

BOUILLON LACTOSE AU BCP

RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES COLIFORMES

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCP) est utilisé comme milieu d'enrichissement pour le dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants dans les eaux, selon la norme NF T90-413 (méthode NPP).

2 PRINCIPES

Le milieu est utilisé à simple et à double concentration.

La Tryptone et l'extrait de viande apportent les éléments nutritifs azotés nécessaires à la croissance des bactéries.

La fermentation du lactose est mise en évidence par l'acidification du milieu qui provoque le virage au jaune de l'indicateur pH (pourpre de bromocrésol), ainsi que par la production de gaz dans les cloches de Durham.

Pour confirmer la présence de coliformes, il est nécessaire de pratiquer des subcultures sur les milieux confirmatifs appropriés.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	5,0 g
- Extrait de viande	3,0 g
- Lactose.....	5,0 g
- Pourpre de bromocrésol.....	25,0 mg

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 6,7 ± 0,2.

4 PREPARATION

Préparation du milieu simple concentration :

- Mettre en solution 13,0 g de milieu déshydraté (BK119) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes 16 x 160 mm contenant une cloche de Durham, à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**
13,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Préparation du milieu double concentration :

- Mettre en suspension 26,0 g de milieu déshydraté (BK119) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes 20 x 200 mm contenant une cloche de Durham, à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**
26,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

5 MODE D'EMPLOI

- Ensemencer 3 tubes de bouillon double concentration avec 10 mL de la dilution primaire.
- Ensemencer 3 tubes de bouillon simple concentration avec 1 mL de la dilution primaire et des dilutions décimales suivantes.
- Incuber à 30 ± 1 °C pendant 24 et 48 heures.

✓ **Ensemencement : NPP**
10 mL en double concentration
1 mL en simple concentration

✓ **Incubation :**
24 et 48 h à 30 ± 1 °C

NOTE

Veiller à ce que les cloches de Durham ne contiennent plus d'air avant incubation.

6 LECTURE

La fermentation du lactose se traduit par l'apparition d'un trouble résultant du développement bactérien, ainsi que par un dégagement gazeux dans les cloches de Durham.

Repiquer les tubes présomptivement positifs sur le bouillon lactosé bilié au vert brillant (BM011).

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : solution violette, limpide.

Réponse culturale après 24-48 heures d'incubation à 30 °C, inoculum ≤ 10² microorganismes (FD T90-461)

Microorganismes		Croissance	Production de gaz (cloche Durham)
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Bonne, score 2	≥ 5 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00035	Partiellement inhibée, score 0-1	Négative

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C. La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en tubes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

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

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK119HA

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rodier, J. 1984. L'analyse de l'eau. Dénombrement des coliformes, coliformes fécaux, et *Escherichia coli* présumés. Dunod 7ème Ed., 793-798.

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).

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 LACTOSE BCP_FR_V7.

Date création : 04-2001

Date de révision : 09-2016

Motif de révision : Révision générale.