

Egalement nommé

KIA; Milieu Kligler-Hajna, Gélose Kligler, Gélose lactosée et glucosée au citrate de fer ammoniacal selon Kligler

Principe

Milieu différentiel solide pour l'identification primaire des entérobactéries basée sur la fermentation de deux sucres et la production de sulfure d'hydrogène selon la norme ISO.

Formule * en g/L

Extrait de viande.....	3.00		
Extrait de levure.....	3.00		
Peptone.....	20.00	Ammonium ferrous citrate.....	0.50
Lactose.....	10.00	Sodium tiosulfate.....	0.50
Chlorure de sodium.....	5.00	Rouge phénol.....	0.03
Dextrose.....	1.00	Agar.....	15.00

pH final 7.4 ±0.2 à 25 °C

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

Préparation

Ajouter 58 g de poudre à 1 L d'eau distillée et porter à ébullition. Répartir dans des tubes et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Laissez-le se solidifier avec une pente courte et un gros culot.

Description

La gélose Kligler est un milieu différentiel qui possède toutes les caractéristiques de la gélose Russell 2-Sugar et du milieu d'acétate de plomb pour la détection de H₂S. Dans ce milieu, la fermentation du lactose et la production de sulfure d'hydrogène peuvent être détectées, permettant une identification présumée de la plupart des entérobactéries. La fermentation des sucres est reconnaissable par la production d'acide, qui fait passer l'indicateur du rouge au jaune. Comme il n'y a qu'une petite quantité de sucre (dextrose) dans le milieu, la production d'acide due à sa fermentation est très limitée et la ré-oxydation de l'indicateur se produit à la surface du milieu, ce qui fait que l'indicateur reste rouge. Lorsque le lactose est fermenté, une grande quantité d'acide est produite, la réoxydation ne se produit pas et tout le milieu devient jaune.

La production du sulfure d'hydrogène est indiquée par la Couleur ation du milieu en noir, par la réaction de H₂S (libéré du thiosulfate) avec les ions fer présents dans le citrate de fer d'ammonium.

Utilisation

La gélose Kligler fer est utilisée dans des tubes inclinés avec une pente courte et un culot généreux, qui sont inoculés en surface et également en profondeur avec une aiguille. L'inoculum doit être copieux; il doit provenir d'un milieu solide, sinon les lectures peuvent être retardées (jusqu' à 2-3 jours supplémentaires) .L'incubation normale est de 18 à 24 heures à 36 °C ± 0,2.

Des tubes avec des bouchons permettant la ventilation sont recommandés, tels que des bouchons en coton, des bouchons en cellulose ou un cap-o-test.

En cas d'utilisation de capuchons à vis, ne les serrez pas sinon ils peuvent gêner la réoxydation de l'indicateur.

Le milieu de Kligler donne d'excellents résultats s'il est utilisé fraîchement préparé, cependant s'il a été préparé quelques jours à l'avance, il est conseillé de le refondre et de le solidifier à nouveau pour obtenir des lectures plus précises.

Une production importante de H₂S peut rendre les lectures difficiles, et donc des lectures précoces sont fortement recommandées. Des lectures plus précises sont obtenues si la Milieu Triple Sugar fer est utilisée, car elle contient du saccharose permettant une plus grande différenciation entre les espèces de Proteus, Salmonella et Shigella.

Contrôle qualité

Température d'incubation: 37°C ±1

Temps d'incubation: 24 ± 3h

Inoculum: La pente doit être abondamment ensemencée (stries serrées). Le culot est ensemencé par simple piqûre. Spécificité selon l'ISO 11133:2014/Amd 1:2018 .

Micro-organismes
Croissance
Remarques

<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 43071	Bonne	Pente:K; Culot:A; G(-); H ₂ S (+)
<i>Shigella flexneri</i> ATCC® 12022	Bonne	Pente:K; Culot:A; G(-); H ₂ S (-)
<i>Shigella sonnei</i> ATCC® 9290	Bonne	Pente:K; Culot:A; G(-); H ₂ S (-)
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Bonne	Pente:A; Culot:A; G(+); H ₂ S (-)
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC® 13076	Bonne	Pente:K Culot:A; G(-); H ₂ S (+)
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	Bonne	Pente:K Culot:A; G(-); H ₂ S (+)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC® 27853	Bonne	Pente:K; Culot:Alk; G(-); H ₂ S (-)

Références

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. Boca Ratón. Fla. USA.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington. DC. USA.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- KLIGLER (1918) Modification of culture media used in the isolation and differentiation of typhoid, dysentery and allied bacilli. J. Exper Med. 28:319-332.
- KLIGLER (1917) A simple medium for the differentiation of members of typhoid-paratyphoid groups. Am. J. Pub. Hlth 7:1042-1044.
- MacFADDIN, J.F. (1985) Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. William & Wilkins. Baltimore. MD. USA.
- RUSELL, F.F. (1911) The isolation of typhoid bacilli from urine and feces with the description of a new double sugar tube medium. J. Med. Res. 25:217-220.

Conservation

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