



# Bouillon m-*E. coli*/Coliforme en ampoule, 2 ml

Numéro du produit : 6511

## Utilisation prévue

Le bouillon m-*E. coli*/Coliforme en ampoule (2 ml) est utilisé pour la détection des coliformes totaux et des *E. coli* dans les tests de l'eau en utilisant la méthode de filtration sur membrane en laboratoire. Il n'est pas destiné à être utilisé dans le diagnostic de maladies ou d'autres conditions chez l'humain.

## Résumé et explication du produit

Le bouillon m-*E. coli*/Coliforme en ampoule (2 ml) est un milieu prêt à l'emploi et préparé pour les tests de filtration sur membrane destinés à la détection des coliformes totaux et des *E. coli*. Cette méthode de test décrit un milieu de filtration sur membrane sensible et différentiel pour la détection et le dénombrement simultanés des coliformes totaux et des *E. coli* dans des échantillons d'eau en 24 heures ou moins.

Les coliformes totaux comprennent des espèces qui peuvent exister naturellement dans le sol, l'eau et la végétation, mais aussi prospérer dans les intestins des animaux à sang chaud. Ils sont souvent associés à des épidémies. Les *E. coli* représentent une espèce de coliforme, qui ne se propage généralement pas en dehors du tube digestif des humains et des autres animaux. Cette espèce peut ainsi être utilisée comme indicateur principal d'une défaillance du système et d'une contamination potentielle par des agents pathogènes et des coliformes fécaux.

## Principes de la procédure

L'hydrolysât enzymatique de tissu animal représente la source d'azote du bouillon m-*E. coli*/Coliforme. L'extrait de levure fournit des vitamines, et le D-Sorbitol est la source d'énergie en carbone. Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique du milieu, tandis que les phosphates de sodium sont utilisés en tant que tampons. Le tensioactif est l'agent sélectif pour inhiber les bactéries non coliformes et les organismes à Gram positif. Le mélange chromogène est transformé par les enzymes  $\beta$ -glucuronidase et  $\beta$ -galactosidase pour la détection simultanée des coliformes totaux et des *E. coli*. Les coliformes totaux produisent l'enzyme galactosidase qui donne des colonies roses à violacées. Les *E. coli* produisent de la glucuronidase qui hydrolyse le chromogène pour développer des colonies bleues.

## Composition moyenne par litre

Hydrolysât enzymatique de caséine	1,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate monosodique dihydraté	2,2 g
Phosphate disodique anhydre	2,7 g
Pyruvate de sodium	1,0 g
D-Sorbitol	1,0 g
L-Tryptophane	1,0 g
Tensioactif éthylxylate d'alcool secondaire	0,15 g
Mélange chromogène	0,65 g

\* La formule peut être ajustée et/ou complétée selon les besoins pour répondre aux spécifications de performance.



### Caractéristiques physiques

Aspect du milieu : clair, ambre clair, sans précipité  
pH à 25 °C : 6,80 ±0,2

### Procédure de test

#### Préparation

1. Assembler le collecteur ou le ballon de filtration qui alimentera la source de vide avec un bouchon en caoutchouc.
2. Stériliser correctement le collecteur, les bouchons en caoutchouc et les adaptateurs en plastique. Désinfecter les bouchons en caoutchouc et les adaptateurs en plastique en les faisant tremper dans 10 % d'eau de Javel pendant 10 à 15 minutes, puis rincer à l'eau stérile.
3. Fixer l'adaptateur de l'entonnoir au bouchon en caoutchouc en le faisant tourner avec précaution.
4. Fixer le filtre de NEOGEN sur l'adaptateur d'entonnoir en le faisant tourner également avec précaution.

#### Procédure de filtration

1. Retirer le couvercle de filtration et verser soigneusement l'échantillon à travers le filtre.
2. Appliquer le vide juste assez longtemps pour verser l'échantillon à travers le filtre (si un collecteur est utilisé, ouvrir une seule vanne à la fois).
3. Rincer les parois intérieures de l'entonnoir du filtre avec environ 20 ml de solution stérile tamponnée. Appliquer le vide juste assez longtemps pour verser la solution à travers le filtre, puis désactiver le vide. Remarque : cette étape est facultative si seule l'eau est testée.
4. Retirer brièvement le filtre et son adaptateur d'entonnoir du bouchon en caoutchouc pour libérer toute pression de vide restante, puis le fixer à nouveau sur le bouchon.
5. Ajouter le bouillon m-*E.coli*/Coliforme par le dessus du filtre. Ce faisant, veiller à ne pas toucher le filtre avec la pointe de l'ampoule.
6. Appliquer très brièvement un vide pour que les milieux ne s'accumulent pas sur le dessus du filtre et qu'ils soient visibles sous le filtre. (Remarque : les milieux ont été correctement versés à travers le filtre s'il y a une petite poche d'air autour du port inférieur. Le filtre doit être humide, sans être sursaturé ni sec.)
7. Retirer et jeter de manière appropriée l'entonnoir en plastique. Placer le couvercle du système de filtration sur l'ensemble filtre/base convertissant l'unité en boîte de Pétri pour l'incubation de l'échantillon.
8. Retirer le filtre de l'adaptateur de l'entonnoir et placer un bouchon sur le port inférieur ouvert (veiller à ne pas toucher le port inférieur du moniteur avec les mains ou des gants pour éviter une éventuelle contamination).
9. Placer la plaque de filtration dans l'incubateur à l'envers pour que le couvercle soit au fond, puis incubé à 36 ±2 °C. Lire et enregistrer les résultats après 21 – 24 heures.
10. Éliminer les matériaux du test conformément à toutes les réglementations locales, étatiques et fédérales applicables.



### Réponse attendue de la culture

De l'eau stérile a été ajoutée à des unités de filtration stériles et inoculée avec les cultures énumérées ci-dessous. L'inoculum a été filtré, puis le bouillon m-*E.coli*/Coliforme en ampoule a été ajouté, et le boîtier de filtration a été retiré. Les plaques ont été incubées en aérobie à 36 ±2 °C, puis leur croissance a été examinée après 21 – 24 heures. L'incubation est prolongée jusqu'à 24 heures si les réactions colorées sont retardées.

Micro-organisme	Inoculum approx. (UFC)	Résultats attendus	
		Récupération	Réaction
Milieux non inoculés	S. O.	Pas de croissance	S. O.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	~10 – 100	≥ 85 % de récupération	Colonies bleu moyen à foncé
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	~10 – 100	≥ 85 % de récupération	Colonies bleu moyen à foncé
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	~10 – 100	≥ 85 % de récupération	Colonies roses à rose violacé
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 43864	~10 – 100	≥ 85 % de récupération	Colonies roses à rose violacé
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	~1 000	Supprimé à inhibé	Colonies beiges à jaunes, où elles sont récupérées
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	~10 000	Inhibition complète	S. O.

### Résultats

Après l'incubation, les filtres doivent être observés pour la croissance des colonies bactériennes à la lumière ambiante. Les colonies formées par les *E. coli* apparaîtront de couleur bleu moyen à bleu foncé, et d'autres coliformes apparaîtront sous forme de colonies rose à rose violacé clair. Noter/ enregistrer les dénombrements comme suit :

#### Dénombrement des *E. coli*

Dénombrer toutes les colonies bleu moyen à foncé sur chaque plaque de m-*E.coli*/Coliforme sous une lumière normale/ambiante, puis enregistrer les résultats. Il s'agit du dénombrement des *E. coli*. Remarque : les résultats positifs qui se produisent en moins de 24 heures sont valides, mais les résultats ne peuvent pas être enregistrés en tant que négatifs avant la fin de la période d'incubation de 24 heures.

#### Dénombrement des coliformes totaux

Dénombrer tous les *E. coli* et autres coliformes sur chaque plaque de m-*E. coli*/Coliforme dans des conditions de lumière normale/ambiante, puis enregistrer les résultats. Il s'agit du dénombrement des coliformes totaux. Remarque : les résultats positifs qui se produisent en moins de 24 heures sont valides, mais les résultats ne peuvent pas être enregistrés en tant que négatifs avant la fin de la période d'incubation de 24 heures.

***E. coli*** = bleu moyen à foncé

**Coliformes** (autres que *E. coli*) = rose/rose violacé clair



### Stockage

Conserver le bouillon *m-E.coli*/Coliforme en ampoule (2 ml) à 2 – 8 °C à l'abri de la lumière.

### Péremption

Consulter la date de péremption imprimée sur le devant de l'emballage.

### Limites de la procédure

1. Analyser l'échantillon dès que possible après le prélèvement.
2. Les échantillons contenant des particules colloïdales ou en suspension peuvent obstruer le filtre à membrane, empêchant ainsi la filtration ou provoquant la propagation de colonies bactériennes, pouvant interférer avec l'identification des colonies.
3. Pour de meilleurs résultats lors du test de sirops ou de boissons (autres que l'eau), s'assurer de rincer l'unité du filtre avec du tampon PBS stérile (après avoir filtré l'échantillon de sirop ou de boisson) et filtrer le tampon.
4. Certaines espèces non ciblées peuvent développer une couleur rougeâtre si elles sont incubées au-delà de 24 heures ; cette couleur n'indique pas la présence d'un coliforme.
5. Les plaques de dénombrement présentent moins de 300 UFC. Si un échantillon présente une croissance élevée, les performances peuvent être affectées en raison de la disponibilité limitée des milieux et des composants sélectifs. L'échantillon doit être à nouveau testé avec une dilution.

### Emballage

<b>Bouillon <i>m-E. coli</i>/Coliforme, 2 ml</b>	<b>N° de code</b>	<b>6511</b>	<b>Boîte de 50</b>
Filtre « Blanc » de NEOGEN	N° de code	6550	Boîte de 50

### Références

**U. S. Environmental Protection Agency.** 2007. R9 Laboratory SOP1101. Membrane filtration coliform analysis.

**U. S. Environmental Protection Agency.** 1992. Manual for the certification of laboratories analyzing drinking water. EPA-814B-92-002. Office of Ground Water and Technical Support Division, U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH.

### Informations techniques

Contactez NEOGEN Corporation pour toute assistance technique ou toute question concernant les milieux en ampoule au +1 (517) 37 29 200 ou au +1 (800) 23 45 333, ou par fax au +1 (517) 37 22 006.

