

GELOSE LACTOSEE AU DESOXYCHOLATE A 0,1 %

DENOMBREMENT DES COLIFORMES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose lactosée au désoxycholate à 0,1% est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes dans le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. Ce milieu est également recommandé pour la culture et l'isolement des *Shigella*.

2 HISTORIQUE

En 1935, Leifson a développé la formulation de la gélose au désoxycholate comme milieu de différenciation pour les entérobactéries. Contrairement aux formules antérieures, utilisant des ingrédients de composition inconnue ou variable, le milieu contenait des substances chimiques bien définies telles que le désoxycholate et le citrate de sodium, employés comme inhibiteurs. Le degré d'inhibition fut ainsi bien contrôlé. La formulation originale de Leifson a ensuite été légèrement modifiée par l'utilisation de peptones mieux définies, ainsi que par des ajustements sensibles au niveau des substances inhibitrices.

3 PRINCIPES

L'inhibition des microorganismes à Gram positif est principalement due à l'action du désoxycholate de sodium, bien que le citrate de sodium et le citrate ferrique soient également des inhibiteurs efficaces.

La différenciation des entérobactéries est fondée sur la capacité des germes à fermenter le lactose :

Les microorganismes lactose-positif produisent une acidification qui, en présence de rouge neutre, se manifeste par l'apparition de colonies rouges.

Les germes lactose-négatif donnent des colonies incolores (*Salmonella* et *Shigella*).

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande	10,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Désoxycholate de sodium.....	1,0 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Phosphate dipotassique.....	2,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
- Citrate de sodium.....	1,0 g
- Rouge neutre	0,03 g
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,3 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 45,0 g de milieu déshydraté (BK062) 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 autoclaver.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
45,0 g/L
✓ **Stérilisation :**
Ne pas autoclaver

6 MODE D'EMPLOI

- Transférer 1 mL de la suspension et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 12 mL de milieu par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Couler à nouveau environ 4 mL de milieu, de façon à former une deuxième couche.
- Laisser solidifier.
- Incuber à 30 ± 1 °C ou à 37 ± 1 °C pendant 18 à 24 heures.

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

✓ **Incubation :**
18 à 24 h à 30 ou 37 °C

7 LECTURE

Les coliformes, entérobactéries lactose-positif présentent des colonies rouges de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm en 24 heures d'incubation.

Les entérobactéries lactose-négatif donnent des colonies incolores.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre rosâtre, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rouge-orangé.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 30 °C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Colonies caractéristiques
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 50$ %	Rouge-violacé
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	$P_R \geq 50$ %	Rouge-violacé
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	Bonne, score 2	Beige-rosé
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée, score 0	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée, score 0	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé (*) : Utiliser le jour de la préparation.

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK062HA

11 REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Leifson, E. 1935. New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. Journal of Pathology and Bacteriology, **40** : 581-599.

12 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 : GELOSE LACTOSEE DESOXYCHOLATE 0.1%_FR_V5.

Date création : 06-2003

Date de révision : 10-2015

Motif de révision : Révision générale.