

# BOUILLON EC

## DETECTION ET DENOMBREMENT DES *ESCHERICHIA COLI* PRESUMES

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon EC (abréviation pour *Escherichia coli*) est un milieu sélectif utilisé pour la confirmation des *Escherichia coli* dans les eaux, le lait, les autres produits alimentaires, et plus particulièrement dans les coquillages vivants. La formule-type du bouillon répond à la composition définie dans la méthode normalisée de dénombrement des *Escherichia coli* présumés, en méthode NPP (NF ISO 7251).

### 2 HISTORIQUE

En 1943, le milieu a été formulé par Hajna, Perry et Darby pour la détection des coliformes et plus particulièrement d'*Escherichia coli* dans les produits alimentaires. Ces auteurs avaient analysé les résultats obtenus dans 11 laboratoires ayant contrôlé une grande variété de prélèvements d'eaux, de laits, de coquillages. Les résultats obtenus avaient montré la très grande spécificité du milieu vis-à-vis des coliformes. En 1964, Fishbein et Surkiewicz ont utilisé le bouillon EC pour la confirmation des *Escherichia coli* dans des produits surgelés et des « nutmeats ». Ils trouvèrent que ce test était optimal lorsque l'incubation était limitée à une durée de 24 heures à 45,5 °C.

### 3 PRINCIPES

Le milieu correspond à du bouillon lactosé tamponné, additionné de sels biliaires dont l'action est d'inhiber le développement des bactéries sporulées et des entérocoques, tout en favorisant la croissance des *Escherichia coli*.

Le développement des coliformes et notamment des *Escherichia coli* se manifeste par l'apparition d'une turbidité associée à une production de gaz dans la cloche de Durham par suite de la fermentation du lactose.

### 4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ..... 20,00 g
- Lactose..... 5,00 g
- Sels biliaires n°3..... 1,50 g
- Phosphate dipotassique..... 4,00 g
- Phosphate monopotassique..... 1,50 g
- Chlorure de sodium ..... 5,00 g

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

### 5 PREPARATION

- Mettre en solution 37,0 g de milieu déshydraté (BK162) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir à raison de 10 mL par tube contenant une cloche de Durham.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Après refroidissement, retirer l'air présent dans les cloches de Durham.
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**  
37,0 g/L

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

## 6 MODE D'EMPLOI

- A partir de chaque tube de milieu d'enrichissement sélectif (Bouillon au laurylsulfate, BK010) présentant une opacité, un trouble ou un dégagement gazeux, ensemercer un tube de bouillon EC avec une öse.
- Incuber dans un bain d'eau thermostaté pendant 24 heures à  $44 \pm 1$  °C. En absence de dégagement gazeux, prolonger l'incubation jusqu'à 48 heures.

✓ **Ensemencement :**  
Une öse d'inoculum

✓ **Incubation :**  
24 h à 48 h à 44 °C

## 7 LECTURE

Observer la production de gaz dans les cloches de Durham.

A partir de chaque tube de bouillon EC présentant un dégagement gazeux, confirmer également par une recherche de la production d'indole en eau peptonée exempte d'indole (BK084).

Considérer comme contaminé en *Escherichia coli* tout tube présentant un dégagement gazeux en bouillon EC et une production d'indole positive.

## 8 CONTROLE QUALITE

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

**Milieu préparé :** solution ambre claire, limpide.

Réponse culturale après 24 et 48 heures d'incubation à 44 °C, méthode qualitative (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Bonne, score 2
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Bonne, score 2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	Inhibée

## 9 CONSERVATION

**Milieu déshydraté :** 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

**Milieu préparé en tubes (\*) :** 180 jours à 2-25 °C.

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

## 10 PRESENTATION

**Milieu déshydraté :**

Flacon de 500 g .....BK162HA

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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. Am. J. Public Health, 33: 550-556.

Fishbein M.A, and Surkiewicz B.F.. 1964. Comparison of the recovery of *Escherichia coli* from frozen food and nutmeats by confirmatory incubation in EC-medium at 44.5 and 45.5°C. Appl. Microb., **12**: 127-131.

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.

## 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 : BOUILLON EC\_FR\_V6.

Date création : 09-2000

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.