

Principe

Milieux de culture pour améliorer la production de fluorescéine par *Pseudomonas* spp. selon les normes ISO.

Formule * en g/L

Peptone de viande.....	10.0
Peptone de caséine.....	10.0
Dipotassium phosphate.....	1.5
Magnesium sulfate.....	1.5
Agar.....	15.0

pH final 7,2 ±0,2 à 25 °C

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

Préparation

Suspendre 38 g de poudre dans 1 L d'eau distillée avec 10 mL de glycérol et laisser tremper. Porter à ébullition et répartir dans des récipients appropriés. Stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes. Laisser le milieu refroidir et se solidifier en position inclinée avec une longue inclinaison.

Description

La gélose King B a été formulé par King, Ward et Raney en 1954 pour améliorer la production de pigment fluorescent vert (pyoverdine) par *Pseudomonas fluorescens* et *P. aeruginosa*, dans lesquels la production de pyocyanine est limitée. Les pigments vert-jaunâtre, solubles et fluorescents, définissent *Pseudomonas* groupe I selon la 9e édition du Bergey Manual of Systematic Bacteriology, et par conséquent, la détection de leur production est critique.

Utilisation

Les tubes inclinés sont inoculés avec des souches de *Pseudomonas* et incubés à 30-32 ° C pendant une période de 2 à 4 jours. Si après cette période une couleur vert-jaunâtre n'apparaît pas sur le milieu, les tubes doivent être gardés sous observation à température ambiante pendant une période supplémentaire de 6 à 20 jours, avant la culture peut être considérée comme négative. Il est à noter que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas putida* obtenues à partir d'eau, de sol ou de nourriture produisent lentement des pigments.

La pyoverdine n'est pas soluble dans le chloroforme, de sorte que la confirmation de sa présence est généralement effectuée par une vérification de fluorescence caractéristique sous la lumière de Wood (365 µm), en comparant le tube positif suspecté à un autre tube de milieu F non inoculé, qui est considéré comme le contrôle.

Contrôle qualité

Température d'incubation: 30 ± 1°C

Temps d'incubation: 44 ± 4h

Inoculum: Piquer le fond et strier la pente, selon l'ISO 11133:2014/Amd 1:2018 & Adm 2:2020

Micro-organismes

Pseudomonas fluorescens ATCC® 13525
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 9027
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 10145
Burkholderia cepacia ATCC® 25608
Escherichia coli ATCC® 8739

Croissance

Bonne à très Bonne
 Bonne à très Bonne
 Bonne à très Bonne
 Bonne à très Bonne
 Bonne à très Bonne
 Bonne

Remarques

F (+)
 Jaune-vert
 Jaune-vert
 Jaune-vert
 sans pigment
 F (-)

Références

- DIN 38411 Standard (1991) Parte 6: Mikrobiologischen Verfahren (Gruppe K) Nachweis von *Escherichia coli* und coliformen keimen (K6).
- ISO 16266 Standard (2006) Water Quality. Detection and enumeration of *Ps aeruginosa*. Method by membrane filtration.
- ISO 22717 Standard (2015) Cosmetics - Microbiology - Detection of *Pseudomonas aeruginosa*.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018/ Adm 2:2020/ Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- KING, E.O., M.WARD & D.E. RANEY (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein J. Lab.Clin.Med. 44:30-307.
- LENNETTE, E.H., E.W. SPAULDING & J.P. TROUANT (1974) Manual of Clinical Microbiology. 2nd ed. ASM. Washington.
- PALLERONI, N. (1984) The genus *Pseudomonas*, in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.
- USP (2008) 31th ed. <61> Microbial Limit Tests. US Pharmacopeial Convention Inc. Rockville. MD.

Conservation

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