

FICHE TECHNIQUE

GELOSE DE ROGOSA

DENOMBREMENT DES LACTOBACILLES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Rogosa est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des lactobacilles dans les viandes, les produits alimentaires et les prélèvements biologiques d'origine animale.

En raison de sa teneur en sels trop élevée, le milieu n'est pas adapté à l'isolement de certains lactobacilles d'origine laitière tels que *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* ou *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

2 HISTORIQUE

Rogosa *et al.* démontrèrent que ce milieu était plus sélectif pour les lactobacilles que le milieu au jus de tomates précédemment utilisé. Les cultures de streptocoques, *Proteus* et moisissures sont nettement réduites.

3 PRINCIPES

En complément de la Tryptone et de l'extrait de levure riche en vitamines du groupe B, le Tween 80 est une source d'acides gras nécessaires au développement des lactobacilles.

Le citrate d'ammonium et l'acétate de sodium constituent les substances inhibitrices du développement de la plupart des contaminants incluant les streptocoques et les moisissures.

Le pH acide, résultant de l'addition d'acide acétique, est favorable à la culture des lactobacilles et inhibe la plupart des autres germes.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	10,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	5,0 g
- Glucose	20,0 g
- Acétate de sodium	15,0 g
- Citrate d'ammonium	2,0 g
- Phosphate monopotassique	6,0 g
- Sulfate de magnésium	575,0 mg
- Sulfate de manganèse	120,0 mg
- Sulfate ferreux.....	34,0 mg
- Tween 80	1,0 g
- Agar agar bactériologique.....	15,0 g

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 74,7 g de milieu déshydraté (BK033) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Ajuster le pH à 5,5 par addition d'acide acétique glacial (environ 1,3 mL).
- 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 à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
74,7 g/L
Ajuster le pH à 5,5
✓ **Stérilisation :**
Porter à ébullition

6 MODE D'EMPLOI

- Transférer 1 mL de produit à analyser 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.
- Placer les boîtes ensemencées dans une jarre pour anaérobiose.
- Incuber à 37 °C pendant 72 heures sous atmosphère enrichie en CO₂ à 5-10 %.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
72 h à 37 °C sous CO₂ à
5-10 %

7 LECTURE

Les lactobacilles apparaissent sous forme de grosses colonies blanches. Procéder aux subcultures nécessaires à l'identification biochimique des microorganismes ayant cultivé.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-crème, légèrement mottée, friable.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale après 72 heures d'incubation en atmosphère CO₂ à 5 %, à 37 °C :

Microorganismes		Croissance
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>rhannosus</i>	WDCM 00101	$P_R \geq 70 \%$
<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC 8014	$P_R \geq 70 \%$
<i>Lactobacillus gasseri</i>	WDCM 00103	$P_R \geq 70 \%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée, score 0
<i>Bacillus cereus</i>	WDCM 00001	Inhibée, score 0

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-20 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en tubes ou en flacons (*) : Non recommandé

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK033HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rogosa, M., Mitchell, J.A., and Wiseman, R.F. 1951. A selective medium for the isolation of oral and faecal lactobacilli. *J. Bact.*, **62**: 132-133.

Rogosa, M., Mitchell, J.A., and Wiseman, R.F. 1951. A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. *J. Dental Res.*, **30** (5): 682.

Sharpe, M.E. 1960. Selective media for the isolation and enumeration of lactobacilli. *Lab. Pract.*, **9**: 223-227.

Sabine, D.B., and Vaselekos, J. 1965. Isolation of *Lactobacillus acidophilus* from fecal material. *Nature*, **206**: 960.

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 : ROGOSA_FR_V5.

Date de révision : 10-2015

Date création : 11-2000

Motif de révision : Révision générale.