

# GELOSE EUGON LT 100

## DENOMBREMENT DES AEROBIES MESOPHILES

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Eugon LT 100 est utilisée pour l'isolement et le dénombrement des microorganismes aérobies mésophiles dans les produits cosmétiques avec et sans conservateurs. Elle permet d'obtenir de luxuriantes cultures pour la plupart des microorganismes contaminants.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 21149.

### 2 PRINCIPES

Le milieu est constitué par un mélange de peptones, de cystine, de glucose et de sels qui favorisent la croissance d'une grande variété de microorganismes.

Le chlorure de sodium maintient la pression osmotique.

La présence de lécithine et de Polysorbate 80 permet de neutraliser l'activité antibactérienne de la plupart des antiseptiques ou des conservateurs tels que les dérivés phénoliques, les aldéhydes et les ammoniums quaternaires.

Le triton X-100 favorise la dispersion des germes et améliore ainsi le dénombrement.

### 3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone .....	15,0 g
- Peptone papaïnique de soja .....	5,0 g
- L-cystine .....	0,7 g
- Glucose .....	5,5 g
- Chlorure de sodium .....	4,0 g
- Sulfite de sodium.....	0,2 g
- Lécithine d'œuf.....	1,0 g
- Polysorbate 80 .....	5,0 g
- Octoxynol 9 .....	1,0 g
- Agar agar bactériologique .....	15,0 g

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

### 4 PREPARATION

#### Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 52,4 g de milieu déshydraté (BK138) 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.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Pour une utilisation en surface, couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface plane.

✓ **Reconstitution :**  
52,4 g/L

✓ **Stérilisation :**  
15 min à 121°C

## Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier :

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou bien le milieu prêt-à-liquéfier (BM045) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.

## 5 MODE D'EMPLOI

### Ensemencement en surface :

- A la surface du milieu ainsi préparé ou du milieu pré-coulé (BM170), transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales.
- Ensemencer l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à  $32,5 \pm 2,5$  °C pendant  $72 \pm 6$  heures.

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

✓ **Incubation :**  
72 ± 6 h à 32,5 ± 2,5 °C

### NOTE

Il est possible d'utiliser la méthode de dénombrement par filtration sur membrane et dépôt de la membrane sur la surface de la gélose.

### Ensemencement en profondeur :

- Transférer 1 mL de d'inoculum et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu fondu, maintenu à 44-47 °C, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à  $32,5 \pm 2,5$  °C pendant  $72 \pm 6$  heures.

✓ **Ensemencement :**  
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**  
72 ± 6 h à 32,5 ± 2,5 °C

## 6 LECTURE

Dénombrer les colonies dans les boîtes contenant moins de 300 colonies pour les ensemencements en surface et en profondeur.

Pour la méthode par filtration, dénombrer les colonies dans les boîtes contenant moins de 150 colonies.

## 7 CONTROLE QUALITE

**Milieu déshydraté :** poudre beige, homogène, légèrement mottée.

**Milieu préparé :** gélose ambrée.

Réponse culturale après incubation 48 h à 32,5 °C:

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : $P_R$ )
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 70$ %
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00032	$P_R \geq 70$ %
<i>Bacillus subtilis</i>	WDCM 00003	$P_R \geq 70$ %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026	$P_R \geq 70$ %

## 8 CONSERVATION

**Milieu déshydraté :** 2-20 °C.

**Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :** 2-25 °C.

**Milieu pré-coulé en boîtes de Petri :** 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

**Milieu préparé en flacons ou en tubes (\*) :** 180 jours à 2-25 °C.

**Milieu préparé en boîtes (\*) :** 30 jours à 2-8 °C.

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

## 9 PRESENTATION

---

### Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g ..... BK138HA

### Milieu prêt-à-liquéfier :

Pack de 10 flacons de 200 mL ..... BM04508

### Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :

Coffret de 20 boîtes ..... BM17008

## 10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Quisno, R., Gibby, I.W., and Fàter, M.J.. 1946. A neutralizing medium for evaluating the germicidal potency of the quaternary ammonium salts. *American Journal of Pharmacy*, **118** : 320-323.

Willimson, P., and Kligman, A.M.. 1965. A new method for the quantitative investigation of cutaneous bacteria. *Journal of Investigative Dermatology*, **45** : 498-503.

Desbordes, J.. 1977. Biodégradation microbienne des antiseptiques et conservateurs. Conséquences pour la qualité microbiologique. *Revue de l'Institut Pasteur de Lyon*, **10**, n° 4 : 291-311.

Singer, S.. 1987. The use of preservative neutralizers in diluents and plating media. *Cosmetics and Toiletries*, **102** : 55-60.

NF EN ISO 21149. Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Dénombrement et détection des bactéries aérobies mésophiles.

## 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 : GELOSE EUGON LT100\_FR\_V7.

Date création : 01-2003

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.