

Milieu gélosé O (Baird-Parker) Baird-Parker milieu gélosé (V)

356-3991
356-4814

DOMAINE D'APPLICATION

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

Equivalent USP 30/NF 25 : Milieu V

REFERENCE(S)

MICROBIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

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

• **USP 30/NF 25 U.S. Pharmacopeia and National Formulary (2007)** : Microbial Limit Tests (61) - Microbiological Tests

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'œuf (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**
Déshydraté
500 g **code 356-4814**
- **Complet**
Précoulé
90 mm x 20 boîtes **code 356-3991**

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Précoulé : +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 Petri (milieu complet) préparées par l'utilisateur : 5 jours maxi 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
L-Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Agar	16 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25 °C) final = 7,2 ± 0,2	

Complet

Précoulé	
Peptone pancréatique de caséine	10 g
Extrait de levure	1 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de lithium	5 g
Agar	16 g
L-Glycine	12 g
Pyruvate de sodium	10 g
Tellurite de potassium	0,1 g
Emulsion de jaune d'œuf	10 ml
Sulfaméthazine	0,05 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25 °C) final = 7,2 ± 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))

- **Jaune d'œuf au tellurite de potassium**
5 ml x 1 ampoule (code 355-4201)
25 ml x 1 flacon (code 355-4205)
- **Sulfaméthazine à 0,2 %**
2,5 ml x 1 ampoule (code 356-2682)
- **Diluant(s)**
- **Eau distillée**

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

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 Petri stériles ($\varnothing = 90$ mm)
- Pipettes stériles (0,1 ml, 1 ml,...)
- Etaleurs stériles
- Bain-marie avec une précision de $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

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°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) pendant 15 minutes.

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

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
- 2,5 ml de sulfaméthazine à 0,2 % si nécessaire
- Bien homogénéiser.
- Couler en boîtes de Petri (épaisseur ~ 4 mm) et laisser solidifier sur une surface horizontale.

PROTOCOLE

• 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°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) pendant 24 h (± 2 h), puis réincuber durant 24 h (± 2 h) supplémentaires.

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.

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 Cœur-Cervelle (code 355-3664). 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).

voir Fiches Techniques correspondantes

NB : Confirmation possible (hors normes) avec Latex Pastorex® Staph+ (codes 355-6356 et 355-6353).

voir Fiche Technique correspondante

• 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'oeuf au tellurite de potassium et la sulfaméthazine dans un milieu de base à une température supérieure à 47°C .
- 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 mises en oeuvre 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

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

BIBLIOGRAPHIE

- **BAIRD PARKER A.C. (1962)** : An improved diagnostic and selective medium for isolation 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