
BOUILLON AU GLUTAMATE MODIFIE

DENOMBREMENT DES *ESCHERICHIA COLI* β -GLUCURONIDASE POSITIVE

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon au glutamate est utilisé en microbiologie de la chaîne alimentaire pour le dénombrement des *Escherichia coli* β -glucuronidase positive par la technique du nombre le plus probable. Il est préconisé en particulier lorsque leurs cellules se trouvent dans un état physiologique amoindri du fait de leur exposition à des stress de type congélation, déshydratation, désinfection ou exposition à un environnement salin.

La méthode décrite ne permet pas de détecter les souches d'*Escherichia coli* qui ne se développent pas à 44 °C et, en particulier, celles qui sont β -glucuronidase négative, comme *Escherichia coli* O157 et quelques autres souches d'*Escherichia coli* pathogènes.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 16649-3.

2 HISTORIQUE

En 1948, Folpmers fut le premier à mettre au point un milieu chimiquement défini basé sur l'utilisation d'acide glutamique pour la numération des coliformes dans l'eau. Le milieu a été ensuite modifié par Gray, puis trouvé supérieur au bouillon de MacConkey pour la détection d'*Escherichia coli* dans les eaux chlorées et non chlorées.

3 PRINCIPES

La présence de bactéries coliformes est mise en évidence par la production de gaz à partir du lactose ainsi que par le virage au jaune du pourpre de bromocrésol.

Les entérocoques ne cultivent pas sur ce milieu, en raison de l'absence des substances nutritives essentielles à leur culture.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Glutamate de sodium	6,35 g
- Chlorure d'ammonium	2,50 g
- Formiate de sodium	0,25 g
- L(-) cystine.....	20,0 mg
- Acide L(-) aspartique	24,0 mg
- L(+) arginine (chlorhydrate).....	20,0 mg
- Lactose.....	10,0 g
- Thiamine.....	1,00 mg
- Acide nicotinique	1,00 mg
- Acide pantothénique	1,00 mg
- Sulfate de magnésium	0,10 g
- Citrate ferrique ammoniacal	10,0 mg
- Chlorure de calcium	10,0 mg
- Phosphate dipotassique.....	0,90 g
- Pourpre de bromocrésol.....	10,0 mg

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 6,7± 0,1.

5 PREPARATION

Bouillon simple concentration

- Mettre en solution 20,2 g de milieu déshydraté (BK186) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée, pour le bouillon simple concentration.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes 16*160 mm à raison de 10 mL par tube.

✓ **Reconstitution :**
20,2 g/L

Bouillon double concentration

- Mettre en solution 40,4 g de milieu déshydraté (BK186) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée, pour le bouillon simple concentration.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes 20*200 mm à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser tous les tubes à l'autoclave à 116 °C pendant 10 min.
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**
40,4 g/L

✓ **Stérilisation:**
10 min à 116 °C

Note : La stérilisation peut être également de 15 minutes à 115 °C.

6 MODE D'EMPLOI

- Ensemencer un tube de bouillon (pour la détection) et 3 ou 5 tubes (pour la numération) de bouillon double concentration préparés avec 10 mL d'inoculum.
- Ensemencer 3 ou 5 tubes de bouillon simple concentration préparés avec 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales successives.
- Incuber pendant 24 ± 2 heures à 37 ± 1 °C.

✓ **Ensemencement :**
- double conc. : 10 mL
- simple conc. : 1 mL

✓ **Incubation :**
24 h à 37 °C

7 LECTURE

Les tubes présentant une modification de couleur par rapport au témoin ou une acidification (virage au jaune) sont considérés comme présomptivement positifs en *Escherichia coli*.

Repiquer chaque tube concerné sur gélose TBX (BK146) préalablement coulée en boîte de Petri.

Incuber 22 ± 2 h à 44 ± 1 °C.

Les colonies caractéristiques sont bleues.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre gris-bleuté, fluide à mottée, homogène.

Milieu préparé : solution bleu-violacé, limpide.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37°C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Bonne, score 2 (virage au jaune)
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Bonne, score 2 (virage au jaune)
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée, score 0

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-20 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Bien refermer juste après utilisation pour préserver de la reprise d'humidité.

Milieu préparé en tubes (*) : 90 jours à 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK186HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Folpmers, T. 1948. Ant. V. Leenwenhoek. J. Microbi. Serol., 14: 58-64.

Gray, R. D. 1959. J. Hyg. Camb., 57: 249-265.

Gray, R.D. 1964. J. Hyg. Camb., 62: 495-508.

Rodier, J. 1984. L'analyse de l'eau. Dénombrement des coliformes, coliformes fécaux et *Escherichia coli* présumés. Dunod 7ème Ed., 793-798.

NF EN ISO 16649-3. Juillet 2015. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* β -glucuronidase-positives. Partie 3 : Technique du nombre le plus probable utilisant le bromo-5-chloro-4-indolyl-3- β -D-glucuronate.

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 : BOUILLON GLUTAMATE MODIFIE_FR_V8.

Date création : 07-2005

Date de révision : 08-2016

Motif de révision : Changement contrôle qualité (ajout WDCM 00013).