

BOUILLON D'ENRICHISSEMENT POUR ENTEROBACTERIES (EE SELON MOSSEL)

ENRICHISSEMENT SELECTIF DES ENTEROBACTERIES

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon EE, bouillon tamponné à la bile, au vert brillant et au glucose, proposé par Mossel, est préconisé dans les Pharmacopées harmonisées pour la recherche des bactéries gram négatives résistantes aux sels biliaires. La formule-type répond à la composition définie dans la Pharmacopée européenne.

Il peut être utilisé aussi comme un milieu d'enrichissement sélectif pour le dénombrement par la méthode NPP des *Enterobacteriaceae* dans les produits alimentaires, les produits d'alimentation animale et les produits de l'environnement.

2 HISTORIQUE

A l'origine, la formule du milieu a été développée par Mossel, Visser et Cornelissen en 1963. Le glucose favorise la culture des entérobactéries et notamment des *Shigella* et des *Salmonella* aussi bien lactose-négatif que lactose-positif. La technique d'enrichissement en milieu liquide, qui met en évidence une croissance bactérienne plutôt qu'une production de gaz, permet de tenir compte des entérobactéries qui ne produiraient pas systématiquement de gaz sur d'autres milieux sélectifs liquides.

3 PRINCIPES

La présence simultanée de bile de bœuf et de vert brillant provoque l'inhibition de la presque totalité des microorganismes à Gram positif et des bactéries à Gram négatif autres que les entérobactéries.

La peptone pancréatique de gélatine et le glucose constituent respectivement la source azotée et la source énergétique du développement des *Enterobacteriaceae*.

Les phosphates permettent de tamponner le milieu de façon à augmenter sa capacité de récupération.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine	10,00 g
- Bile de bœuf bactériologique	20,00 g
- Glucose	5,00 g
- Phosphate disodique anhydre (*).....	6,45 g
- Phosphate monopotassique.....	2,00 g
- Vert brillant	15,0 mg

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

(*) : 6.45 g de phosphate disodique anhydre correspondent à 8 g de phosphate disodique dihydraté.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 43,5 g de milieu déshydraté (BK127) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes, à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**
43,5 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

6 MODE D'EMPLOI

Recherche des bactéries gram-négatives résistantes aux sels biliaires (selon la Pharmacopée)

- Inoculer 1 mL de la dilution primaire dans 10 mL de bouillon.
- Incuber à 30-35 °C pendant 24-48 heures.

✓ **Ensemencement :**
1 mL / tube

✓ **Incubation :**
24-48 h à 30-35°C

Détection ou dénombrement des entérobactéries

- Transférer 1 mL des bouillons d'enrichissement dans chaque tube de bouillon ainsi préparé.
- Incuber pendant 24 ± 2 heures à 37 °C.

✓ **Ensemencement :** NPP
1 mL / tube

✓ **Incubation :**
24 h à 37°C

7 LECTURE

Observer la croissance bactérienne.

Repiquer tous les tubes sur gélose VRBG (BK011, BM075), au moyen d'une anse bouclée. Si les boîtes présentent des colonies caractéristiques, réaliser les tests de confirmation préconisés.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige à verdâtre, fluide et homogène.

Milieu préparé : solution verte, limpide.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 30-35 °C, inoculum < 100 microorganismes :

Microorganismes	Croissance
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	Positive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WDCM 00026	Positive

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 30-35 °C, inoculum > 100 microorganismes :

Microorganismes	Croissance
<i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00032	Inhibée

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en tubes (*) : 90 jours à 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK127HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mossel, D.A.A., Visser, M., and Cornelissen, A.M.R. 1963. The Examination of Foods for *Enterobacteriaceae* using a Test of the type Generally Adopted for the Detection of *Salmonellae*. Jour. of Appl. Bact., 24: 444-452.

Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés.

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 EE_FR_V7.
Date création : 06-2001
Date de révision : 03-2023
Motif de révision : Revision générale