

COMPASS[®] Ecc AGAR

DENOMBREMENT DES *ESCHERICHIA COLI* ET AUTRES COLIFORMES

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le milieu chromogène COMPASS[®] Ecc Agar est une gélose sélective qui permet le dénombrement simultané, spécifique et sans confirmation des *Escherichia coli* et des autres bactéries coliformes dans les produits d'alimentation humaine et animale.

2 HISTORIQUE

La classification des coliformes est traditionnellement fondée sur leur capacité à fermenter le lactose avec production d'acide. La fermentation du lactose fait intervenir successivement deux enzymes : d'abord une perméase responsable de la pénétration du sucre dans la bactérie, puis une β -galactosidase qui le scinde en glucose et galactose, entrant dans le processus de fermentation proprement dit.

Dès 1962, Le Minor et Ben Hamida ont démontré les avantages de la recherche de la β -galactosidase sur celle de la fermentation du lactose pour le diagnostic bactériologique des entérobactéries. Des souches lactose lent ou lactose-négatif sont recensées parmi toutes les espèces de coliformes. Les milieux traditionnels ignorent ces biotypes β -galactosidase-positifs mais perméase-négatifs. En 1989, Leclerc et Mossel ont donc proposé que la présence d'une β -galactosidase chez les coliformes soit utilisée comme critère de leur classification. L'utilisation d'un substrat synthétique chromogène, insensible aux variations dans la perméabilité au lactose, permet de mettre en évidence cette enzyme par une réaction colorée.

Buehler *et al.*, en 1949, furent les premiers à relever la présence d'une β -D-glucuronidase chez *Escherichia coli*. Depuis, des études ont montré que 94 à 97% des *Escherichia coli* possèdent une β -D-glucuronidase et qu'elle n'est que très rarement retrouvée chez d'autres espèces (on l'a détectée chez un nombre réduit de souches de *Citrobacter*, d'*Enterobacter*, de *Klebsiella*, de *Salmonella*, de *Shigella* et de *Yersinia*).

3 PRINCIPES

La présence simultanée de deux substrats chromogènes permet la détection des deux activités enzymatiques spécifiques : la β -galactosidase (β -gal) et la β -glucuronidase (GUD).

Microorganismes	Phénotype typique	Coloration des colonies
<i>Escherichia coli</i>	GUD ⁺ / β -gal ⁺	Bleue à violette
Coliformes non <i>Escherichia coli</i>	GUD ⁻ / β -gal ⁺	Rose
Autres bactéries à Gram négatif	GUD ⁻ / β -gal ⁻	Blanche

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptones.....	18,40 g
- Système tampon.....	5,80 g
- Activateurs de croissance.....	3,55 g
- Mélange chromogénique.....	0,44 g
- Agents sélectifs.....	1,61 g
- Agar agar bactériologique.....	11,00 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 6,9 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 40,8 g de milieu déshydraté (BK202) 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 à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
40,8 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

6 MODE D'EMPLOI

- Transférer 1 mL de la suspension et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à 37 ± 1 °C pendant 21 ± 3 heures pour la numération des *Escherichia coli* et des coliformes totaux.
- Incuber à 44 ± 1 °C pendant 21 ± 3 heures pour la numération des *Escherichia coli* et des coliformes thermotolérants.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
21 h à 37 °C ou 44 °C

Note

Dans le cas des produits fortement chargés en flore interférente, il est recommandé de procéder à un ensemencement en profondeur double couche pour faciliter la lecture.

7 LECTURE

Dénombrer les boîtes contenant moins de 300 colonies.

Les coliformes autres qu' *Escherichia coli* présentent des colonies roses.

Les colonies d' *Escherichia coli* sont bleues à violettes et peuvent parfois présenter un halo rose de diffusion.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée, légèrement opalescente.

Réponse culturale après 21 heures d'incubation à 37 °C :

Microorganismes	Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	$P_R \geq 50 \%$	Colonies bleues à violettes
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 50 \%$	Colonies bleues à violettes
<i>Enterobacter aerogenes</i>	WDCM 00175	$P_R \geq 50 \%$	Colonies roses
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en flacons ou 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 BK202HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Le Minor, L. et Ben Hamida, F.. 1962. Avantages de la recherche de la β -galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bactériologique, en particulier des *Enterobacteriaceae*. Annales de l'Institut Pasteur (Paris), **102** : 267-277.

Kilian, M. and Bülow, P.. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae*. I. Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, Sect. B **84** : 245-251.

Adams, M.R., Grubb, S.M., Hamer, A., and Clifford, M.N.. 1990. Colorimetric enumeration of *Escherichia coli* based on β -glucuronidase activity. Applied and Environmental Microbiology, **56** : 2021-2024.

Manafi, M., Kneifel, W., and Bascomb, S.. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial dianafiagnosics. Microbiological Reviews, **55** : 335-348.

Coiffier, O.. 1992. Les bactéries coliformes, p. 303-323, dans les groupes microbiens d'intérêt laitier, CEPIL, Paris.

12 AUTRES INFORMATIONS

COMPASS[®] est une marque de SOLABIA S.A.S..

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 : COMPASS ECC_FR_V2.

Date création : 07-2010

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.

COMPASS[®] Ecc Agar

Dénombrement des *Escherichia coli* et autres bactéries coliformes

Lecture :

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

