

GELOSE EMB (LEVINE)

CONFIRMATION DE *ESCHERICHIA COLI*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose EMB, préconisée originellement par Levine, est utilisée pour différencier les entérobactéries (notamment *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes*) dans les produits pharmaceutiques, les produits cosmétiques, les produits alimentaires et les eaux.

Elle est également utilisée comme milieu de confirmation d'*Escherichia coli* en cosmétiques

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 21150.

2 HISTORIQUE

En 1916, Holt-Harris et Teague employèrent une association d'éosine et de bleu de méthylène pour différencier les microorganismes suivant leur aptitude à fermenter ou non le lactose. Par la suite, Levine modifia la formule en supprimant le saccharose et en augmentant la concentration en lactose, ce qui permit de différencier aisément *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes*.

3 PRINCIPES

L'éosine Y et le bleu de méthylène sont des agents faiblement sélectifs. Ils n'inhibent que partiellement le développement des microorganismes à Gram positif tels que les entérocoques.

Ces colorants assurent la différenciation entre les germes lactose-positif et les germes lactose-négatif. Les coliformes donnent des colonies violettes à brunes tandis que les salmonelles sont incolores, transparentes ou ambrées. *Escherichia coli* présente un reflet métallique sous lumière réfléchie.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine	10,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Phosphate dipotassique.....	2,0 g
- Eosine Y	0,4 g
- Bleu de méthylène	65,0 mg
- Agar agar bactériologique	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,1 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 37,5 g de milieu déshydraté (BK056) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Bien homogénéiser le flacon de façon à oxyder le bleu de méthylène et assurer la mise en suspension homogène du précipité.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

✓ **Reconstitution :**
37,5 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

6 MODE D'EMPLOI

Confirmation d'*Escherichia coli*, Cosmétiques (NF EN ISO 21150)

- Prélever une colonie caractéristique sur gélose MacConkey et isoler sur la gélose EMB ainsi préparée.
- Incuber à 30-35 °C pendant 24 à 48 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 à 48 h à 30-35°C

NOTE

Pour d'autres applications, incuber généralement 18 à 24 heures à 37 ± 1 °C.

7 LECTURE

L'aspect des colonies est le suivant :

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies violet foncé, bombées, faiblement confluentes, de 2-3 mm de diamètre, à centre noir étendu à plus des 3/4 du diamètre. Les colonies présentent un éclat métallique verdâtre en lumière réfléchie et un aspect bleu-noir sous lumière transmise.	<i>Escherichia coli</i>
Colonies bleuâtres, à centre brun foncé, aplaties, plutôt confluentes, de 4-6 mm de diamètre, qui ne présentent qu'occasionnellement un éclat métallique	<i>Enterobacter aerogenes</i>
Colonies violettes à léger reflet métallique	<i>Citrobacter</i>
Colonies brunâtres, muqueuses	<i>Klebsiella</i>
Colonies ambrées, transparentes	<i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i>

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre violacée, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose bordeaux, pouvant présenter un léger précipité après autoclavage.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 30-35 °C (NF EN ISO 21150) :

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Bonne, score 2	Colonies violacées à reflets métalliques

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu préparé en boîtes(*) : 30 jours à 2-8 °C.

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK056HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Holt-Harris, J.E., and Teague, O. 1916. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosa* from stools. J. Infect. Dis., 18: 596.

Levine, M. 1918. Differentiation of *Escherichia coli* and *Aerobacter aerogenes* on a simplified eosin-methylene blue agar. Jour. Inf. Dis., 23: 43-47.

Levine, M. 1921. Bacteria fermenting lactose and the significance in water analysis. Bull Iowa State College. Eng. Exp. Station.

Weld, J.T. 1952. *Candida albicans*. Rapide identification in pure cultures with carbon dioxide on modified eosin methylene blue medium. Arch. Dermat. Syph., 66: 691-694.

Vogel, R.A., and Moses, M.R. 1957. Welds method for the rapid identification of *Candida albicans* in clinical materials. Am. J. Clin. Pathol., 28 (1): 103.

NF EN ISO 21150. Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection d'*Escherichia coli*.

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 : GELOSE EMB_FR_V6.

Date création : 04-2001

Date de révision : 03-2016

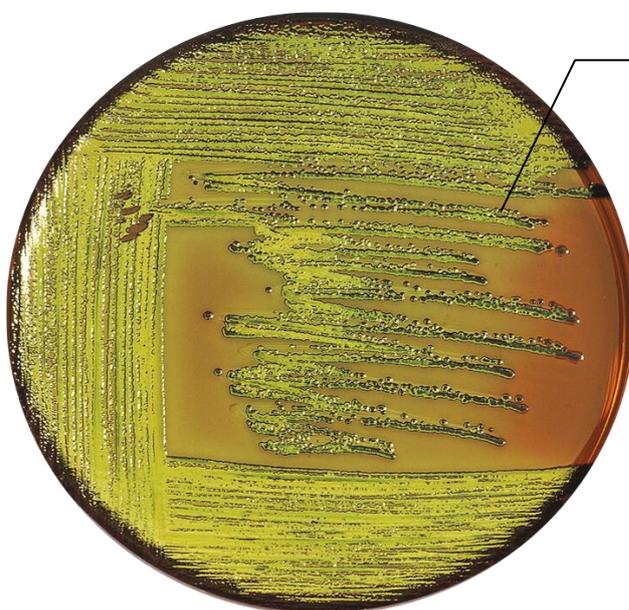
Motif de révision : Révision générale.

Gélose EMB (Levine)

Détection de *E. coli* et *Enterobacter*

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37°C.



Escherichia coli

Colonie caractéristique :
couleur violet foncé, bombée,
présentant un éclat métallique
verdâtre en lumière réfléchie.