

The logo for ClearLine, featuring the brand name in a white, sans-serif font on a red, trapezoidal background.

BOUILLON DENOMBREMENT D/E NEUTRALISANT (D/E NEUTRALIZING BROTH)

PRINCIPE

Le bouillon dénombrement D/E (Dey-Engley) neutralisant est utilisé pour déterminer l'efficacité des antiseptiques et des désinfectants.

L'action conjuguée des neutralisants permet la neutralisation des produits à base d'ammoniums quaternaires, de phénols, de formol, de dérivés mercuriels, halogénés ou chlorés, d'iodures, d'alcool éthylique, de formaldéhyde et de glutaraldéhyde.

FORMULE

Ingrédients en grammes par litre d'eau purifiée.

Tryptone	5,00	Bisulfite de sodium	2,50
Extrait de levure	2,50	Lécithine de soja	7,00
Glucose	10,00	Tween® 80	5,00
Thioglycolate de sodium	1,00	Pourpre de bromocrésol	0,02
Thiosulfate de sodium	6,00		

Ce milieu peut être ajusté et/ou complété en fonction des critères de performances imposés

CONDITIONS DE CONSERVATION avant ouverture

Flacons : 2 - 8°C à l'obscurité

Base déshydratée : 2 - 30°C

La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

PREPARATION pour le milieu déshydraté

1. Dissoudre 39 grammes dans 1 litre d'eau purifiée.
2. Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.
3. Répartir en tubes ou flacons.
4. Autoclaver 15 minutes à 121°C.

UTILISATION

Se conformer aux protocoles en vigueur. D'une façon générale, le protocole suivant peut être appliqué :

1. Introduire dans des tubes de 9 ml, 1 ml du produit à examiner dilué à la concentration recommandée. Mélanger soigneusement et laisser reposer 15 minutes.
2. Parallèlement, préparer des tubes de 9 ml contenant le milieu de culture mais sans neutralisant.
3. Ajouter dans chaque tube, 0,1 ml d'une suspension bactérienne diluée au 1/100.00 provenant d'une culture de 24 heures.
4. Incuber 48 heures à 37°C et noter la croissance qui se caractérise par un virage au jaune de l'indicateur et/ou la formation d'une pellicule en surface.
5. La croissance dans le tube de bouillon D/E neutralisant mais pas dans le tube témoin, indique la bonne neutralisation des agents chimiques et une action bactériostatique ou bactéricide potentielle. Repiquer une aliquote de tous les bouillons sur gélose D/E neutralisant et incuber 48 heures à 37°C. La croissance sur la gélose du bouillon témoin traduit l'action bactériostatique du produit à examiner, l'absence de croissance traduit l'action bactéricide. Tous les tubes ayant montré une croissance en bouillon doivent également présenter une croissance sur gélose.
6. L'absence de croissance dans les 2 tubes peut indiquer une concentration trop forte du produit à examiner.

CRITERES ATTENDUS

Aspect du milieu prêt à l'emploi : liquide violet légèrement trouble

Physico-chimie : pH 7,6 ± 0,2 à 25°C

Activité microbiologique

L'utilisateur devra s'assurer que le milieu permet une bonne croissance des espèces recherchées en présence de concentrations croissantes des antiseptiques utilisés. A titre indicatif les concentrations suivantes peuvent être utilisées : chlore 2% (eau de Javel), formaldéhyde 2%, glutaraldéhyde 1%, iodure 2%, Merthiolate® 1/1000, phénol 2% et composés d'ammonium quaternaire 1/750.

Référence des souches	Inoculum requis	Durée et T° d'incubation	Résultat attendu
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 • WDCM 00003	10-10 ² UFC	48 h ± 2 h à 37°C ± 1°C	Croissance
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 • WDCM 00012	10-10 ² UFC	48 h ± 2 h à 37°C ± 1°C	Croissance
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 • WDCM 00026	10-10 ² UFC	48 h ± 2 h à 37°C ± 1°C	Croissance
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P • WDCM 00195	10-10 ² UFC	48 h ± 2 h à 37°C ± 1°C	Croissance

Exemple de tests de performances recommandés pour ce milieu

BIBLIOGRAPHIE

1. Dey, B.P. & F.B. Engley. 1983. Methodology for recovery of chemically treated *Staphylococcus aureus* with neutralizing medium. Appl. Environm. Microbiol. **45**:1533-1537.
2. ISO 21149. Cosmétiques - Microbiologie - Dénombrement et détection des bactéries aérobies mésophiles.
3. ISO 21150. Cosmétiques - Microbiologie - Détection d'*Escherichia coli*.
4. ISO 22717. Cosmétiques - Microbiologie - Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*.
5. ISO 22718. Cosmétiques - Microbiologie - Détection de *Staphylococcus aureus*.