

---

# BOUILLON DE ROTHE

---

## RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES ENTEROCOQUES

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

---

Le bouillon de Rothe est utilisé pour le dénombrement des entérocoques dans les eaux d'alimentation, les produits surgelés et les autres produits alimentaires par la méthode du nombre le plus probable.

### 2 HISTORIQUE

---

Ce bouillon à l'azide de sodium et au glucose est préparé suivant la formule de Rothe. Il a été recommandé par Malmann et Seligman pour la numération des streptocoques fécaux dans les eaux, les eaux résiduaires et les aliments. Malmann, Botwright et Churchill ont démontré l'action bactériostatique de l'azide de sodium sur la flore à Gram négatif, favorisant ainsi la croissance des entérocoques.

### 3 PRINCIPES

---

La forte nutritivité du milieu est due à la présence d'une forte proportion de polypeptone ainsi que de glucose.

Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.

Les phosphates agissent comme substances tampon.

L'azide de sodium inhibe la croissance des microorganismes à Gram négatif par son action bactériostatique et favorise la culture des streptocoques fécaux.

Après l'observation de cultures dans les tubes (test présomptif), il est nécessaire de pratiquer les confirmations en repiquant sur un bouillon de Litsky.

### 4 FORMULE-TYPE

---

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

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone ..... 20,0 g
- Glucose ..... 5,0 g
- Chlorure de sodium ..... 5,0 g
- Phosphate monopotassique ..... 2,7 g
- Phosphate dipotassique ..... 2,7 g
- Azide de sodium ..... 0,2 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 6,8 ± 0,2.

### 5 PREPARATION

---

#### Préparation du milieu à simple concentration :

- Mettre en solution 35,6 g de milieu déshydraté (BK060) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes 16\*160 mm, à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**  
35,6 g/L

✓ **Stérilisation :**  
15 min à 121 °C

## Préparation du milieu à double concentration :

- Mettre en suspension 71,2 g de milieu déshydraté (BK060) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes 20 x 200 mm, à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**  
71,2 g/L

✓ **Stérilisation :**  
15 min à 121 °C

## 6 MODE D'EMPLOI

- Transférer 10 mL de l'échantillon à analyser dans plusieurs tubes de bouillon à double concentration (selon la méthode NPP utilisée).
- Transférer 1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales dans chacun des tubes à simple concentration nécessaires.
- Incuber tous les tubes à 37 ± 1 °C pendant 24 et 48 heures.

✓ **Ensemencement :**  
-- 10 mL double concentration  
1 mL simple concentration

✓ **Incubation :**  
24 h et 48 h à 37 °C

## 7 LECTURE

Les tubes positifs présentent un trouble.  
Repiquer les tubes positifs sur bouillon de Litsky (BK061).

## 8 CONTROLE QUALITE

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

**Milieu préparé :** solution ambrée, limpide.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C, puis subculture sur bouillon de Litsky

| Microorganismes                             |             | Croissance |
|---|-------------|------------|
| <sup>(1)</sup> <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC® 33186 | Positive   |
| + <i>Escherichia coli</i>                   | WDCM 00013  |            |
| + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>             | WDCM 00024  |            |
| <sup>(1)</sup> <i>Enterococcus faecalis</i> | WDCM 00176  | Positive   |
| + <i>Salmonella</i> Enteritidis             | WDCM 00030  |            |
| + <i>Staphylococcus aureus</i>              | WDCM 00034  |            |
| <i>Escherichia coli</i>                     | WDCM 00013  | Inhibée    |
| <i>Bacillus subtilis</i>                    | WDCM 00003  | Inhibée    |

<sup>(1)</sup> inoculum <10<sup>2</sup> microorganismes.

## 9 CONSERVATION

**Milieu déshydraté :** 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

**Milieus préparés en tubes (\*) :** 180 jours à 2-8 °C.

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

## 10 PRESENTATION

**Milieu déshydraté :**

Flacon de 500 g ..... BK060HA

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Rothe. Illinois State Health Department.

Mallmann, W.L., and Seligmann, E.B. 1950. A comparative study of media for the detection of streptococci in water and sewage. Ann. J. Pub. Health, 4Q: 286.

J.O du 19 janvier 1980. Critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale. Méthodes générales d'analyse bactériologique. (arrêté du 21 décembre 1979 modifié). Dénombrement des streptocoques fécaux.

Rodier, J. 1984. L'analyse de l'eau. Dénombrement des streptocoques fécaux présumés (Méthode par ensemencement en milieux liquides). Dunod 7ème Ed., 825-828.

## 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 : ROTHE\_FR\_V5.  
Date création : 01-2001  
Date de révision : 03-2016  
Motif de révision : Révision générale.