

GELOSE DE MACCONKEY

DETECTION DES ENTEROBACTERIES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de MacConkey est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des entérobactéries dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques d'origine animale, ainsi que les produits cosmétiques.

La formule-type répond à la composition définie dans la Pharmacopée européenne et dans les normes NF EN ISO 21567 et NF EN ISO 21150.

2 HISTORIQUE

La formulation de MacConkey pour l'isolement des entérobactéries a de nombreuses fois été modifiée depuis l'origine. Celle-ci représente la formule "classique" utilisée depuis de nombreuses années, par des auteurs tels que Block et Ferguson qui trouvèrent le milieu très satisfaisant pour l'isolement des *Shigella* difficiles à cultiver.

3 PRINCIPES

L'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaires et de cristal violet. Ce colorant inhibe principalement le développement des entérocoques et des staphylocoques.

La fermentation du lactose en acide est révélée en présence de rouge neutre par la formation de colonies roses ou rouges.

Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine	17,0 g
- Tryptone	1,5 g
- Peptone pepsique de viande	1,5 g
- Lactose.....	10,0 g
- Sels biliaires	1,5 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Rouge neutre	30,0 mg
- Cristal violet.....	1,0 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,1 ± 0,2.

5 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté (BK050) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
50,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier :

- Faire fondre le milieu préparé à l'avance ou prêt-à-liquéfier (BM180) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

6 MODE D'EMPLOI

Recherche d'*Escherichia coli* (chapitres harmonisés des Pharmacopées)

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Repiquer le bouillon d'enrichissement (MacConkey) sur une boîte de gélose ainsi préparée.
- Incuber à 30-35 °C pendant 18 à 72 heures.
- La présence de colonies sur les boîtes implique de réaliser les tests nécessaires à la confirmation d'*Escherichia coli*.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
18 à 72 h à 30-35 °C

Recherche d'*Escherichia coli* (Cosmétiques, NF EN ISO 21150)

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Repiquer le bouillon d'enrichissement (Eugon LT 100) sur une boîte de gélose ainsi préparée.
- Incuber à 30-35 °C pendant 24 à 48 heures.
- La présence de colonies rouge-brique, avec ou sans zone de précipité, implique de réaliser les tests nécessaires à la confirmation d'*Escherichia coli* : coloration de Gram, croissance sur gélose EMB (BK056)

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 à 48 h à 30-35 °C

Recherche de *Shigella* spp (Microbiologie des aliments, NF EN ISO 21567)

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Repiquer le bouillon d'enrichissement (*Shigella*) sur une boîte de gélose ainsi préparée et sur les autres milieux préconisés : gélose Hektöen (BK067) et gélose XLD (BK058).
- Incuber à 37 ± 1 °C pendant 20 à 24 heures.
- En présence de colonies caractéristiques, procéder aux tests de confirmation nécessaires.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
20 à 24 h à 37°C

7 LECTURE

Les colonies lactose-positif présentent une coloration rouge et sont entourées d'un halo de sels biliaires précipités. Les colonies lactose-négatif sont incolores.

Escherichia coli présente des colonies rouge brique, avec ou sans zone de précipités biliaires.

Shigella sonnei présente des colonies incolores à rose pâle, translucides. Les autres *Shigella* spp sont incolores, translucides.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige-rosé, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rouge-violacé.

Réponse culturale après 18 heures d'incubation à 30-35 °C :

Microorganismes	Croissance	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 50 \%$ Colonies rouges

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C :

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques
<i>Shigella sonnei</i>	WDCM 00127	Bonne	Colonies incolores

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes

Milieu préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK050HA

Milieu prêt-à-liquéfier :

Pack de 10 flacons de 100 mL BM18008

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

MacConkey. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg., 8: 333-379.

NF EN ISO 21567. Mars 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp..

NF EN ISO 21150. Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection d'*Escherichia coli*.

Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : MACCONKEY AGAR_FR_V8.

Date création : 01-2003

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.