
COMPASS[®] ENTEROCOCCUS AGAR

DENOMBREMENT DES ENTEROCOQUES

1 DOMAINE D'UTILISATION

COMPASS[®] *Enterococcus* Agar est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des entérocoques dans les produits alimentaires et les eaux.

2 HISTORIQUE

Les entérocoques sont utilisés comme indicateurs de contamination fécale, et il a été prouvé que la plupart de ceux-ci produisent une β -D glucosidase. La majorité des milieux fréquemment utilisés jusqu'alors contiennent de l'esculine (6-7 dihydroycoumarine-6-glucoside) qui est hydrolysée par la β -D glucosidase pour donner naissance à deux composés : l'esculétine et le glucose. L'esculétine produit un composé brun noir en présence des ions ferriques contenus dans ces milieux, entraînant une réaction positive avec les entérocoques, mais aussi avec d'autres microorganismes de la flore secondaire non recherchée. En effet, un certain nombre de germes contaminants peuvent conduire à un taux de faux-positifs relativement élevé, nécessitant de ce fait un grand nombre de tests confirmatifs pour toutes les colonies d'aspect caractéristique.

L'utilisation des substrats chromogéniques et fluorogéniques pour la détection de l'activité glucosidique, afin de mettre en évidence les entérocoques, a été étudiée par de nombreux auteurs tels que Dufour en 1980, Littel et Hartman en 1983, Hernandez *et al.* en 1993. L'association entre le X- β -glucoside et le mélange inhibiteur de la formulation de COMPASS[®] *Enterococcus* Agar permet d'obtenir le résultat directement par comptage des colonies caractéristiques, après seulement 24 heures d'incubation, sans confirmation.

3 PRINCIPES

Les peptones, l'extrait de levure et le Tween 80 stimulent la croissance des entérocoques.

L'extrait de levure est une source du complexe vitaminique B.

Le chlorure de sodium maintient la pression osmotique.

Le choix de la température d'incubation fixée à 44 °C, associée au mélange inhibiteur de la formule, permet d'inhiber la microflore de contamination.

Le X- β -glucoside assure la révélation chromogénique de l'activité de la β -glucosidase des entérocoques. Ceux-ci présentent des colonies bleues après hydrolyse du substrat (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucoside).

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptones	27,5 g
- Extrait autolytique de levure.....	5,0 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Tween 80.....	1,0 g
- Mélange inhibiteur.....	0,3 g
- X- β -glucoside	0,1 g
- Agar agar bactériologique.....	14,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,5 \pm 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 52,9 g de milieu déshydraté (BK183) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Pour une utilisation en surface ou en filtration sur membranes, couler en boîtes de Petri et laisser solidifier sur une surface plane.

✓ **Reconstitution :**
52,9 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier :

- Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou bien le milieu prêt-à-liquéfier (BM116) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliqufaction totale.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

6 MODE D'EMPLOI

Microbiologie des aliments

- Transférer 1 mL de la suspension et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber à (44 ± 1) °C pendant (24 ± 2) heures.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
24 ± 2 h à 44 ± 1 °C

Essais des eaux

- Filtrer stérilement sur membrane un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes ainsi préparées ou du milieu pré-coulé (BM157) ramené préalablement à température ambiante, déposer la membrane en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à (44 ± 1) °C pendant (24 ± 2) heures.

7 LECTURE

Les entérocoques se caractérisent par des colonies bleues à bleu-vert.
Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanchâtre, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 44 °C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	$P_R \geq 50 \%$	Colonies bleues
<i>Enterococcus faecium</i>	WDCM 00010	$P_R \geq 50 \%$	Colonies bleues
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons : 2-8 °C.

Milieu pré-coulé en boîtes : 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en tubes ou en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Milieu préparé en boîtes 55 mm (*) : 30 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 BK183HA

Milieu prêt-à-liquéfier :

Pack de 10 flacons de 100 mL BM11608

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 55 mm) :

Coffret de 20 boîtes BM15708

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Microbiology, Washington, D.C., USA. Abstr. Q-69 : 205.

Littel, K.J., and Hartmann P.A.. 1983. Fluorogenic selective and differential medium for isolation of fecal streptococci. Applied and Environmental Microbiology, **45(2)** : 622-627.

Hernandez, J.F., Pourcher, A.M., Delattre, J.M., Oger, C., and Loeuillard J.L.. 1993. MPN Miniaturized procedure for the enumeration of faecal enterococci in fresh and marine waters, The must procedure. Water Research, **27** : 597-606.

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 : COMPASS ENTEROCOCCUS_FR_7.

Date création : 05-2005

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.

ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

COMPASS[®] *Enterococcus* Agar

Dénombrement des *Enterococcus* spp.

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 44 °C (ensemencement en profondeur).

Enterococcus faecalis
Colonie caractéristique :
couleur bleue
(hydrolyse du X-β-D-glucoside)

