

GELOSE POUR DENOMBREMENT AU LAIT ECREME

DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES TOTAUX

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose pour dénombrement au lait écrémé est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies dans les produits laitiers.

Elle est aussi utilisée pour le dénombrement des microorganismes psychrotrophes.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF ISO 17140, NF EN ISO 4833-1 et 2 et XP V08-034 ; ISO 8552, ISO 8553, ISO 14461-1 et 2 et ISO 6730 pour le contrôle des produits laitiers.

2 HISTORIQUE

La gélose pour dénombrement est préparée avec les mêmes ingrédients que ceux utilisés à l'origine par Buchbinder *et al.* Dans leurs travaux, ils comparèrent plusieurs lots d'extrait de levure et montrèrent que les résultats obtenus (sans lait ajouté au milieu) étaient satisfaisants pour les numérations de germes contaminant des échantillons de lait cru et pasteurisé. La transparence du milieu et la taille satisfaisante des colonies obtenues permettaient de faciliter les comptages.

3 PRINCIPES

Les substances nutritives apportées par le lait écrémé et la Tryptone, les facteurs vitaminiques de l'extrait de levure et le glucose utilisé comme sources énergétiques favorisent la croissance de la plupart des bactéries à dénombrer.

Le lait écrémé permet de répondre aux préconisations des normes en bactériologie laitière.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	2,5 g
- Glucose	1,0 g
- Lait écrémé en poudre (exempt de substances inhibitrices)	1,0 g
- Agar agar bactériologique	12,0 g

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

5 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 21,5 g de milieu déshydraté (BK161) 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 tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C.
- Pour une utilisation en surface, couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface plane.

✓ **Reconstitution :**
21,5 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier :

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou bien le milieu prêt-à-liquéfier (BM086) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.

6 MODE D'EMPLOI

Ensemencement en surface (NF EN ISO 4833-2) :

- Faire sécher les boîtes à l'étuve couvercle entrouvert.
- A la surface du milieu, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales successives.
- Ensemencer l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 30 ± 1 °C pendant 72 ± 3 heures.

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

✓ **Incubation :**
72 h à 30 °C

NOTES

- Un dispositif d'ensemencement Spiral peut être utilisé.
- Pour la recherche des microorganismes psychrotrophes en microbiologie des aliments (NF ISO 17410), incuber les boîtes pendant 10 jours à 6,5 °C.

Ensemencement en profondeur (NF EN ISO 4833-1):

- Transférer 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu ramené à 44-47 °C, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à 30 ± 1 °C pendant 72 ± 3 heures.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
72 h à 30 °C

NOTES

Dans le cas où on suspecte la présence de colonies envahissant la surface de la gélose, il est possible de couler une seconde couche de gélose, après reprise en masse de la première (environ 4 mL).

Pour d'autres utilisations, se reporter au référentiel en vigueur.

7 LECTURE

Procéder au comptage des boîtes contenant moins de 300 colonies.

Les bactéries caséolytiques forment un halo plus clair autour de chaque colonie (protéolyse de la caséine du lait).

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale après 72 heures d'incubation à 30 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	$P_R \geq 70 \%$
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	$P_R \geq 70 \%$
<i>Bacillus subtilis</i>	WDCM 00003	$P_R \geq 70 \%$

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

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

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

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

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 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 BK161HA

Milieu prêt-à-liquéfier :

Pack de 10 flacons de 200 mL BM08608

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF ISO 17410. Novembre 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes psychrotrophes.

NF EN ISO 4833-1. Octobre 2013. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes. Partie 1 : comptage des colonies à 30 °C par la technique d'ensemencement en profondeur.

NF EN ISO 4833-2. Octobre 2013. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes. Partie 2 : comptage des colonies à 30 °C par la technique d'ensemencement en surface.

XP V 08-034. Septembre 2010. Microbiologie des Aliments. Dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenues à 30°C après ensemencement par la méthode spirale.

ISO 8552 / IDF 132. Mai 2004. Lait. Estimation des micro-organismes psychrotrophes. Technique par comptage des colonies à 21°C (méthode rapide).

ISO 8553 / IDF 131. Mai 2004. Lait. Dénombrement des micro-organismes méthode de l'anse sur boîtes de Petri à 30°C.

ISO 14461-2 / IDF 169-2. Avril 2005. Lait et produits laitiers. Contrôle de qualité en laboratoires microbiologiques. Partie 2 : Détermination de la fiabilité des comptages de colonies en boîtes parallèles et des dilutions décimales suivantes.

ISO 14461-1 / IDF 169-1. Mai 2005. Lait et produits laitiers. Contrôle de qualité en laboratoires microbiologiques. Partie 1 : Evaluation de la performance des analystes effectuant les comptages de colonies.

ISO 6730 / IDF 101. Septembre 2005. Lait. Dénombrement des unités formant colonies de micro-organismes psychrotrophes - Technique par comptage des colonies à 6,5°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 PCA AU LAIT ECREME_FR_V9.

Date création : 04-2003

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale