

BOUILLON AU TRYPTOPHANE

RECHERCHE DE LA PRODUCTION D'INDOLE

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon au tryptophane permet la culture des germes ne présentant pas d'exigences particulières. Ce milieu est employé pour réaliser le test de production d'indole, utilisé notamment pour la confirmation des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF EN ISO 9308-1, NF EN ISO 6579-1, NF EN ISO 16654.

2 PRINCIPES

En aérobiose, les souches possédant une tryptophanase dégradent le tryptophane en indole. Après culture de la souche, l'indole produit est révélé par ajout du réactif de Kovacs.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 10,0 g
- DL-Tryptophane 1,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,5 ± 0,2.

4 PREPARATION

- Mettre en suspension 16,0 g de milieu déshydraté (BK163) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes à raison de 3 ou 5 mL, selon la norme appliquée.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**
16,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

5 MODE D'EMPLOI

Confirmation d'*Escherichia coli* (NF EN ISO 9308-1)

- Transférer une colonie prélevée sur la gélose lactosée au TTC dans un tube de 3 mL de milieu ainsi préparé ou prêt-à-l'emploi (BM076).
- Incuber à 44,0 ± 1,0 °C pendant 21 ± 3 heures.
- Ajouter 0,2 mL de réactif de Kovacs.

✓ **Ensemencement :**
Une öse

✓ **Incubation :**
21 h à 44 °C

Recherche de la production d'indole (*Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157)

- Prélever une colonie purifiée sur une gélose nutritive et ensemercer dans un tube de 5 mL de bouillon ainsi préparé.
- Incuber pendant 24 ± 3 heures à 37,0 ± 1,0 °C.
- Ajouter 1 mL de réactif de Kovacs.

✓ **Ensemencement :**
Une öse

✓ **Incubation :**
24 h à 37 °C

6 LECTURE

La présence d'indole se caractérise par l'apparition d'un anneau rouge dans la phase alcoolique du réactif de Kovacs. L'anneau reste jaune-brun pour les tests négatifs.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

Escherichia coli présente un test d'indole positif.

Shigella sonnei et *Salmonella* présentent un test indole négatif.

Les autres *Shigella* sont variables.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : solution ambrée, limpide.

Réponse culturale après 24 h d'incubation à 44 °C, méthode qualitative (FD T90-461)

Microorganismes		Croissance	Production d'indole
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Bonne, score 2	Positive
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Bonne, score 2	Positive
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00179	Bonne, score 2	Positive
<i>Citrobacter freundii</i>	WDCM 00006	Bonne, score 2	Négative
<i>Enterobacter aerogenes</i>	WDCM 00175	Bonne, score 2	Négative

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-l'emploi en tubes : 2-25 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en tubes (*) : 180 jours à 2-25 °C.

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

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK163HA

Milieu prêt-à-l'emploi :

Coffret de 50 tubes de 3 mL BM07608

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF EN ISO 9308-1. Septembre 2000. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes. Partie 1 : Méthode par filtration sur membrane.

NF EN ISO 16654. Juillet 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157. Modifié par Amendement A1 en Juin 2017.

NF EN ISO 21567. Mars 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp..

FD T90-461. Août 2016. Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture.

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : recherche des *Salmonella* spp..

11 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 TRYPTOPHANE_FR_V9.

Date création : 07-2003

Date de révision : 01-2018

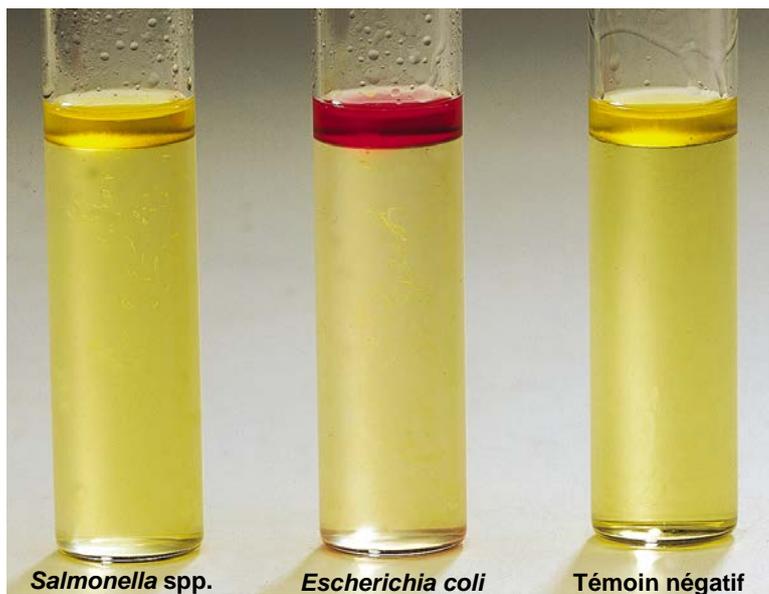
Motif de révision : Références bibliographiques

Bouillon au Tryptophane

Recherche de la production d'indole.

Lecture :

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



Caractéristiques : la production d'indole chez *Escherichia coli* se caractérise par l'apparition d'une couleur rouge dans la phase alcoolique du réactif de Kovacs (dégradation du tryptophane).
Le témoin négatif reste incolore à jaunâtre.