

Milieu gélosé F (VRBG/Crystal Violet-Neutral Red-Bile-Glucose milieu gélosé)

355-4239/356-4584

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries dans les produits alimentaires.

REFERENCE(S)

MICROBIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

• **Pharmacopée Européenne 6.0** - Méthodes Biologiques - 2.6.13. : Contrôle Microbiologique des produits non stériles (Recherche de micro-organismes spécifiés)

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des *Enterobacteriaceae* à fermenter le glucose. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram-positives et de certaines bactéries Gram-négatives par la présence simultanée du crystal violet et des sels biliaires. Le rouge neutre est un indicateur de pH.

PRESENTATION

• Prêt à l'emploi

100 ml x 6 flacons

code 355-4239

• Déshydraté

500 g

code 356-4584

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : +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.

FORMULE THEORIQUE

Peptone	7 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Sels biliaires	1,5 g
Glucose	10 g
Rouge neutre	30 mg
Crystal violet	2 mg
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml

pH_(25°C) final = 7,4 ± 0,2

NB : Des adaptations de la formule ont pu être réalisées afin d'atteindre les critères de performance requis.

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, ...)
- Bain-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

Mettre 38 g de poudre dans 1 litre d'eau distillée, préalablement portée à 100 °C pendant 10 minutes, puis ramenée à la température du laboratoire. 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 ce milieu peut être utilisé dès sa préparation.

Ne pas autoclaver.

Conserver le flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.

Taux de reconstitution : 38 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 13,15 litres de milieu.

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

Inoculer 1 ml du produit à analyser ou de ses dilutions décimales dans des boîtes de Petri stériles.

Couler environ 15 ml de milieu fondu, refroidi à 44-47°C, homogénéiser et laisser solidifier. Couler une seconde couche (environ 2 mm

d'épaisseur) de ce milieu maintenu à 44-47°C et laisser refroidir à nouveau.
Incuber à (30°C, 35°C ou 37°C) ± 1°C pendant 24 h ± 2 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

Après 24 heures d'incubation, dénombrer les colonies typiques *Enterobacteriaceae* sur des boîtes comprenant entre 15 et 150 colonies.
Les *Enterobacteriaceae* forment des colonies roses-rouge (Glucose +) ayant un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm avec ou sans zone de précipitation de la bile.

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 autoclaver.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

CONTROLE QUALITE

Au regard des travaux préalables à l'harmonisation des pharmacopées actuellement en cours, nous vous recommandons de vous reporter aux certificats de contrôle pour connaître les modalités mise en œuvre pour le contrôle de la qualité (performance et sélectivité) des milieux de culture fabriqués par Bio-Rad.

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

VRBG/*Enterobacteriaceae*/
Produits alimentaires/Recherche/
Dénombrement/Crystal Violet/Sels biliaires/
Glucose/Fermentation/NPP/Milieu

BIBLIOGRAPHIE

MOSSEL D.A.A., MENERINK W.H.J. and SCHOLTS H.H. (1962) : Use of a modified Mac Conkey agar medium for the selective growth and enumeration of all *Enterobacteriaceae*.
Journal of Bacteriology **84** : 381