

Baird Parker pour RPF / Gélose

357-8618
356-4814
356-4618
356-3996

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu sélectif utilisé avec le supplément RPF pour dénombrer directement (sans 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 6888-2/A1 (Décembre 2003)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et d'autres espèces)
- Partie 2 : Technique utilisant le milieu gélosé au plasma de lapin et au fibrinogène (IC : V08-014-2)

• **NF EN ISO 6888-3 (Juin 2003)**: Microbiologie des aliments - Méthode horizon-tale 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 V08-057-2 (Janvier 2004)** : Microbiologie alimentaire - Méthode de routine pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37°C - Partie 2 : Technique sans confirmation des colonies

• **FIL 145A (1997)** : Lait et produits à base de lait - Dénombrement des *Staphylococcus aureus* coagulase-positifs - Technique de comptage des colonies

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 complet (supplément RPF + base Baird Parker pour RPF) repose sur l'aptitude des Staphylocoques à coagulase positive à réduire le tellurite (colonies grises à noires), et à transformer le fibrinogène du plasma en fibrine grâce à leur activité coagulase (halo blanchâtre d'opacification autour des colonies).

Le milieu complet est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries par le chlorure de lithium et le tellurite de potassium.

PRESENTATION

• **Pré-coulé**
20 boîtes x 90 mm **code 356-3996**

• **Prêt à l'emploi**
90 ml x 6 flacons de Base Baird Parker
+6 suppléments lyophilisés **code 357-8618**

• **Déshydraté (base non supplémentée)**
500 g **code 356-4814**

• **Supplément RPF**
10 ampoules **code 356-4618**

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Déshydraté : + 15 - 25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec
- Prêt à l'emploi, pré-coulé : + 2-8°C à l'obscurité
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement

FORMULE THEORIQUE

Base Baird Parker

Peptone	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
L-Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	14 g
Eau distillée	1000 ml
pH final(25°C) = 7,2 ± 0,2	

Supplément lyophilisé (par flacon)

Plasma de lapin	2,5 ml
Fibrinogène bovin	0,375 g
Inhibiteur de trypsine	2,5 mg
Tellurite de potassium	2,5 mg

Baird Parker pour RPF/Gélose

Prêt à l'emploi Baird Parker + RPF

Peptone	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
L-Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	14 g
Plasma de lapin	25 ml
Fibrinogène bovin	3,75 g
Inhibiteur de trypsine	25 mg
Tellurite de potassium	25 mg
Eau distillée	1000 ml

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 ou 55 mm)
- Pipettes stériles (0,1 ml ; 1 ml.....)
- Etaleurs stériles
- Appareil de filtration
- Membranes filtrantes stériles en esters de cellulose (Ø pores ≤ 0,45 µm)
- Pinces pour manipuler les membranes
- Bain-marie avec une précision de ± 1°C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1°C
- Tout matériel courant d'un laboratoire

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) NON FOURNI(S)

- **Eau distillée stérile** pour la réhydratation du supplément RPF (code 355-4155)
- **Supplément RPF**
10 suppléments lyophilisés (code 356-4618)

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

REHYDRATATION DU SUPPLEMENT RPF

- Reprendre le lyophilisat en ajoutant aseptiquement et lentement 10 ml d'eau distillée stérile préchauffée à 37°C* dans le flacon.
- **Agiter si nécessaire à l'aide d'un vortex** le flacon plusieurs fois de façon à assurer une complète dissolution.
- Si nécessaire, placer le flacon dans une étuve à 37 ± 1°C jusqu'à parfaite dissolution du lyophilisat.

* facilite la dissolution du gâteau

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 ou sans le supplément RPF.

(voir Fiche Technique correspondante)

PREPARATION DU MILIEU COMPLET

(Base Baird-Parker supplémentée + supplément RPF

Ajouter aseptiquement le contenu d'un flacon de supplément RPF réhydraté à 90 ml de base gélosée Baird - Parker pour RPF, refroidie et maintenue à 44 - 47°C (= milieu complet). Agiter de façon à bien homogénéiser l'ensemble.

Un flacon de supplément RPF réhydraté permet de compléter 90 ml de gélose de base Baird-Parker supplémentée en L-Glycine et Pyruvate de Sodium.

PROTOCOLE

Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

Ensemencement et incubation

Produits alimentaires

- Transférer, à l'aide de pipettes stériles, 1 ml de l'échantillon à analyser (produit liquide) ou 1 ml de la suspension mère (autres produits) et/ou 1 ml de ses dilutions décimales dans les boîtes de Pétri stériles.
- Couler rapidement une quantité d'environ 10 ml du milieu complet.
- Homogénéiser et laisser refroidir sur une surface fraîche et horizontale.
- Après solidification complète, retourner les boîtes et incuber à 37 ± 1°C pendant 18 à 24 h, ou 48 h si nécessaire.

N.B. : L'ensemencement peut également être pratiqué en surface sur les boîtes pré-coulées.

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 ± 2°C pendant 44 ± 4 h.

Baird Parker pour RPF/Gélose

LECTURE ET INTERPRETATION

• Comptage des colonies (UFC)

- Après la période d'incubation, procéder au comptage des colonies caractéristiques. Les staphylocoques à coagulase positive forment des colonies grises à noires entourées d'un halo blanchâtre d'opacification indiquant une activité de la coagulase.

N.B. :

- Comme la gélose au plasma de lapin et au fibrinogène est basée sur une réaction coagulase, il n'est pas nécessaire de confirmer cette activité.

- Ne retenir que les boîtes contenant au moins de 15 colonies caractéristiques et moins de 300 colonies au total.

- Selon les différentes méthodes de calcul, les boîtes contenant moins de 15 colonies ou aucune colonie peuvent être retenues (estimation de petits nombres).

• 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

- Eviter toute surchauffe prolongée pendant la fusion.
- Le milieu peut présenter un aspect floconneux après gélification en flacon. Il conserve cependant toutes ses qualités dès lors que cet aspect disparaît après fusion et agitation.
- 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.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

(voir tableau ci-contre)

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.

Micro-organismes	Aspect des colonies Après 24-48 h d'incubation à 37°C	
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Réduction du Tellurite
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 milieu T.C.S. gélose.

MOTS CLES

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

BIBLIOGRAPHIE

• SAWHNEY D. (1986) : The toxicity of potassium tellurite to *Staphylococcus aureus* in rabbit plasma fibrinogen agar. *Journal of Applied Bacteriology*, **61**, 149-155.

• BECKERS H.J. et al. (1984) : Evaluation of a pour-plate system with rabbit plasma – bovine fibrinogen agar for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in food. *Can. J. Microbiol.*, **30**, 470-474.