

Principe

Milieu pour la détection des coliformes par filtration membranaire dans les analyses d'eau selon la norme ISO 9308-1: 2000.

Formule * en g/L

Peptone de viande.....	10,000
Extrait de viande.....	5,000
Lactose	20,000
Extrait de levure.....	6,000
Bleu de bromothymol	0,050
Tergitol® 7.....	0,100
Agar.....	15,000

pH final 7,2 ±0,1 à 25 °C

*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

Préparation

Suspendre 56,2 g dans 1 L d'eau distillée et porter à ébullition. Répartir dans des récipients appropriés et stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50 ° C. Ajouter 2-3 mL / L de chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium (TTC) aqueux stérile à 1% filtré (Art. No DSHB3074) et verser les plaques. Ne réchauffez pas.

Description

Ce milieu est formulé pour l'identification présomptive des coliformes dans l'eau potable, par filtration membranaire selon ISO 9308-1: 2000. En raison de l'instabilité du triphényltétrazolium, il est fourni dans un récipient séparé, stérilisé et prêt à l'emploi (Art. No. DSHB3074). Les assiettes coulées peuvent être conservées au réfrigérateur jusqu'à 8 jours sans perdre leur efficacité. Ils ne doivent pas être utilisés si des signes de déshydratation ou de dessèchement apparaissent.

Utilisation

Lors de l'utilisation de la technique du filtre à membrane pour l'identification présomptive des coliformes dans l'eau, il convient de garder à l'esprit que le volume minimum à filtrer dépend du type d'eau à tester. Si nécessaire, diluer avec un tampon phosphate stérile afin d'obtenir le nombre de colonies sur la membrane approprié pour le comptage.

Pour chaque échantillon d'eau, deux volumes doivent être filtrés sur deux membranes différentes et incubés sur gélose Tergitol® 7 à 35 ° C et 44 ° C respectivement.

Après 48 heures, les colonies typiques ont l'apparence suivante:

- *Escherichia coli*, *Citrobacter* spp.: jaune avec un noyau orange centré sous le filtre à membrane (MF).
- *Klebsiella* spp.: brique rouge ou jaune sans noyau. Le support sous MF est jaune.
- *Enterobacter* spp.: jaune foncé ou rouge brique avec un noyau orange. Le milieu est également jaune.
- Non fermenteurs de lactose: colonies violettes ou indigo. Le milieu vire au bleu.

La plupart des coliformes ne peuvent pas pousser sur ce milieu lorsqu'ils sont incubés à 44 ° C, sauf *E. coli* qui forme une colonie d'aspect caractéristique.

Les résultats sont toujours exprimés par échantillon de 100 ml, y compris toutes les dilutions appliquées. L'estimation est faite en prenant des colonies typiques qui ont poussé à 35 ° C sous forme de coliformes fécaux, ainsi que celles cultivées à 44 ° C sous forme d'*E. Coli*. Néanmoins, conformément à la législation et malgré la sélectivité du milieu, les résultats ne peuvent être considérés que comme présumés et toutes les colonies de coliformes doivent être confirmées en suivant les critères ci-dessous:

Aspect typique dans la gélose EMB ou la base de gélose Endo et réactions caractéristiques dans la gélose Kligler fer.

Pour la confirmation de la présence d'*E. Coli* fécale, les caractéristiques suivantes sont utilisées pour la vérification: un fermenteur motile, bacille Gram négatif et lactose avec production d'acide et de gaz, qui donne des résultats négatifs au test de citrate et une production d'indole positive.

Contrôle qualité

Température d'incubation: 36°C ±2,0

Temps d'incubation: 21 ±3h

Inoculum: Gamme d'utilisation 100 ± 20 UFC. min. 50 UFC (productivité) / 10⁴-10⁵ UFC (sélectivité), ≥10³ UFC (spécificité), selon l' ISO 11133: 2014 / Amd 1: 2018.

Micro-organismes

Escherichia coli ATCC® 8739

Enterobacter aerogenes ATCC® 13048

Escherichia coli ATCC® 25922

Enterococcus faecalis ATCC® 19433

Citrobacter freundii ATCC® 43864

Pseudomonas aeruginosa ATCC® 9027

E. coli NCTC® 13167

Croissance

Productivité > 0.50

Productivité > 0.50

Productivité > 0.50

Inhibition totale

Productivité > 0.50

Bonne (Spécificité)

Productivité > 0.50

Remarques

Colonies orange-jaune sous MF

Colonies orange-jaune sous MF

Colonies orange-jaune sous MF

Sélectivité

Colonies orange-jaune sous MF

Colonies rouges sombres, bleu center

Colonies orange-jaune sous MF

Références

- ATLAS, R.M., L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- CHAPMAN G.H. (1951) A culture medium for detecting and confirming E. coli in ten hours. Am. J. Publ. Hlth 41:1381-1386.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd ed. APHA. Washington.
- GUINEA, SANCHO, PARES (1979) Análisis Microbiológico de Aguas. Ed. Omega. Barcelona.
- ISO 9308-1:2000 Standard. Water Quality - Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration method.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- SPECK, M (Ed.) (1982) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2nd ed. APHA. Washington.

Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).