

# PROTOCOLE MICROBIOLOGIQUE

Protocole rapide d'analyse microbiologique par filtration sur milieu de culture gélosé.

## Préparation du matériel

- Nettoyer et stériliser la paillasse (en verre de préférence) à l'alcool.
- Nettoyer et stériliser le matériel de filtration à l'alcool.
- Homogénéiser l'échantillon par retournements successifs.
- Identifier les boîtes de Petri (lot/date de lecture...).
- Avoir à disposition les membranes de filtration, la pince et des pipettes stériles jetables.



## Filtration

Afin d'encadrer au mieux la population nous suggérons d'effectuer deux filtrations en routine. Effectuer les manipulations à proximité du bec bunsen (15 à 20 cm autour du bec).

### 100 $\mu$ L

Verser environ 10 mL d'eau distillée stérile et ajouter 100  $\mu$ L de vin afin de répartir l'échantillon de façon homogène sur la membrane.

#### Matériel nécessaire :

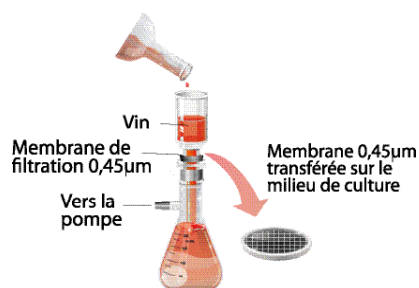
- Membranes stériles : diamètre 47 mm et porosité 0,45  $\mu$ m.
- Eau distillée stérile.
- Pipettes stériles de 1 mL.

### 10 mL

Déposer directement le volume de vin sur la membrane.

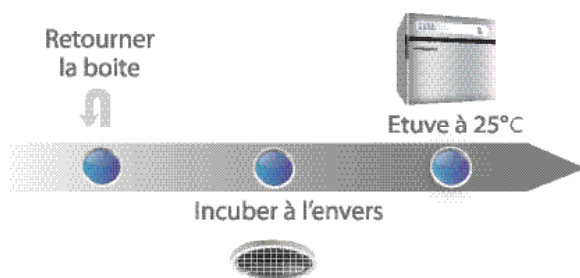
#### Matériel nécessaire :

- Membranes stériles : diamètre 47 mm et porosité 0,45  $\mu$ m.
- Pipettes stériles de 10 mL.



## Incubation

Les conditions de culture doivent être adaptées en fonction des micro-organismes que l'on souhaite dénombrer.

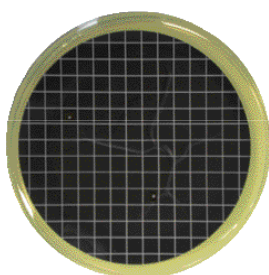


Milieu sélectif	Temps d'incubation à 25°C	Milieu sélectif Brassicole	Temps d'incubation à 25°C
MIL-LEV	2 jours	MIL-UBA	10 jours
MIL-LM	2 à 5 jours	MIL-UBA+CYCLO	3 à 7 jours
MIL-BRETT	7 jours	MIL-ABP	6 jours
MIL-BA	6 jours	MIL-NBB	3 à 7 jours
MIL-BT	12 jours		
MIL-BL	12 jours en anaérobiose		
MIL-FT	12 jours		

\* Matériel nécessaire pour l'anaérobiose : Jarre d'anaérobiose / générateur d'anaérobiose / indicateurs d'anaérobiose.

## Dénombrement

Exemples de dénombrements sur MIL-BRETT :

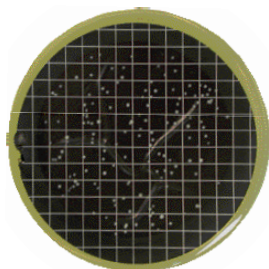


100 µL

Détail du calcul :

2 UFC\* pour 100 µL = 20 UFC\* pour 1 mL

→ 2.10E1 UFC\*/mL



10 mL

Détail du calcul :

150 UFC\* pour 10 mL = 15 UFC\* pour 1 mL

→ 1,5.10E1 UFC\*/mL

Résultat final : moyenne arithmétique des deux dilutions.

→ 1,75.10E1 UFC\*/mL

\* Unité formant colonie

Le laboratoire EXCELL peut vous accompagner dans le choix de vos équipements. Nous en avons sélectionné certains que nous proposons à la vente. Nous pouvons également assurer l'installation de votre matériel et assurer la formation auprès de vos équipes afin de garantir leur bon usage. Pour plus d'informations, rendez-vous sur : <https://labexcell.com/les-formations-excell-academie>