

GELOSE VRBG

DENOMBREMENT ET CONFIRMATION DES ENTEROBACTERIES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose VRBG (gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) est utilisée pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries dans les produits laitiers, les viandes, les charcuteries et les autres produits alimentaires. Ce milieu peut être utilisé pour la recherche des bactéries à Gram négatif et résistantes aux sels biliaires, lors du contrôle microbiologique des produits non stériles.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF EN ISO 21528-1 et 21528-2, NF V08-054 et dans la Pharmacopée européenne.

2 PRINCIPES

La présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif.

La dégradation du glucose en acide est révélée par le virage au rouge de l'indicateur de pH, le rouge neutre.

3 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Digestat enzymatique de tissus animaux.....	7,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Glucose.....	10,0 g
- Sels biliaires.....	1,5 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Rouge neutre.....	30,0 mg
- Cristal violet.....	2,0 mg
- Agar agar bactériologique.....	13,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,4 ± 0,2.

4 PREPARATION

- Mettre en suspension 39,5 g de milieu déshydraté (BK011) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Ne pas surchauffer, ne pas autoclaver.
- Refroidir le milieu à 44-47 °C.
- Utiliser dans les 4 heures suivant la préparation.

✓ **Reconstitution :**
39,5 g/L

✓ **Stérilisation :**
Porter à ébullition

Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier :

- Faire fondre le milieu prêt-à-liquéfier (BM075) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Utiliser dans les 4 heures suivant la préparation.

Note

Le milieu peut être additionné de MUG (4-méthyl-umbelliféryl-β-D-glucuronide) afin de différencier *Escherichia coli* (se référer à la fiche technique concernant le supplément MUG 50 mg BS024).

5 MODE D'EMPLOI

Dénombrement des entérobactéries – Microbiologie des aliments

(NF V08-054 ; NF ISO 21528-2) :

- Transférer 1 mL de la suspension et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Couler à nouveau environ 5 mL de milieu, de façon à former une deuxième couche.
- Laisser solidifier.
- Incuber à 37 ± 1 °C pendant 24 ± 2 heures.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en double couche

✓ **Incubation :**
 24 ± 2 h à 37 °C

Note :

Alternativement, la température de 30 °C peut être choisie lorsque le dénombrement des entérobactéries mésophiles est entrepris dans le cadre du contrôle sanitaire d'un procédé technologique.

Détection des entérobactéries (Pharmacopée européenne, NF EN ISO 21528-1)

- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer en stries l'inoculum obtenu à partir du milieu d'enrichissement employé.
- Incuber à 37°C pendant 24 ± 2 heures, conformément à la norme NF EN ISO 21528-1 ou bien pendant 18-24 heures à 30-35 °C, suivant la Pharmacopée.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
Selon le référentiel

6 LECTURE

Les entérobactéries présentent des colonies violettes, entourées ou non d'un halo violet de sels biliaires précipités.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige à légèrement rosée, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rougeâtre.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37°C, ensemencement en profondeur (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes	Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
<i>Salmonella</i> Typhimurium WDCM 00031	$P_R \geq 50$ %	Colonies rouge-violacé, avec halo violet
<i>Salmonella</i> Enteritidis WDCM 00030	$P_R \geq 50$ %	Colonies rouge-violacé, avec halo violet
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	$P_R \geq 50$ %	Colonies rouge-violacé, avec halo violet
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087	Inhibée	-

Réponse culturale après 18 heures d'incubation à 30-35 °C, inoculum $\leq 10^2$ microorganismes :

Microorganismes	Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	$P_R \geq 50$ %	Colonies rouge-violacé, avec halo violet
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WDCM 00026	Bonne	Colonies incolores à orangées

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-liquéfier : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes

Milieu préparé en flacons (*): Non recommandé.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK011HA

Seau de 5 kg BK011GC

Milieu prêt-à-liquéfier :

Pack de 10 flacons de 200 mL BM07508

10 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mossel, D.A.A., Mengerink, W.H.J., and Scholts, H.H. 1962. Use of a modified MacConkey agar medium for the selective growth and enumeration of all *Enterobacteriaceae*. J. Bact., 84: 381.

Mossel, D.A.A., Wisser, M., and Cornelissen, A.M.R. 1963. The examination of foods for *Enterobacteriaceae* using a test of the type generally adopted for the detection of *Salmonellae*. J. Appl. Bact., 24: 444-452.

NF V08-054. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des entérobactéries présumées par comptage des colonies obtenues à 30°C ou à 37°C.

NF EN ISO 21528-1. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* - Partie 1 : recherche des *Enterobacteriaceae*.

NF EN ISO 21528-2. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire. Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*. Partie 2 : Méthode par comptage des colonies.

Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés.

11 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : VRBG_FR_V13.

Date création : 11-2000

Date de révision : 09-2019

Motif de révision : Correction mode de préparation