



Bouillon m-TGE avec indicateur, 2 ml

Numéro du produit : 6516

Utilisation prévue

Le bouillon m-TGE avec indicateur en ampoule (2 ml) est utilisé pour la détermination des dénombrements bactériens 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-TGE avec indicateur en ampoule (2 ml) est un milieu prêt à l'emploi et préparé pour les tests de filtration sur membrane. Le bouillon m-TGE (pour *Tryptone Glucose Extract*) avec indicateur (2 ml) est un milieu nutritif non sélectif pour la détermination des dénombrements bactériens par la méthode de filtration sur membrane. Il a été initialement développé dans les années 1930 par Bower et Hucker pour une utilisation dans les produits laitiers. En 1948, l'American Public Health Association (APHA) a adopté la gélose à l'extrait de tryptone-glucose pour le test du lait et des produits laitiers. Un indicateur de colorant redox a été ajouté au m-TGE pour faciliter la détection visuelle des bactéries en développement.

Le dénombrement sur plaque des bactéries hétérotrophes, anciennement connu sous le nom de « dénombrement sur plaque standard », est utilisé pour dénombrer les bactéries non spécifiques dans l'eau. Actuellement, l'APHA spécifie la gélose à l'extrait de tryptone-glucose pour la procédure de numération des plaques hétérotrophes dans les tests d'eau en bouteille. Cette méthode peut être appliquée à l'analyse de l'eau potable selon les règles de l'EPA sur le traitement des eaux de surface (40 CFR 141.74) et de l'eau de réactif utilisée pour les tests de laboratoire. La méthode peut être utilisée pour surveiller les changements dans la qualité bactériologique de l'eau finie à travers un système de distribution, donnant ainsi une indication de l'efficacité de la chloration. Cette méthode est également répertoriée dans les méthodes standard pour l'eau et les eaux usées, la méthode 9215D, les méthodes microbiennes de l'EPA pour la surveillance de l'environnement, et le manuel de l'EPA pour la certification des laboratoires analysant l'eau potable.

Principes de la procédure

L'hydrolysât enzymatique de caséine et l'extrait de bœuf fournissent de l'azote, des minéraux, des vitamines et des acides aminés au bouillon m-TGE. Le dextrose fournit du carbone en tant que source d'énergie. L'indicateur est ajouté pour développer la couleur et fournir un contraste pour les colonies qui se développent sur un filtre blanc.

Composition moyenne par litre

Hydrolysât enzymatique de caséine	10 g
Extrait de bœuf	6 g
Dextrose	2 g
Indicateur	0,1 g

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

Caractéristiques physiques

Aspect du milieu :	clair, jaune à or
pH à 25 °C :	7,0 ±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 blanc 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-TGE avec indicateur à travers 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 35 ±2 °C. Lire et enregistrer les résultats après 24 – 48 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-TGE avec indicateur (2 ml) a été ajouté, et le boîtier de filtration a été retiré. Les plaques ont été incubées en aérobic à 35 ±2 °C, puis leur croissance a été examinée après 22 – 48 heures.

Micro-organisme	Inoculum approximatif. (UFC)	Résultats attendus
Milieux non inoculés	S. O.	Pas de croissance
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 9372	10 – 300	≥ 85 % de récupération
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 – 300	≥ 85 % de récupération
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	10 – 300	≥ 85 % de récupération
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	10 – 300	≥ 85 % de récupération



Résultats

Dénombrer toutes les colonies qui se développent à la surface de la membrane et enregistrer les résultats. La plupart des colonies développeront une coloration rose à rouge, bien que certaines soient jaunes à orange.

Stockage

Conserver le bouillon m-TGE avec indicateur (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. Étant donné que les bactéries présentes dans de l'eau en bouteille présentent une phase de latence prolongée lors de l'adaptation à la croissance dans le milieu m-TGE avec indicateur, une incubation prolongée au-delà de 48 heures peut être nécessaire.
3. Dénombrer uniquement les colonies qui se développent à la surface du filtre. Tout développement de couleur sous le filtre, y compris le tampon ou le port inférieur, doit être ignoré.
4. Vérifier les techniques de stérilisation du collecteur, des bouchons en caoutchouc et des adaptateurs en plastique si la couleur se développe sous le filtre, y compris le tampon, et devient un problème récurrent.
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

Bouillon m-TGE avec indicateur, 2 ml	N° de code 6516	Boîte de 50
Filtre « Blanc » de NEOGEN	N° de code 6550	Boîte de 50

Références

Slanetz, Bent, and Bartley. 1955. Public Health Rep. **70**:67.

American Public Health Association. 1948. Standard methods for the examination of dairy products, 9th ed. American Public Health Association, New York, N.Y

Eaton, A. D., L. S. Clesceri, and A. E. Greenberg (eds.). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Bordner, R., and J. Winter (eds.). 1978. Microbiological methods for monitoring the environment, water, wastes. EPA-600/8-78-017. Environmental Monitoring and Support Laboratory, Office of Research and Development, U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH.

U. S. Environmental Protection Agency. 2007. R9 Laboratory SO1108. Heterotrophic plate count for bacteria in water.

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.

Kim and Feng. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

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.

