

## Palcam/Gélose

356-3674  
356-4752  
356-4754

### DOMAINE D'APPLICATION

Milieu sélectif pour l'isolement des *Listeria spp.* à partir d'échantillons alimentaires.

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

#### MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF EN ISO 11290-1/A1 (Février 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 1 : Méthode de recherche (IC : V 08-028-1/A1).

• **XP V08-062 (Octobre 2000)** : Microbiologie des aliments - Méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Méthode de routine (IC : V 08-062).

• **Norme FIL 143A (1995)** : Lait et produits laitiers - Recherche de *Listeria monocytogenes*

• Méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les produits végétaux ou d'origine végétale (BOCCRF du 30 mai 1992 rectifié le 5 septembre 1992).

### PRINCIPE

Le milieu PALCAM intervient comme milieu d'isolement sélectif pour la recherche des *Listeria spp.* dans les produits alimentaires.

Ce milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis de la flore « *non-Listeria* » par l'action conjuguée du chlorure de lithium et du supplément sélectif.

Sur ce milieu, les *Listeria spp.* forment en 24 heures à 37°C des colonies grises ou gris verdâtres, luisantes, d'environ 1 mm de diamètre, entourées d'un halo brun-noir (hydrolyse de l'esculine). Après 48 heures d'incubation, les colonies typiques ont un diamètre d'environ 2 mm, sont incrustées dans la gélose et présentent une dépression centrale.

Le milieu PALCAM contient également un mélange mannitol + rouge de phénol qui permet de différencier les colonies formées par *Listeria spp.* des colonies formées par des *Enterococcus* esculine positifs non inhibés.

Les *Enterococcus*, contrairement aux *Listeria* (autres que *L. Grayi* et *L. Murrayi*), métabolisent le mannitol. L'acidification résultant de cette métabolisation fait virer l'indicateur de (halos jaunes autour des colonies).

### PRESENTATION

• **Pré-coulé**  
20 boîtes x 90 mm **code 356-3674**

• **Déshydraté**  
500 g **code 356-4754**

• **Supplément PALCAM**  
lyophilisé **code 356-4752**  
(Coffrets de 10 flacons q.s.p. 500 ml de gélose de Base)

### CONSERVATION/VALIDITE/LOT

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

### FORMULE THEORIQUE (MILIEU COMPLET)

#### Milieu de base

Peptone	23 g
Amidon	1 g
Chlorure de sodium	5 g
Extrait de levure	3 g
D-Mannitol	10 g
Citrate de fer III ammoniacal	500 mg
Esculine	800 mg
D-Glucose	500 mg
Chlorure de lithium	15 g
Rouge de phénol	80 mg
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25°C) = 7,2 ± 0,2

#### Supplément sélectif (par flacon)

Sulfate de polymyxine B	50.000 UI
Ceftazidime	10 mg
Chlorhydrate d'acriflavine	2,5 mg

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

- Diluant(s)
- Eau distillée
- Eau distillée stérile pour la préparation du supplément sélectif

# Palcam/Gélose

## MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI)

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Agitateur type Vortex
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 90 mm)
- Anse de platine ou öse stérile d'ensemencement à usage unique
- Bain-marie avec une précision de  $\pm 1$  °C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de  $\pm 1$  °C
- Autoclave

## PREPARATION DU MILIEU COMPLET

### • Déshydraté

#### Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 70,9 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. Répartir en flacons de 100 ml. Ce milieu doit être stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Refroidir à 44 °C à 47 °C.

**Taux de reconstitution : 70,9 g/l.**

**500 grammes de poudre permettent de préparer 7 litres de base PALCAM.**

### • Supplément sélectif lyophilisé

Reconstituer stérilement un flacon de supplément sélectif PALCAM par 5 ml d'eau stérile.

### • Milieu complet

Ajouter 1 ml du supplément reconstitué à 100 ml de gélose de base autoclavée, refroidie à 44°C à 47 °C. Bien mélanger. Répartir en boîte de Pétri 90 mm.

## PROTOCOLE

### • Préparation des échantillons et étape d'enrichissement

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

### • Ensemencement et incubation

Prélever une goutte de bouillon d'enrichissement en fin d'incubation avec une anse d'ensemencement stérile et isoler à la surface de la gélose PALCAM.

Incuber à 37 °C  $\pm$  1 °C pendant 18 à 24 heures et, si nécessaire, prolonger l'incubation jusqu'à 48 heures.

## LECTURE ET INTERPRETATION

Après incubation, les *Listeria spp.* forment des colonies typiques grises ou gris-verdâtres, luisantes entourées d'un halo brun-noir, de 1 mm de diamètre (24 heures d'incubation) ou de 2 mm de diamètre (48 heures d'incubation).

Pour la vérification de l'appartenance au genre *Listeria* et pour la détermination de l'espèce, sélectionner 5 colonies typiques (s'il y en a moins, les retenir toutes) et procéder aux tests d'identification résumés dans les tableaux I et II.

	GRAM	CATALASE	MOBILITÉ
<b>GENUS</b> <i>Listeria</i>	+	+	+

**Tableau I :**

Vérification de l'appartenance au genre *Listeria*.

	1	2	3	4	5	6	7
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	+	-	+	-	-
<i>L. innocua</i>	-	-	-	-	V	-	-
<i>L. ivanovii</i>	+	+	-	+	-	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	-	+	V	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	+	+	-	-	-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. murrayi</i>	-	-	-	-	-	+	+

**Tableau II :**

Identification des espèces de *Listeria*.

### Légendes :

- 1: HEMOLYSE
- 2: C.A.M.P. TEST *R. equi*
- 3: C.A.M.P. TEST *S. aureus*
- 4 : D-XYLOSE
- 5: L-RHAMNOSE
- 6: MANNITOL
- 7: REDUCTION DES NITRATES
- V: réaction variable
- +: plus de 90 % de réaction positive
- : absence de réaction

## PRECAUTION D'EMPLOI

- Le supplément sélectif contient des produits toxiques.
- Le port de dispositifs de protection est recommandé pendant sa préparation (gants et lunettes de sécurité).
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

# Palcam/Gélose

## PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Résultats après 48H d'incubation à 37 °C
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a ATCC 19111	Colonies gris-vertes à noires avec halo noir PR ≥ 0.5
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b ATCC 13932	Colonies gris-vertes à noires avec halo noir PR ≥ 0.5

MICRO-ORGANISMES	Résultats après 72H d'incubation à 30 °C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition totale
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibition totale

## 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

Palcam / *Listeria* / Produits alimentaires / Recherche / Milieu.

## BIBLIOGRAPHIE

- CURTIS G.D.W., MITCHELL R.G., KING A.F. and GRIFFIN E.J. (1989): *Letters in Applied Microbiology*. 8 : 95-98.
- CURTIS G.D.W., NICHOLS W.W. and FALLA T.J. (1989): *Letters in Applied Microbiology*. 8: 169-172
- PRENTICE G.A. and NEAVES P. (1988): *Bulletin of the International Dairy Federation* : 223
- VAN NETTEN P., VAN DE VEN A., PEDERALE I. and MOSSEL D.A.A. (1988): *International Journal of Food Microbiology*. 6:187-198
- LOVETT J., FRANCIS D.W. and HUNT J.M. (1987): *Journal of Food Protection*. 50 : 188-192.