

## EC Medium / Bouillon (Bouillon *Escherichia coli*)

356-4764

### DOMAINE D'APPLICATION

Le bouillon E.C. est un milieu d'enrichissement sélectif pour l'isolement des coliformes, *E. coli* inclus.

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

#### MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF ISO 7251 (Juillet 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés - Technique du nombre le plus probable. (IC : V08-020)

### PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des bactéries lactose positives, particulièrement les coliformes et les *E.coli*, à fermenter le lactose. Tous les micro-organismes gram positifs sont partiellement ou totalement inhibés par les sels biliaires. Le milieu est tamponné par l'addition de sulfates de potassium et la pression osmotique est équilibrée par l'ajout de chlorure de sodium.

### PRESENTATION

- Déshydraté  
500 g

code 356-4764

### 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.
- Le milieu reconstitué peut se conserver jusqu'à 3 mois dans un tube ou flacon fermé, à + 15 - 25°C à l'abri de la lumière.

### FORMULE THEORIQUE

Tryptose	20 g
Lactose	5 g
Sels biliaires N°3	1,5 g
Hydrogénophosphate de potassium (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	4g
Dihydrogénophosphate de potassium (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1,5 g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 6,8 ± 0,2	

### AUTRES PRODUITS NECESSAIRES NON FOURNIS

- Diluant(s)
- Eau distillée

### MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Agitateur-homogénéisateur
- Tubes à essais (16 x 160 mm) avec bouchons autoclavables et cloches de Durham
- 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.

### PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Dissoudre 37 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Attendre 10 minutes.

Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Répartir 10 ml de milieu par tube (16 x 160 mm) et contenant préalablement une cloche de Durham, autoclaver 15 min à 121°C. Ajuster si nécessaire le pH à 6,8 ± 0,2.

### Taux de reconstitution : 37 g/l

**500 grammes de poudre permettent de réaliser 13,5 litres de milieu simple concentration.**

### PROTOCOLE

#### • Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

#### • Ensemencement et incubation

Après l'incubation du bouillon lauryl-sulfate (**code 356-4774**) double concentration, si une opacité, un trouble ou un dégagement gazeux sont observés, ou après l'incubation du bouillon lauryl sulfate simple concentration si un dégagement gazeux est observé, inoculer un tube de bouillon EC avec une anse et incuber à 44°C pendant 24h.

Incuber à 44°C (± 1°C) pendant 24 heures (± 2 h). Si à ce stade, on n'observe pas de formation de dégagement gazeux, poursuivre l'incubation jusqu'à 48 heures (± 2 h)

#### • Confirmation

Après incubation du bouillon EC, si un dégagement gazeux est observé, inoculer avec une anse un tube d'eau peptonée exempte d'indole (**codes 355-4180, 356-4334**) préchauffé à 44°C. Incuber pendant 48 h (± 2h) à

1/2

## EC Medium / Bouillon

(Bouillon *Escherichia coli*)

44°C. Après incubation ajouter 0,5 ml de réactif indole, bien mélanger et examiner après 1 min. Une couleur rouge dans la phase alcoolique indique la présence d'indole.

### LECTURE ET INTERPRETATION

#### • Lecture

Est considéré comme positif le milieu d'enrichissement sélectif (bouillon lauryl-sulfate) montrant après subculture un dégagement gazeux visible dans le tube de bouillon EC et une production d'indole dans le tube d'eau peptonée.

#### • Expression des résultats / Calculs

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

### PRECAUTIONS 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 24-48 h d'incubation à 44°C (± 1°C)	
	CROISSANCE	GAZ
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853b	-	NA

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

E.C. / *Escherichia coli* / Produits Alimentaires / Eaux / Cloche / Durham / Gaz / NPP / Bouillon.

### BIBLIOGRAPHIE

- **American Public Health Association (1980)**  
American Water Works Association and Water Pollution Control Federation : standard methods for examination of water and waste water. 15<sup>th</sup> Edn. APHA Inc. Washington DC.
- **American Public Health Association (1978)**  
Standard methods for examination dairy products. 14<sup>th</sup> Edn. APHA Inc. Washington DC.
- **American Public Health Association (1976)**  
Standard methods for examination foods. 15<sup>th</sup> Edn. APHA Inc. Washington DC.