

Principe

Milieu sélectif et différentiel solide utilisé pour l'isolement et l'identification des *Salmonella* et des coliformes selon la méthode harmonisée de la pharmacopée et la norme ISO 21150.

Formule * en g/L

Hydrolysate pancréatique de gélatine	17.000
Peptone de viande	1.500
Peptone de caséine.....	1.500
Lactose monohydraté.....	10.000
Sels biliaires	1.500
Chlorure de sodium	5.000
Rouge neutre	0.030
Cristal violet	0.001
Agar	15.000

pH final 7.1 ±0.2 à 25 °C

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

Préparation

Suspendre 51,5 g de poudre dans 1 L d'eau distillée. Porter à ébullition et stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes.

Description

Au début du siècle dernier, MacConkey a fait la formulation originale et a inclus la bile de bœuf comme inhibiteur des bactéries Gram positives et du tournesol comme indicateur de la production d'acide à partir du sucre lactose. Plus récemment, le tournesol a été remplacé par un indicateur rouge phénol facilitant les interprétations. Les progrès dans la compréhension de la physiologie bactérienne ont permis d'adapter le milieu pour faciliter la détection des coliformes. Les deux modifications les plus importantes de la formulation originale sont les suivantes:

- La substitution de la bile de bœuf par des sels biliaires purifiés qui améliore la sélectivité et évite la turbidité inhérente, qui est due à la composition en graisse de la bile. L'efficacité de l'inhibition due aux sels biliaires est variable et dépend de la concentration relative de cholate et de taurocholate.
- L'inclusion d'inhibiteurs supplémentaires tels que le cristal violet et / ou le vert brillant. Une formulation populaire en Amérique, mais pas en Europe où une plus faible sélectivité est préférée.
- Les bactéries lactose positives cultivées sur ce milieu forment des colonies rouges en raison de la production d'acide résultant de la fermentation du lactose et ainsi les colonies d'*Escherichia coli* peuvent être facilement distinguées car elles forment également une petite zone de précipitation de sels biliaires autour d'elles.

Certains entérocoques peuvent également se développer, mais ils sont faciles à distinguer des coliformes, car ils forment des colonies plus petites et n'ont pas de zone de précipitation.

Utilisation

Préparez 10 dilutions en série de l'échantillon, prélevez des aliquotes de 1 ml de chaque dilution (en double) et placez-les dans des boîtes de Pétri stériles. Versez 15 ml de milieu fondu à 45 ° C dans chaque plaque et mélangez soigneusement. Après solidification, une seconde couche de 5 ml supplémentaires de milieu stérile est versée dans chaque plaque pour sceller la surface et faciliter le dénombrement des colonies.

Pour le dénombrement, après une incubation de 24 heures à 35 ° C, sélectionner des plaques avec 30 à 150 colonies. Les colonies caractéristiques doivent être confirmées comme coliformes par production de gaz à partir de lactose dans une culture en bouillon.

Contrôle qualité

Température d'incubation: 30-35 °C

Tempés d'incubation: 18-72 h

Inoculum: Gamme d'utilisation 100 ± 20 UFC. min. 50 UFC (productivité) / 10⁴-10⁶ UFC (sélectivité), selon Ph. Eur. et ISO 11133: 2014 / Amd 1: 2018.

Micro-organismes

Staphylococcus aureus ATCC® 6538
Enterococcus faecalis ATCC® 29212
Escherichia coli ATCC® 8739
Escherichia coli ATCC® 25922
Salmonella typhimurium ATCC® 14028
Salmonella abony NCTC® 6017
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 9027

Croissance

Inhibée
 Inhibée
 Productivité > 0.50
 Productivité > 0.50
 Productivité > 0.50
 Productivité > 0.50
 Bonne

Remarques

Sélectivité
 Sélectivité
 Colonies violet sombre avec zones précipitées
 Colonies violet sombre avec zones précipitées
 Colonies incolores sans précipité
 Colonies incolores sans précipité
 Colonies incolores sans précipité

Références

- ATLAS, R.M., L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- CLESCERI, L.S., A.E. GEENBERG & A.D. EATON (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA-AWWA-WEF. Washington. DC. USA.
- DIN 38411-6 (1991) Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K); Nachweis von Escherichia coli und coliformen Keimen (K6)
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 10.0 (2020) 10th ed. § 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. EDQM. Council of Europe. Strasbourg.
- HITCHINS, A.D., P. FENG, W.D. WATKINS, S.R. RIPEY & C.A. CHANDLER (1998) E. coli and coliform bacteria. Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. AOAC International. Gaithersburg. MD. USA.
- HORWITZ, W. (2000) Official Methods of Analysis. AOAC Intl. Gaithersburg. MD. USA.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture - Amendement 1.
- ISO 21150: 2015 Standard. Cosmétiques - Détection de Escherichia Coli.
- MacCONKEY, A.T. (1905) Lactose-fermenting Bacteria in faeces. J. Hyg 5:333.
- MURRAY, P.R., E.J. BARON, M.A. PFALLER, F.C. TENOVER, & R.H. YOLKEN (Eds) (1995) Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. A.S.M. Washington. DC. USA.
- RAPPAPORT, F. & E. HENING (1952) Media for the isolation and differentiation of pathogenic E. coli (serotypes O111 and O55) J. Clin. Pathology 5:361-362.
- USP 33 - NF 28 (2011) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. USP Corp. Inc. Rockville. MD. USA.
- VARNAM, A.H. & M.G. EVANS (1991) Foodborne pathogens. Manson Publishing Ltd. London. UK.
- WHO (1963) International Standards for Drinking Waters. 7th ed. Churchill Ltd. London.

Conservation

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