

BOUILLON LAURYSULFATE-TRYPTOSE

ENRICHISSEMENT SELECTIF DES *ESCHERICHIA COLI* ET AUTRES COLIFORMES

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon laurylsulfate-Tryptose est un milieu d'enrichissement sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli* et des coliformes dans les eaux et les produits alimentaires.

Le milieu a été formulé par Mallmann et Darby qui ont montré, en 1941, que parmi un grand nombre d'agents mouillants, le laurylsulfate de sodium s'avérait être le meilleur agent sélectif ne présentant pas d'effet inhibiteur vis-à-vis des coliformes. Lévine a ensuite démontré que ce milieu réduisait le nombre de faux-positifs en inhibant les cultures de bactéries sporulées gazogènes.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF T90-413 et NF ISO 7251.

2 PRINCIPES

Le laurylsulfate de sodium inhibe largement le développement de la flore secondaire contaminante.

En raison de son excellent pouvoir nutritif, ainsi que de la présence de tampons phosphates, le bouillon laurylsulfate-Tryptose permet aux coliformes de se développer rapidement et de produire un dégagement gazeux important par fermentation du lactose, même avec de faibles inoculums.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu (simple concentration) :

- Tryptose	20,00 g
- Lactose.....	5,00 g
- Phosphate dipotassique.....	2,75 g
- Phosphate monopotassique.....	2,75 g
- Chlorure de sodium.....	5,00 g
- Laurylsulfate de sodium	0,10 g

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

4 PREPARATION

Bouillon simple concentration

- Mettre en solution 35,6 g de milieu déshydraté (BK010) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée, pour le bouillon simple concentration.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes 16*160 mm à raison de 10 mL par tube et ajouter une cloche de Durham dans chacun d'eux.

✓ **Reconstitution :**
35,6 g/L
✓ **Stérilisation :**
15 min à 121°C

Bouillon double concentration

- Mettre en solution 71,2 g de milieu déshydraté (BK010) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée, pour le bouillon simple concentration.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes 20*200 mm à raison de 10 mL par tube et ajouter une cloche de Durham dans chacun d'eux.

✓ **Reconstitution :**
71,2 g/L
✓ **Stérilisation :**
15 min à 121°C

- Stériliser tous les tubes à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.
- Refroidir à température ambiante.
- Après refroidissement, les cloches de Durham ne doivent pas contenir d'air.

Note :

Pour le dénombrement des *Escherichia coli* présumés dans le lait et les produits laitiers (NF ISO 11866-1), le bouillon doit être additionné de

- 0.1 g/L de MUG (4- méthyl-umbelliféryl-β-D glucuronide, supplément BS02408) et 1,0 g/L de tryptophane, à simple concentration.

- 0.2 g/L de MUG et 2,0 g/L de tryptophane, à double concentration.

5 MODE D'EMPLOI

- Ensemencer les tubes de bouillon double concentration préparés ou prêts-à-l'emploi (BM098) avec 10 mL d'inoculum.
- Ensemencer les tubes de bouillon simple concentration préparés ou prêts-à-l'emploi (BM097) avec 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales successives.
- Incuber pendant 24 ± 2 heures à 30 ± 1 °C ou à 37 ± 1 °C, suivant la norme à respecter ou les accords entre les parties. Si les tubes ne peuvent être considérés comme positifs après 24 heures, poursuivre l'incubation jusqu'à 48 heures.

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

✓ **Incubation :**
 24 à 48 h à 30 ou 37 °C

6 LECTURE

La présence de *Escherichia coli* ou de coliformes se caractérise par la fermentation du lactose et se traduit par l'apparition de gaz dans les cloches de Durham en moins de 48 heures.

Repiquer chaque tube présomptivement positif sur les milieux de confirmation adéquats.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-cassé, fluide et homogène.

Milieux préparés : solution ambre, limpide.

Réponse culturale après 24 à 48 heures d'incubation à 30 °C (NF EN ISO 11133, FD T90-461) :

Microorganismes		Croissance	Production de gaz (cloche Durham)
⁽¹⁾ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Bonne, score 2	≥ 5 mm
⁽¹⁾ <i>Citrobacter freundii</i>	WDCM 00006	Bonne, score 2	≥ 5 mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Partiellement inhibée, score 0-1	Négative
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Partiellement inhibée, score 0-1	Négative

(1) inoculum ≤ 10² microorganismes.

Réponse culturale après 24-48 heures d'incubation à 37 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance	Production de gaz (cloche Durham)
⁽¹⁾ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Bonne, score 2	≥ 5 mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Partiellement inhibée, score 0-1	Négative

(1) inoculum ≤ 10² microorganismes

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieus prêt-à-l'emploi (simple et double concentration) : 15-25 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes

Milieu préparé en tubes (*) : 180 jours à 15-25 °C.

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

La réfrigération des tubes est déconseillée car elle peut entraîner la formation de troubles et de précipités.

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK010HA

Milieu prêt-à-l'emploi en tubes avec cloches de Durham :

Coffret de 50 tubes de 10 mL (simple concentration)..... BM09708

Coffret de 50 tubes de 10 mL (double concentration) BM09808

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mallmann, W.L., and Daebly, C.W.. 1941. Uses of a lauryl sulphate tryptose broth for the detection of coliform organisms. American Journal of Public Health, **31** : 127-134.

Hajna, A.A., and Perry, C.A.. 1943. Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of the coliform group and for fecal streptococci. American Journal of Public Health, **33** : 550-556.

NF T90-413. Octobre 1985. Essais des eaux. Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants. Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP).

NF ISO 7251. Juillet 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés. Technique du nombre le plus probable.

NF ISO 11866-1. Septembre 2006. Lait et produits laitiers. Dénombrement d'*Escherichia coli* présumés. Partie 1 : Technique du nombre le plus probable avec utilisation de 4-méthylumbelliféryl-β-D-glucuronide (MUG).

NF ISO 4831. Octobre 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des coliformes. Technique du nombre le plus probable.

11 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 : BOUILLON LAURYSULFATE TRYPTOSE_FR_V7.

Date création : 01-2003

Date de révision : 07-2016

Motif de révision : Révision générale.