

**Egalement nommé**

Gélose Pyocyanine pour la détection des Pseudomonas

**Principe**

Milieu solide pour améliorer la production de pyocyanine par *Pseudomonas aeruginosa* selon les normes ISO.

**Formule \* en g/L**

Peptone.....	20.0
Magnesium chloride.....	1.4
Potassium sulfate.....	10.0
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 46,4 g de poudre dans 1 L d'eau distillée avec du glycérol 10 mL et laisser tremper. Chauffer, en remuant constamment, jusqu'à ébullition. Répartir dans des récipients adaptés et stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes. Si des tubes sont utilisés, laissez-les se solidifier avec une pente courte et un culot de bonne taille.

**Description**

Ce milieu A a été formulé par King, Ward et Raney en 1954 pour améliorer la production de pyocyanine par *Pseudomonas aeruginosa*. Le pigment bleu, la pyocyanine, diffuse dans le milieu de culture. La production de pyocyanine varie en fonction des souches de *Pseudomonas aeruginosa* présentes et des conditions de croissance. Bien que ce milieu améliore en particulier la production de pigment bleu, il est possible que des pigments verts (pyoverdine) ou brun (pyomélanine) apparaissent également et masquent la pyocyanine. La production de fluorescéine et d'autres pigments pseudomonas peut être observée sur d'autres milieux plus appropriés, comme la King B Agar (Art. No. DC1029).

**Utilisation**

Des tubes inclinés ou des boîtes de Pétri sont ensemencés par stries puis incubés à 30-35 ° C pendant 24-48-72h. L'inconvénient de l'utilisation de boîtes de Pétri est que le milieu est sujet à une déshydratation pendant l'incubation. Par conséquent, il est préférable de utiliser des tubes inclinés en prenant soin d'aérer en desserrant les capuchons à vis ou en les remplaçant par des capuchons en coton ou en aluminium.

Dans les souches pathogènes fraîchement isolées du matériel pathologique, la production de pigment est souvent montrée tôt, c'est-à-dire après 24 à 48 heures d'incubation, mais si le matériel n'est pas pathogène ou s'il provient de l'eau, de la nourriture ou du sol, la pigmentation peut être retardée.

Lorsque le pigment n'est pas de la couleur bleue habituelle, cela peut être dû à la production de deux ou plusieurs substances colorées. S'il n'est pas confirmé sur un autre milieu de culture, il est recommandé de confirmer par extraction:

En utilisant l'inclinaison de culture, 0,5-1 ml de chloroforme sont ajoutés et sont agités pendant quelques minutes jusqu'à ce que la pyocyanine soit diffusée, ce qui rend le solvant bleu. Après cela, le chloroforme est acidifié avec quelques gouttes de HCl, obtenant un changement rapide de couleur du bleu au rouge, confirmant ainsi la présence de pyocyanine.

**Contrôle qualité**

**Température d'incubation:** 30-35°C

**Temps d'incubation:** 24-48-72 h

**Inoculum:** La culture pure est inoculée par stries de surface

**Micro-organismes**

*Pseudomonas fluorescens* ATCC® 49838  
*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 10145  
*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853  
*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 9027  
*Burkholderia cepacia* ATCC® 25608

**Croissance**

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

**Remarques**

Sans pigment. F (-)  
 Vert sombre  
 Vert à bleu  
 Vert à bleu  
 sans pigment

---

**Références**

- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 16266: 2006 Standard. Water Quality - Detection and enumeration of Pseudomonas aeruginosa. Method by membrane filtration.
- ISO 22717 Standard (2015) Cosmetics - Microbiology - Detection of Pseudomonas aeruginosa.
- KING E.O., M. WARD & D.E. RANEY (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab.Clin.Med. 44:301-307.
- LENNETTE, E.H., E.W. SPAULDING & J.P. TROUANT (1974) Manual of Clinical Microbiology. 2nd. Ed. ASM. Washington.
- 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).