

## Mosel (MYP)/Gélose (Dénombrement de *Bacillus cereus*)

356-9604

### DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Bacillus cereus* par la technique de comptage des colonies à 30 °C lors de l'analyse des produits alimentaires.

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

#### MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF EN ISO 7932 (Juillet 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présomptifs - Technique par comptage des colonies à 30°C. (IC : V08-023).

• **XP V 08-058 (Novembre 1995)**: Microbiologie des aliments - Dénombrement de *Bacillus cereus* par comptage des colonies à 30°C - Méthode de routine (IC : V08-058).

### PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'incapacité de *Bacillus cereus* à fermenter le mannitol (colonies roses) et sur la mise en évidence de la lécithinase. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries par le sulfate de polymyxine B.

### PRESENTATION

#### Déshydraté

500 g

code 356-9604

### CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- + 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	10 g
Extrait de viande	1 g
Chlorure de sodium	10 g
Mannitol	10 g
Rouge de phénol	25 mg
Sulfate de polymyxine B	10 <sup>5</sup> UI
Agar	14 g
Eau distillée	900 ml
pH (25°C) final = 7,2 ± 0,2	

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

- Diluant(s)
- Eau distillée
- Solution stérile de jaune d'oeuf

### MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI)

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 150 ml en Pyrex avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø= 90 mm)
- Pipettes stériles (1 ml,...)
- Etaleurs stériles
- 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 45 grammes de poudre dans 0,9 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.

Répartir à raison de 90 ml par flacon et stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Dans le milieu fondu et ramené à 44 - 47°C, ajouter 10 ml d'une émulsion stérile de jaune d'oeuf à 20 %. Homogénéiser et couler en boîtes de Pétri.

**Taux de reconstitution : 45 g/0,9 l.**

**500 grammes de poudre permettent de réaliser 10 litres de milieu.**

### PROTOCOLE

#### • Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

#### • Ensemencement et incubation

Transférer 0,1 ml de l'échantillon à analyser à la surface d'une boîte de Petri préalablement coulée et séchée.

Etaler et incuber à 30 °C ± 1 °C pendant 18 à 24 heures.

Si les colonies ne sont pas bien visibles, incuber à nouveau pendant 24 heures.

## Mossel (MYP)/Gélose (Dénombrement de *Bacillus cereus*)

### LECTURE ET INTERPRETATION

Compter sur chaque boîte les colonies présumées de *Bacillus cereus*. Celles-ci sont roses et souvent entourées d'une zone de précipité indiquant la production d'une lécithinase.

### 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 sont en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 15 minutes.
- Ne pas ajouter le jaune d'oeuf dans un milieu de base à une température supérieure à 47°C.
- Si les boîtes contiennent de nombreux micro-organismes produisant de l'acide à partir du mannitol, la couleur rose caractéristique des colonies de *B. cereus* peut être atténuée ou disparaître complètement.
- Certaines souches de *B. cereus* produisent peu ou pas de lécithinase. Les colonies provenant de ces souches ne seront pas entourées d'une zone de précipité. Ces colonies devront aussi être soumises aux essais de confirmation.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

### PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 et 48 H à 30 °C
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 9634	Bonne croissance Colonies roses
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Bonne croissance Colonies jaunes
<i>Bacillus circulans</i>	Bonne croissance Colonies jaunes
<i>Bacillus licheniformis</i>	Bonne croissance Colonies jaunes
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition

### 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

Mossel (MYP) / *Bacillus cereus* / Produits alimentaires / Recherche / Dénombrement / Mannitol / Lécithinase / Milieu.

### BIBLIOGRAPHIE

- **MOSSEL D.A.A., KOOPMAN M.J. and JONGERIUS E. (1967):** Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. Applied Microbiology 15 (3): 650-653
- **PANTALEON J. et coll :** Hygiène des denrées animales et d'origine animale. Techniques de laboratoire.