

Baird Parker / Gélose

356-3991
356-4814

DEFINITION

Milieu utilisé pour dénombrer (avec confirmation des colonies) les Staphylocoques à coagulase positive à 37°C (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) dans les produits destinés à la consommation humaine ou animale et les eaux de piscine.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF EN ISO 6888-1/A1 (Janvier 2004)** : Microbiologie des aliments - 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 (IC : V08-014-1)

• **NF EN ISO 6888-3 (Juin 2003)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et d'autres espèces) - Partie 3 : Recherche et méthode NPP pour les faibles nombres

• **NF V08-057-1 (Janvier 2004)** : Microbiologie alimentaire - Méthode de routine pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C - Partie 1 : Technique avec confirmation des colonies (*en cours de révision*)

• **NF V59-105 (Octobre 1982)** : Gélatine alimentaire - Recherche de *Staphylococcus aureus*

• **FIL 60B (1990)** : Produits laitiers secs - Dénombrement de *Staphylococcus aureus* - Technique du nombre le plus probable

• **FIL 138 (1986)** : Lait sec - Dénombrement du *Staphylococcus aureus* - Technique par comptage des colonies à 37°C

• **FIL 145 (1990)** : Lait et produits à base de lait - Dénombrement de *Staphylococcus aureus* - Technique de comptage des colonies à 37°C

• Méthodes officielles de prélèvements et d'analyse bactériologique des glaces et des crèmes glacées (Arrêté du 30 Août 1968 paru au JO du 21 Septembre 1968)

• Méthodes d'analyses des laits pasteurisés (Arrêté du 3 Janvier 1985 paru au JO du 17 Février 1985 modifiant l'arrêté du 21 Juin 1982 paru au JO du 11 Juillet 1982).

EAUX

• **NF T90-421 (Août 2006)** : Qualité de l'eau - Examens bactériologiques des eaux de piscines (Révision de la NF T90-421 : 1989)

• **XP T90-412 (Juin 2006)** : Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des Staphylocoques - Méthode par membrane filtration

• **NF T90-461/A2 (Mai 2007)** : Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des *Staphylococcus aureus* à réduire le tellurite (colonies noires), à entraîner la protéolyse du jaune d'oeuf (halo clair autour des colonies), et à opacifier la zone de protéolyse (activité des lipases).

Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries par le chlorure de lithium, le tellurite de potassium. La sulfaméthazine doit être ajoutée au milieu pour le contrôle des produits fortement contaminés par des *Proteus*.

PRESENTATION

• **Base**
500 g code 356-4814

• **Complet - Prêt à l'emploi**
90 mm x 20 boîtes code 356-3991

CONSERVATION / VALIDITE / LOT

- Pré-coulé : + 2 - 8°C
- Déshydraté : +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement
- Boîtes de Pétri (milieu complet) préparées par l'utilisateur : 5 jours maximum à + 2 - 8°C, à l'abri de la lumière

FORMULE THEORIQUE**Base déshydratée**

Peptone pancréatique de caséine	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
Eau distillée	1000 ml
L - Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	14 g

pH final (25°C) = 7,2 ± 0,2

Complet (Pré-coulé)

Peptone pancréatique de caséine	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
Agar	14 g
L - Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Tellurite de potassium	0,1 g
Jaune d'oeuf	10 ml
Sulfaméthazine	0,05 g
Eau distillée	1000 ml

pH final (25°C) = 7,2 ± 0,2

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 125 ml avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 ou 55 mm)
- Pipettes stériles (0,1 ml, 1 ml,...)
- Etales stériles
- Appareil de filtration
- Membranes filtrantes stériles en esters de cellulose de diamètre de pore nominal de 0,45 µm
- Pincettes pour manipuler les membranes
- Bain-marie avec une précision de ± 1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) NON FOURNI(S)**• Eau distillée**

- **Emulsion de jaune d'oeuf** au tellurite de potassium
5 ml x 1 ampoule (code 355-4201)
25 ml x 1 flacon (code 355-4205)

- **Sulfaméthazine à 0,2 % / Supplément**
2,5 ml x 1 ampoule (code 356-2682)

• Baird Parker + RPF / Gélose

- 20 boîtes x 90 mm (code 356-3996)
- 90 ml x 6 flacons de Base Baird Parker
- +6 suppléments lyophilisés (code 357-8618)

• Bouillon Coeur-Cervelle

- 10 ml x 25 tubes (code 355-3664)
- 500 g (code 356-4014)

• Latex Pastorex® Staph+ Kit

- 50 tests (code 355-6356)
- 5 x 50 tests (code 355-6353)

• Plasma de lapins

- Pack de 20 tests (code 355-6352)

Voir Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE**Toujours agiter avant chaque utilisation.**

Dissoudre 57 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution. Répartir 90 ml de milieu par flacon. Stériliser à l'autoclave à 121 ± 1°C pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 57 g/l**500 grammes de poudre permettent de réaliser 8,7 litres de milieu.**

N.B. : Cette préparation peut-être utilisée avec le supplément RPF (voir la Fiche Technique correspondante)

PREPARATION DU MILIEU COMPLET**A partir du milieu déshydraté**

Ajouter au moment de l'emploi, à 90 ml de ce milieu de base fondu et refroidi entre 44°C et 47°C, les solutions suivantes :

- 5 ml de jaune d'oeuf au tellurite de potassium
 - 2,5ml de sulfaméthazine à 0,2% si nécessaire.
- Bien homogénéiser. Couler en boîtes de Pétri (épaisseur ~ 4 mm) et laisser solidifier sur une surface horizontale.

PROTOCOLE**Produits alimentaires****• Préparation des échantillons**

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

- Etaler, en surface de la gélose "séchée", 0,1 ml de l'échantillon à analyser ou 0,1 ml de la suspension mère (autres produits) et/ou 0,1 ml de ses dilutions décimales.
- Retourner les boîtes et incuber à 37 ± 1°C

Baird Parker / Gélose

pendant 24 ± 2 h, puis ré-incuber durant 24 ± 2 h supplémentaires.

Eaux

- Méthode par filtration sur membrane : filtrer 100 ml d'échantillon et déposer la membrane à la surface d'une boîte de Pétri préalablement coulée et séchée, en évitant la formation de bulles d'air.
- Incuber à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 44 ± 4 h.

LECTURE ET INTERPRETATION

• Comptage/Confirmation des colonies (UFC)

Après chaque période d'incubation, procéder au comptage des colonies caractéristiques. Les staphylocoques à coagulase positive présumés forment des colonies noires et produisent sur ce milieu opaque :

- un halo clair autour de la colonie qui correspond à une zone de protéolyse (éclaircissement du jaune d'œuf).
- des zones opaques qui peuvent apparaître plus tardivement dans le halo clair. Elles sont dues à l'action de lipases.

Remarque concernant un contrôle de l'eau : la lecture du halo et de la zone opaque autour de la colonie peut être délicate à apprécier compte-tenu de la présence du filtre. Soulever délicatement la membrane de quart en quart à l'aide de pinces stériles, sans la retirer.

A partir des boîtes renfermant entre 15 et 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques, prélever 3 ou 5 colonies et les repiquer dans des tubes de bouillon Coeur-Cervelle (code 355-3664, 356-4014). Après 24 heures (± 2 h) d'incubation à 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), réaliser la recherche de la coagulase avec le Plasma de Lapin (code 355-6352).

Autres confirmations possibles pour le contrôle des eaux :

D'après la norme XP T90-412, deux autres techniques de confirmation directe peuvent être utilisées :

- avec Latex PASTOREX™ STAPH+ (code 355-6356, 355-6353).
- ou en transférant la membrane du Baird Parker sur une boîte de Petri de milieu Baird Parker + RPF, qui sera incubée $21 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ à $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

(Voir Fiches Techniques correspondantes)

• Expression des résultats/Calculs

Pour le mode de calcul, se reporter à la norme NF ISO 7218 et à la norme spécifique.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la solution mère (ou de la dilution 10^{-1} dans le cas d'un produit solide) et le moment où les dilutions entrent en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 15 minutes.
- Ne pas ajouter le jaune d'œuf au tellurite de potassium, la sulfaméthazine, le pyruvate de sodium et la L-Glycine dans un milieu de base à une température supérieure à 47°C .
- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Aspect des colonies après 24-48 h d'incubation à 37°C	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Réduction du Tellurite	Positive Colonies noires
	Halo	Positive
	Croissance	PR * > 0.5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 9144	Réduction du Tellurite	Positive Colonies noires
	Halo	Positive
	Croissance	RR = [66% - 150%]
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Réduction du Tellurite	Positive colonies noires
	Halo	Positive
	Croissance	PR * > 0.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Réduction du Tellurite	Colonies grises à noires
	Halo	Négative
	Croissance	Faible à bonne
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Pas de croissance	

* PR = Nombre total de colonies obtenu sur 2 boîtes de milieu BAIRD PARKER / Nombre total de colonies obtenu sur 2 boîtes de gélose TCS

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis. Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Baird-Parker / *Staphylococcus aureus* / Produits alimentaires / Dénombrement / Coagulase / Milieu.

BIBLIOGRAPHIE

- **BAIRD-PARKER A.C. (1962):** An improved diagnostic and selective medium for isolation of coagulase positive *Staphylococci*. Journal of Applied Bacteriology, **25** : 12-19.
- **SMITH B.A., BAIRD-PARKER A.C. (1964):** The use of sulfamethazine for inhibiting *Proteus* spp. on Baird-Parker's isolation medium for *Staphylococcus aureus*. Journal of Applied Bacteriology, **27** : 78.