

BLBVB / Bouillon (Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant)

357-8024

DOMAINE D'APPLICATION

Bouillon sélectif utilisé comme milieu présomptif et de confirmation pour le dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants dans les produits alimentaires et les eaux (*Méthode NPP*).

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

- **NF ISO 4831 (Octobre 2006)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des coliformes - Technique du nombre le plus probable (IC : V 08-016)
- **NF ISO 4832 (Juillet 2006)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes – Méthode par comptage des colonies (IC : V 08-015)
- **NF V08-301 (Juin 1983)** : Microbiologie alimentaire - Produits déshydratés Examen microbiologique
- **FIL 73A (1985)** : Lait et produits laitiers - Dénombrement des coliformes – Technique par comptage des colonies et technique du nombre le plus probable à 30°C
- Méthodes officielles de prélèvements et d'analyse bactériologiques des glaces et crèmes glacées (Arrêté du 30 Août 1968 paru au JO du 21 Septembre 1968)
- Méthodes d'analyses bactériologiques pour le contrôle des coquillages (Circulaire DGAL / SVHA / C88 / N°8003 du 28 Avril 1988)

EAUX

- **NF T90-413 (Octobre 1985)** : Essais des eaux - Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants - Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP)
- **NF T90-461/A2 (Mai 2007)** : Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des coliformes à fermenter le lactose avec production de gaz. Celle-ci est visualisée à l'aide de la cloche de Durham.

Tous les micro-organismes autres que les coliformes sont partiellement ou totalement inhibés par l'association de la bile et du vert brillant.

PRESENTATION

- **Prêt à l'emploi (Simple concentration)**
10 ml x 25 tubes **code 357-8024**

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 15 - 25°C, à l'obscurité.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Milieu simple concentration

Peptone	10 g
Bile de bœuf déshydratée	20 g
Lactose	10 g
Vert brillant	13,3 mg
Eau distillée	1000 ml

pH final (25°C) = 7,2 ± 0,2

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S)

NON FOURNI(S)

- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Agitateur-homogénéisateur
- Pipettes stériles (1 ml, 10 ml,...)
- Etuves ou enceintes thermostatées avec une précision de ± 0,5°C et ± 1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PROTOCOLE

Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

Ensemencement et incubation

Utiliser le milieu BLBVB en tant que :

BLBVB / Bouillon

(Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant)

1. Milieu présomptif

Selon les normes :

- Inoculer 3 tubes de milieu BLBVB simple concentration avec 1 ml de la solution mère et/ou 1 ml de chacune des dilutions décimales. Incuber à $30 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 48 ± 2 h.
- Inoculer 3 tubes de milieu BLBVB double ou triple concentration avec 10 ml de la solution mère et/ou 10 ml de chacune des dilutions décimales. Incuber à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 48 ± 2 h.

2. Milieu de confirmation

A partir d'un milieu présomptif positif⁽¹⁾, prélever une goutte à l'aide d'une ôse bouclée ou une pipette Pasteur préalablement stérilisée à la flamme et inoculer le bouillon BLBVB simple concentration. Incuber à :

- Selon les normes à 30°C ou 35°C ou 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) pendant 24 heures (± 2 h) et/ou 48 ± 2 h pour la recherche des coliformes.
- $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 24 ± 2 h et/ou 48 ± 2 h pour la recherche des coliformes thermotolérants.

N.B. : Afin d'effectuer la recherche de production d'indole, il convient d'inoculer en parallèle, selon les normes, des tubes d'eau peptonée exempte d'indole (codes 355-4180/356-4334) ou de Schubert (codes 355-5694/356-9634) ou de bouillon Tryptophane (code 355-4194).

(1) Bouillon au lauryl sulfate de sodium ou BLBVB ou bouillon BCP-Lactose (codes 355-3414, 356-4044).

Voir Fiche(s) Technique(s) correspondantes

LECTURE ET INTERPRÉTATION

• Lecture

Après la période d'incubation, considérer comme tubes positifs, ceux qui présentent un trouble et un dégagement gazeux (1/3 du volume total de la cloche).

• Expression des résultats/Calculs

A l'aide des tables NPP, exprimé le résultat selon la norme spécifique.

PRECAUTION D'EMPLOI

- Bien éliminer l'air présent dans la cloche de Durham avant inoculation.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Production de gaz après 48 h d'incubation à 30°C
<i>Escherichia coli</i> RIVM WR1 *	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 43864	+
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	-
MICRO-ORGANISMES	Production de gaz après 48 h d'incubation à 44°C
<i>Escherichia coli</i> RIVM WR1 *	+

* RIVM WR1 est équivalente à NCTC 13167

NA = Non Applicable

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

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.

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

MOTS CLES

BLBVB / Coliformes / *Escherichia coli* / Thermotolérant / Produits Alimentaires / Eaux / Dénombrement / Vert brillant / Lactose / Cloche / Durham / Gaz / NPP / Bouillon.