

Milieu gélosé J (milieu gélosé Désoxycholate-Citrate)

356-4414

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Salmonella* et des *Shigella* lors du contrôle de la contamination des produits non obligatoirement stériles de la Pharmacopée.

Equivalent USP 30/NF 25 : Milieu XV

REFERENCE(S)

• **Pharmacopée Européenne 6.0** - Méthodes Biologiques - **2.6.13.** : Contrôle Microbiologique des produits non stériles (Recherche de micro-organismes spécifiés)

• **USP 30/NF 25 U.S. Pharmacopeia and National Formulary (2007)** : Microbial Limit Tests (61) - Microbiological Tests

PRINCIPE

La gélose DCL permet la différenciation des souches lactose +/lactose -, et la mise en évidence de la production éventuelle d'H₂S. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des Bactéries Gram (+) par le désoxycholate, le citrate de sodium et le citrate ferrique.

PRESENTATION

Déshydraté

500 g

code 356-4414

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

• Déshydraté : +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec

• La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Peptone Bactériologique	10 g
Extrait de viande	10 g
Citrate de sodium	20 g
Citrate ferrique	1 g
Désoxycholate de sodium	5 g
Lactose	10 g
Rouge neutre	20 mg
Agar	13,5 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25°C) final = 7,3 ± 0,2

NB : Des adaptations de la formule ont pu être réalisées afin d'atteindre les critères de performance requis.

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (1 ml,...)
- Etaleurs stériles
- Bain-marie avec une précision de ±1°C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ±1°C
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation.

Dissoudre 52 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes.

Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Ne pas autoclaver.

Repartir en boîtes de Petri et laisser sécher.

Taux de reconstitution : 52 g/l
500 grammes de poudre permettent de réaliser 9,6 litres de milieu.

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément aux recommandations du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

Inoculer 0,1 ml de l'échantillon à analyser sur une boîte de Petri préalablement coulée et séchée. Etaler et incubé à 37°C ± 1°C pendant 24 à 48 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

L'apparition de colonies bien développées et incolores indique la présence probable des *Salmonella*.

Après 36 à 48 heures d'incubation, les colonies se présentent le plus souvent sous les aspects typiques décrits dans le tableau ci-après :

Couleur	Fermentation du lactose	Espèces
Rouge	+	<i>Escherichia coli</i> (partial inhibition), <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter freundii</i> lactose +
Incolore ou blanchâtre à centre rouge	±	
Rouge ou rouge à centre noir	±	<i>Citrobacter freundii</i> or certain <i>S. arizonae</i>
Rose très pâle	- ou ±	<i>Shigella sonnei</i> <i>Proteus morganii</i> <i>Y. enterocolitica</i> (colonies repiquables après 48 h à 30°C ou 37°C)
Incolore ou blanchâtre	-	<i>Shigella</i> <i>E. coli</i> (Biotype Alkaescens dispar) <i>Salmonella</i> H ₂ S - <i>Proteus</i> H ₂ S - <i>Citrobacter freundii</i> lactose -
Incolore ou blanchâtre, centre orangé	-	<i>Proteus rettgeri</i> <i>Providencia</i>
Incolore ou blanchâtre à centre noir	-	<i>Samonella</i> H ₂ S + <i>S. arizonae</i> <i>Citrobacter freundii</i> lactose <i>Proteus hauseri</i>
Verdâtre ou brunâtre	-	<i>Pseudomonas</i> pigmentés

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Désoxycholate-Citrate-
Lactose/*Salmonella*/*Shigella*/Produits alimentaires-
Eaux/Recherche/Dénombrement/Lactose/
H₂S/Milieu

BIBLIOGRAPHIE

HYNES M. (1942) : The isolation of intestinal pathogens by selective media. Journal of Pathological Bacteriology **54** : 193-207

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la solution mère (ou de la dilution 10⁻¹ dans le cas d'un produit solide) et le moment où les dilutions entrent en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 15 minutes.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

CONTROLE QUALITE

Au regard des travaux préalables à l'harmonisation des pharmacopées, actuellement en cours, nous vous recommandons de vous reporter aux certificats de contrôle pour connaître les modalités mises en oeuvre pour le contrôle de la qualité (performance et sélectivité) des milieux de culture fabriqués par Bio-Rad.

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.