillée ou déminéralisée. Il se produit une augmentation de volume permettant d'atteindre finalement 1 litre de milieu de base.
- 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 5 mL d'émulsion stérile de jaune d'œuf au tellurite (BS060) par flacon.
- Agiter parfaitement, de façon à bien homogénéiser l'ensemble.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

✓ **Reconstitution :**
58,0 g pour 950 mL

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

✓ **Ajouts :**
50 mL BS060

NOTE :

Après refroidissement à 44-47 °C, il est possible d'ajouter de la sulfaméthazine pour limiter l'envahissement des *Proteus*. Dans ce cas, réhydrater le supplément lyophilisé (BS028) avec 5 mL d'eau stérile et ajouter 1 mL par flacon de base.

6 MODE D'EMPLOI

Dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (Microbiologie des aliments, NF EN ISO 6888-1)

- A la surface des boîtes préparées ou du milieu pré-coulé (BM018, BM091) ramené préalablement à température ambiante, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales.
- Ensemencer l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber entre 34 et 38°C pendant 24 ± 2 heures et 48 ± 4 heures.

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

✓ **Incubation :**
24 et 48 h à 34-38 °C

Détection de *Staphylococcus aureus* (Cosmétiques, NF EN ISO 22718)

- A la surface des boîtes préparées ou du milieu pré-coulé (BM018, BM091) ramené préalablement à température ambiante, repiquer une ôse du bouillon d'enrichissement (Eugon LT 100 ou EUGON LT SUP).
- Incuber à 30-35 °C pendant 24 à 48 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 à 48 h à 30-35 °C

7 LECTURE

Les colonies caractéristiques des *Staphylococcus* à coagulase positive sont des colonies noires ou grises (réduction du tellurite en tellure), de 1.5 mm à 2.5 mm de diamètre après 48 heures d'incubation, entourées d'une auréole d'éclaircissement qui peut être partiellement opaque.

Certaines souches de *Staphylococcus aureus* peuvent présenter des colonies dépourvues de halo d'éclaircissement ou à peine visible.

Les *Staphylococcus* à coagulase positive présumés doivent être confirmés par l'épreuve de la coagulase (Plasma de Lapin lyophilisé, BR002) ou par repiquage sur gélose Baird-Parker au Plasma de Lapin Fibrinogène (BM067).
Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

NOTE : Pour plus de détails sur l'aspect des colonies se référer à la NF EN ISO 6888-1

8 CONTROLE QUALITE

Milieu de base déshydraté : poudre blanc crème, fluide et homogène.

Aspect supplément liquide : émulsion jaunâtre, opaque, présentant un précipité qui peut être remis en suspension.

Aspect supplément lyophilisé : blanchâtre, donnant après reconstitution une solution incolore, limpide.

Milieu préparé (complet) : gélose jaunâtre, opaque.

Réponse culturale après 48 heures d'incubation à 37 °C (selon NF ISO 6888-1, NF EN ISO 22718 et NF EN ISO 11133) :

| Microorganismes | Croissance (Rapport de productivité : P_R) | Caractéristiques / halo d'éclaircissement |
|--|--|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034 | $P_R \geq 50 \%$ | Colonies noires, avec halo |
| <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00032 | $P_R \geq 50 \%$ | Colonies noires, avec halo |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> WDCM 00159 | Ralentie, score 0-1 | Colonies noires, sans halo |
| <i>Escherichia coli</i> WDCM 00013 | Inhibée, score 0 | - |
| <i>Proteus mirabilis</i> WDCM 00023 | Inhibée partiellement ou totalement, score 0-1 | - |

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30 °C.

Emulsion de jaune d'œuf au tellurite de potassium : 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri : 2-8 °C.

Supplément sélectif Sulfaméthazine 25 mg : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu de base préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

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

Milieu complet préparé en flacons (*) : La refonte dénature le produit.

Supplément sulfaméthazine reconstitué (*) : 30 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 jaune d'œuf, ni tellurite)

Flacon de 500 g BK055HA

Seau de 5 kg BK055GC

Emulsion stérile de jaune d'œuf au tellurite de potassium

Coffret de 10 flacons de 50 mL BS06008

Emulsion stérile de jaune d'œuf au tellurite de potassium

1 flacon de 900 mL BS03608

Supplément sélectif Sulfaméthazine 25 mg

Coffret de 10 flacons qsp 500 mL..... BS02808

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

Coffret de 20 boîtes BM01808

Coffret de 120 boîtes BM09108

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Duthie, E.S. 1954. Evidence of Two Forms of Staphylococcal Coagulase. J. gen. Microbiol., 10: 427-436.

Klempereur, R., and Haughton, G. 1957. A medium for the rapid recognition of penicillin-resistant coagulase-positive staphylococci. Jour. of Clin. Pathol., 10: 96-99.

Baird-Parker, A.C. 1962. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. Jour. of Appl. Bact., 25: 12-19.

Smith, B.A., and Baird-Parker, A.C. 1964. The use of sulphamezathine for inhibiting *Proteus* spp. on Baird-Parker's isolation medium for *Staphylococcus aureus*. Journ. of Appl. Bact., 27: 78.

Thieulin, G., Basille, D., Pantaléon, J., Rosset, R., Gandon, Y., et Petit A. 1966. Recherche des staphylocoques pathogènes dans le lait et les produits laitiers. Le lait, 46: 131.

Holbrook, R., Anderson, J.M., and Baird-Parker, A.C. 1969. The performance of a stable version of Baird-Parker's medium for isolating *Staphylococcus aureus*. Journ. App. Bact., 32, (2): 187.

Tardio J.L. and Baer E.F., 1971, Comparative efficiency of two methods and two plating media for isolation of *Staphylococcus aureus* from foods, *Journal – Association of Official Analytical Chemists*, 54, p 728.

Sperber, W.H., and Tatini, S.R. 1975. Interpretation of the tube coagulase test for the identification of *Staphylococcus aureus*. App. Microb., 29: 502-505.

NF EN ISO 6888-1. Septembre 2021. Microbiologie de la chaîne alimentaire. Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker.

NF EN ISO 22718. Février 2016. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Staphylococcus aureus*.

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 : BAIRD PARKER JAUNE ŒUF_FR_v19

Date création : 02-2003.

Date de révision : 02-2022

Motif de révision : Correction mineure (partie 4).

Gélose de Baird-Parker au jaune d'œuf tellurite

Détection et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Lecture :

Incubation 48 heures à 37°C (surface)

Staphylococcus aureus

Colonie caractéristique :
Couleur grise à noire, brillante,
entourée d'un anneau opaque et d'un
halo d'éclaircissement

