
GELOSE AU DICHLORAN-GLYCEROL (DG 18)

DENOMBREMENT DES LEVURES ET MOISSURES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose au Dichloran-Glycérol (DG 18) est recommandée pour le dénombrement des levures et des moisissures se développant sur un milieu à faible activité de l'eau (A_w inférieure à 0,95). Elle convient notamment pour la numération et l'isolement des moisissures xérophiles se trouvant dans les produits déshydratés ou peu hydratés fortement sucrés ou salés, les fruits secs, les céréales, les biscuits, les farines, ainsi que les autres produits déshydratés à base de viande ou de poisson destinés à l'alimentation humaine ou animale. Le milieu permet de diminuer la taille des thalles de moisissures et des colonies de levures, afin de faciliter leur comptage.

La formule-type de la gélose répond à la composition définie dans les normes NF V08-036 et NF ISO 21527-2.

2 HISTORIQUE

La gélose au Dichloran-Glycérol est dérivée de la formule décrite en 1980, par Hocking et Pitt, pour la numération des moisissures se développant dans les produits à faible taux d'humidité. En 2001, Deak *et al.* ont démontré, à la faveur d'une étude comparative, que les cultures de *Brettanomyces anomalus*, *Cryptococcus albidus*, et *Rhodotorula mucilaginosa* étaient particulièrement retardées, voire inhibées sur le milieu. Par contre, les levures xérophiles telles que *Zygosaccharomyces rouxii* cultivent très aisément. Ces auteurs en conclurent que le milieu DG 18 était plus particulièrement adapté aux produits à faible taux d'humidité et qu'en conséquence, il n'est pas d'application universelle pour les numérations d'un large spectre de levures et moisissures contaminant l'ensemble des produits alimentaires.

3 PRINCIPES

La Tryptone et le glucose assurent la croissance des levures et des moisissures.

La concentration en glycérol à 18% permet de diminuer l'activité de l'eau de 0,999 à 0,955.

Le dichloran inhibe l'envahissement par les mucorales et diminue la taille des autres colonies.

La présence de chloramphénicol, antibiotique thermostable, permet de renforcer la sélectivité du milieu vis-à-vis de la plupart des bactéries contaminantes.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu complet :

- Tryptone	5,0 g
- Glucose	10,0 g
- Phosphate monopotassique.....	1,0 g
- Sulfate de magnésium, H ₂ O.....	0,5 g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline).....	2,0 mg
- Chloramphénicol	0,1 g
- Glycérol	220,0 g
- Agar agar bactériologique	13,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : $5,6 \pm 0,2$.

Pour 29,6 g de base déshydratée BK170

- Tryptone 5,0 g
- Glucose 10,0 g
- Phosphate monopotassique 1,0 g
- Sulfate de magnésium, H₂O 0,5 g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline) 2,0 mg
- Chloramphénicol 0,1 g
- Agar agar bactériologique 13,0 g

Glycérol non fourni

Pour 1 litre de prêt-à-liquéfier (BM109)

- Tryptone 5,0 g
- Glucose 10,0 g
- Phosphate monopotassique 1,0 g
- Sulfate de magnésium, H₂O 0,5 g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline) 2,0 mg
- Chloramphénicol 0,1 g
- **Glycérol** **220,0 g**
- Agar agar bactériologique 13,0 g

5 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 29,6 g de milieu déshydraté (BK170) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Ajouter 220 g de glycérol.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons de 100 mL.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
29,6 g/L
+ 220 g/L de glycérol

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

6 MODE D'EMPLOI

Ensemencement en profondeur (NF V 08-036)

- 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.
- Incuber à 25 ± 1 °C pendant 5 jours.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
5 jours à 25 ± 1 °C

Ensemencement en surface (NF ISO 21527-2)

- Couler le milieu en boîtes de Petri stériles.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales à la surface des boîtes.
- Ensemencer l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber les boîtes, couvercle en haut, à 25 ± 1 °C de 5 à 7 jours.

✓ **Ensemencement :**
0,1 mL en surface

✓ **Incubation :**
5 à 7 jours à 25 ± 1 °C

7 LECTURE

Procéder au comptage des boîtes contenant moins de 150 unités.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale après 5 jours d'incubation à 25 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	WDCM 00058	$P_R \geq 50\%$
<i>Wallemia sebi</i>	WDCM 00182	$P_R \geq 50\%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée
<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>spizizenii</i>	WDCM 00003	Inhibée

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté (sans glycérol) : 2-20 °C.

Milieu prêt-à-liquéfier complet (avec glycérol) en flacons : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé complet en flacons (*) : 90 jours à 2-8 °C.

Milieu préparé complet en boîtes (*) : 8 jours à 2-8 °C.

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

10 PRESENTATION

Milieu de base déshydraté (sans glycérol) :

Flacon de 500 g BK170HA

Milieu prêt-à-liquéfier complet (avec glycérol) :

Pack de 10 flacons de 100 mL BM10908

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hocking, A.D., and Pitt, J.I. 1980. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low moisture foods. *App. Environ. Microbiol.*, 39: 488-492.

Deak, T., Chen, J., Golden, D.A., Tapia, M.S., Tornai-Lehoczki, J., Viljoen, B. C., Wyder, M.T., and Beuchat, L.R. 2001. Comparison of dichloran 18% glycerol (DG18) agar with general purpose mycological media for enumerating food spoilage yeasts. *Inter. Jour. of Food Microb.* 67: 49-53.

NF V 08-036. Mai 2003. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures se développant sur un milieu à faible a_w .

NF ISO 21527-2. Novembre 2008. Microbiologie des Aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et des moisissures. Partie 2 : Technique par comptage des colonies dans les produits à activité d'eau inférieure ou égale à 0,95.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau. Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

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 : DG18_FR_V11.

Date création : 04-2003

Date de révision : 07-2019

Motif de révision : Modification température de conservation.