

GELOSE DE SLANETZ ET BARTLEY

DENOMBREMENT DES ENTEROCOQUES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Slanetz et Bartley est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux d'alimentation, les boissons, les eaux usées, les eaux de piscine et divers produits biologiques d'origine animale, par la technique de filtration sur membrane.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF EN ISO 7899-2 et NF T90-421.

2 HISTORIQUE

Le milieu a été formulé par Slanetz *et al.* afin de dénombrer les entérocoques dans l'eau et les boissons par la technique de filtration sur membrane. L'addition de TTC (chlorure de triphényltétrazolium) au milieu a permis d'obtenir de meilleurs comptages lorsque les membranes étaient placées directement à la surface de la gélose. La formule actuelle donne des résultats comparables à ceux obtenus par la technique mise au point par Litsky, Mallmann et Field pour la détection des streptocoques fécaux.

3 PRINCIPES

L'azide de sodium permet d'inhiber la croissance des microorganismes à Gram négatif.

Le TTC (chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium) est un indicateur de la croissance bactérienne. Incolore à l'origine, il est réduit en formazan insoluble à l'intérieur de la cellule. Cette réaction se manifeste par l'apparition de colonies de couleur rouge à marron.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu complet :

- Tryptose20,0 g
- Extrait autolytique de levure5,0 g
- Glucose2,0 g
- Phosphate dipotassique4,0 g
- Azide de sodium0,4 g
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium0,1 g
- Agar agar bactériologique10,0 g

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

Pour 41,5 g de milieu déshydraté BK037

- Tryptose20,0 g
- Extrait autolytique de levure5,0 g
- Glucose2,0 g
- Phosphate dipotassique4,0 g
- Azide de sodium0,4 g
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium0,1 g
- Agar agar bactériologique10,0 g

Pour 41,4 g de base déshydratée BK129

- Tryptose20,0 g
- Extrait autolytique de levure5,0 g
- Glucose2,0 g
- Phosphate dipotassique4,0 g
- Azide de sodium0,4 g
- Agar agar bactériologique10,0 g

Pour un flacon de supplément BS027

- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium 50 mg

5 PREPARATION

Préparation à partir du milieu déshydraté complet :

- Mettre en suspension 41,5 g de milieu déshydraté complet (BK037) 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.
- Eviter tout chauffage excessif.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles (l'épaisseur de gélose doit être au moins égale à 5 mm).
- Laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
41,5 g/L

✓ **Stérilisation :**
Porter à ébullition

Préparation à partir du milieu de base déshydraté (sans TTC) :

- Mettre en suspension 41,4 g de milieu de base déshydraté (BK129) 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.
- Si nécessaire, répartir en flacons de 100 mL et autoclaver pendant 20 minutes à 110 °C. Sinon, le milieu peut être utilisé sans être autoclavé.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Réhydrater un flacon de supplément TTC 50 mg (BS027) avec 5 mL d'eau stérile.
- Ajouter stérilement 1 mL de supplément TTC 50 mg reconstitué (BS027) par volume de 100 mL de base.
- Homogénéiser parfaitement.
- Couler en boîtes de Petri stériles (l'épaisseur de gélose doit être au moins égale à 5 mm).
- Laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
41,4 g/L

✓ **Stérilisation:**
Si nécessaire 20 min à 110 °C

6 MODE D'EMPLOI

- Filtrer stérilement sur membrane un volume déterminé de l'échantillon d'eau à tester.
- A la surface des boîtes ainsi préparées ou du milieu pré-coulé (BM094 ou BM146), ramené préalablement à température ambiante, déposer la membrane en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à 36 ± 2 °C pendant 44 ± 4 heures.

✓ **Ensemencement :**
Filtration sur membrane

✓ **Incubation :**
 44 ± 4 h à 36 ± 2 °C

7 LECTURE

Les colonies présentant une coloration rouge, marron ou rose, au centre ou sur toute la colonie, doivent être considérées comme caractéristiques.

Procéder à la confirmation des colonies typiques en utilisant une gélose à la bile, à l'esculine et à l'azide (BK158 ou BM104), préchauffée à 44°C.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieus déshydratés : poudre blanc-crème, fluide et homogène.

Aspect lyophilisat : blanc, donnant après reconstitution une solution incolore, limpide.

Milieu préparé (complet) : gélose ambrée à rose-orangé.

Réponse culturale après 44 heures d'incubation à 36 °C (NF EN ISO 7899-2, NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	$P_R \geq 50$ %
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00176	$P_R \geq 50$ %
<i>Enterococcus faecium</i>	WDCM 00178	$P_R \geq 50$ %
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée, score 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00009	Inhibée, score 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée, score 0

9 CONSERVATION

Milieu complet déshydraté (BK037) : 2-30 °C, à l'abri de la lumière.

Milieu déshydraté base sans TTC (BK129) : 2-30 °C.

Supplément TTC 50 mg : 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri : 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu de base sans TTC préparé en flacons et autoclavé (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu complet préparé en flacons (*) : Non recommandé.

Supplément réhydraté (*) : 30 jours à 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Milieu complet préparé en boîtes (*) : 30 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 complet déshydraté :

Flacon de 500 g BK037HA

Milieu de base (sans TTC) déshydraté :

Flacon de 500 g BK129HA

Supplément TTC 50 mg :

Coffret de 10 flacons qsp 500 mL BS02708

Milieus complets pré-coulés en boîtes de Petri (Ø 55 mm) :

Coffret de 20 boîtes BM14608

Coffret de 120 boîtes BM09408

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Slanetz, L.W., Bent, D.F., and Bartley, C.H. 1955. Use of the membrane filter technique to enumerate enterococci. Public Health. Rep., 70: 67.

Slanetz, L.W., and Bartley, C.H. 1957. Numbers of enterococci in water, sewage, and faeces, determined by the Membrane Filter Technique with an improved medium. J. Bacteriol., 74 (5): 591.

Rodier, J. 1984. L'analyse de l'eau. Dénombrement des streptocoques fécaux présumés. (Méthode par filtration sur membrane). Dunod 7è Ed., 828-829.

NF EN ISO 7899-2. Août 2000. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux. Partie 2 : Méthode par filtration sur membrane.

NF T90-421. Aout 2006. Qualité de l'eau - Examens bactériologiques des eaux de piscines.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau – préparation, stockage et essais de performance des milieux de culture – Microbiologie des aliments pour animaux et des eaux.

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 : SLANETZ_FR_V10.

Date création : 01-2003

Date de révision : 01-2017

Motif de révision : Ajout référence bibliographique et correction Contrôle Qualité

Gélose de Slanetz et Bartley

Dénombrement des entérocoques

Lecture :

Croissance obtenue après 44 heures d'incubation à 36 °C (filtration sur membrane).

Enterococcus faecalis

Colonie caractéristique :
couleur rouge à marron
(réduction du TTC)

