

M.R.S./Gélose**356-4244****DOMAINE D'APPLICATION**

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des bactéries lactiques par la technique de comptage des colonies lors de l'analyse du yaourt, des viandes et des produits à base de viande.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)**MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS**

• **NF ISO 15214 (Septembre 1998)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles - Technique par comptage des colonies à 30 °C (IC : V 08-030).

PRINCIPE

La croissance des micro-organismes caractéristiques du yaourt est favorisée par les substances nutritives apportées par la peptone bactériologique, l'extrait de viande et le glucose utilisé comme source énergétique.

Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries par le citrate d'ammonium et l'acétate de sodium.

PRESENTATION**Déshydraté**

500 g

code 356-4244**CONSERVATION/VALIDITE/LOT**

- Déshydraté : + 2-8°C °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit sec.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Peptone bactériologique	10 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	4 g
Acétate de sodium	5 g
Phosphate bipotassique	2 g
Citrate d'ammonium	2 g
Sulfate de magnésium	200 mg
Sulfate de manganèse	50 mg
Glucose	20 g
Tween 80	1,08 g
Agar	12 à 18 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25 °C) : à ajuster avant autoclavage selon les spécifications de la norme suivie

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

- Diluant(s)
- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI)

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 125 ml en Pyrex avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (1 ml,...)
- Bains-marie avec une précision de ± 1 °C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire.

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

Dissoudre 62 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Ajuster le pH de manière à obtenir, après autoclavage le pH final spécifié dans la norme suivie.

Répartir à raison de 100 ml par flacon et stériliser à l'autoclave à 121°C (± 1°C) pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 62 g/l**500 grammes de poudre permettent de réaliser 8 litres de milieu.**

M.R.S./Gélose

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

Transférer 1 ml de l'échantillon à analyser ou de chacune de ses dilutions décimales dans deux boîtes de Pétri stériles.

Couler environ 15 ml de milieu fondu et refroidi entre 44-47°C dans chaque boîte. Homogénéiser et laisser solidifier. Recouvrir ensuite avec environ 5 ml du même milieu (Technique en double couche).

Incuber à 30°C ou 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) pendant 48-72 heures (selon la norme).

LECTURE ET INTERPRETATION

Dénombrer les colonies sur les boîtes comprenant entre 15 et 300 colonies.

PRECAUTION 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.

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Résultats après 72 h anaérobiose à 30°C
<i>L. sake</i> ATCC 15521	PR \geq 0.5
<i>Ped. pentosaceus</i> ATCC 29358	PR \geq 0.5
<i>Lc. lactis</i> ATCC 33316	PR \geq 0.5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Inhibition
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	Inhibition ou faible croissance

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

MRS / Bactéries lactiques / *Lactobacillus* / Viandes / Yaourts / Recherche / Dénombrement / Milieu

BIBLIOGRAPHIE

• DE MAN J.C., ROGOSA M. and SHARPE M.E. (1960) : A medium for the cultivation of *lactobacilli*. Journal of Applied Bacteriology 23 (1) : 130.