

GELOSE LACTOSEE AU DESOXYCHOLATE

DENOMBREMENT DES COLIFORMES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose lactosée au désoxycholate est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des bactéries coliformes dans les eaux, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. Ce milieu est également employé pour la différenciation et l'isolement des entérobactéries à partir des prélèvements d'origine animale.

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 été légèrement modifiée par l'utilisation de peptones mieux définies ainsi que par des ajustements sensibles pour les substances inhibitrices.

3 PRINCIPES

L'inhibition des microorganismes à Gram positif est essentiellement due à l'action du désoxycholate de sodium, bien que le citrate de sodium soit également un inhibiteur efficace.

La différenciation des entérobactéries est fondée sur la capacité de ces 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 10,00 g
- Lactose..... 10,00 g
- Désoxycholate de sodium 0,50 g
- Chlorure de sodium..... 5,00 g
- Citrate de sodium 2,00 g
- Rouge neutre 0,03 g
- Agar agar bactériologique..... 15,00 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,1 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 42,5 g de milieu déshydraté (BK065) 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 le milieu à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
42,5 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.
- 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 suivant le protocole analytique utilisé.

✓ **Ensemencement :**
1 mL double couche

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

7 LECTURE

Les coliformes présentent des colonies rouges de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm, après 24 heures d'incubation.

Les entérobactéries lactose-négatif donnent des colonies incolores.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre rosâtre, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rougeâtre.

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

Microorganismes	Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Colonies caractéristiques
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	$P_R \geq 50$ %	Rouge-violacé, avec précipité biliaire
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	$P_R \geq 50$ %	Rouge-violacé, avec précipité biliaire
<i>Citrobacter freundii</i> CIP 57.32T	$P_R \geq 50$ %	Rouge-violacé, avec précipité biliaire
<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 BK065HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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.

Journal Officiel du 17 février 1985. Méthodes d'analyses des laits pasteurisés (Arrêté du 3 janvier 1985).

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_FR_V5.

Date de révision : 09-2015

Date création : 02-2003

Motif de révision : Révision générale.

Gélose lactosée au Désoxycholate

Dénombrement des coliformes

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37°C.



Escherichia coli

Colonie caractéristique :
couleur rouge-violacé, entourée d'un
halo de précipité biliaire.