

GELOSE AU VERT BRILLANT ET ROUGE PHENOL (EDEL ET KAMPELMACHER)

DETECTION DE *SALMONELLA*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose au vert brillant et au rouge de phénol selon Edel et Kampelmacher est un milieu sélectif employé pour l'isolement des salmonelles dans les produits d'alimentation humaine et plus particulièrement dans les produits laitiers.

Ce milieu peut aussi être utilisé comme second milieu d'isolement dans le cadre des autres méthodes normalisées de recherche de *Salmonella* spp.

2 HISTORIQUE

C'est en 1925 que Kristensen, Lester et Jurgens ont décrit ce milieu dont la formule a été modifiée par Kauffmann, puis au RijksInstituut voor Volksgezondheid en Milieu (R.I.V.M.) sous la conduite de Edel et de Kampelmacher, près d'Utrecht.

3 PRINCIPES

Le milieu contient deux glucides : le lactose et le saccharose, pour lesquels la fermentation de l'un ou l'autre ou des deux se traduit par un abaissement de pH qui provoque l'apparition de colonies colorées en jaune vert en présence de l'indicateur de pH, le rouge de phénol.

L'inhibition de la flore à Gram positif et de la plupart des germes à Gram négatif est due à la présence de vert brillant. Par rapport au milieu de Kristensen, le milieu a été enrichi en facteurs nutritifs et le pouvoir inhibiteur a été amoindri.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	10,0 g
- Extrait de viande	5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Saccharose	10,0 g
- Phosphate disodique.....	1,0 g
- Phosphate monosodique	0,6 g
- Rouge de phénol.....	90,0 mg
- Vert brillant	5,0 mg
- Agar agar bactériologique	14,0 g

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

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 53,7 g de milieu déshydraté (BK091) 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.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
53,7 g/L

✓ **Stérilisation :**
Ne pas autoclaver

6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Ensemencer en stries l'inoculum obtenu à partir des deux milieux d'enrichissement utilisés pour la recherche de *Salmonella*.
- Incuber à 37 °C pendant 20 à 24 h et, si nécessaire, jusqu'à 48 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
20 h à 48 h à 37 °C

7 LECTURE

Les salmonelles, majoritairement lactose négatif et saccharose négatif, produisent des colonies incolores à rosées, lisses, entourées d'une zone rouge dans le milieu.

L'aspect des autres microorganismes présentant une croissance est le suivant :

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies roses, sans prolifération	<i>Proteus</i>
Petites colonies roses	<i>Pseudomonas</i>
Colonies jaune verdâtre, entourées d'une zone jaune dans le milieu	<i>Escherichia, Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter</i> (lactose/saccharose-positif)
Cultures totalement, ou presque totalement inhibées	Bactéries à Gram positif

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre rosée, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose brun-orangé.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C, en méthode qualitative :

Microorganismes	Croissance	Caractéristiques
<i>Salmonella</i> Typhimurium WDCM 00031	Bonne, score 2	Colonies rosées
<i>Salmonella</i> Enteritidis WDCM 00030	Bonne, score 2	Colonies rosées
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087	Inhibée, score 0	-
<i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034	Inhibée, score 0	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C. La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

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 BK091HA

11 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kristensen, M., Lester, V., and Jurgens, A.. 1925. Use of trypsinized casein, brom-thymol blue, brom-cresol purple, phenol-red and brilliant green for bacteriological nutrient media. *British Journal of Experimental Pathology*, **6** : 291-299.

Edel, W., and Kampelmacher, E.H.. 1968. Comparative studies on *Salmonella*-isolation in eight European Laboratories. *Bulletin of World Health Organization*, **39(3)** : 487-491.

Edel, W., and Kampelmacher, E.H.. 1969. *Salmonella* isolation in nine European Laboratories using a standardized technique. Bulletin of World Health Organization, **41(2)** : 297-306.

NF EN ISO 19250. Juin 2013. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp.

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : recherche des *Salmonella* spp..

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.

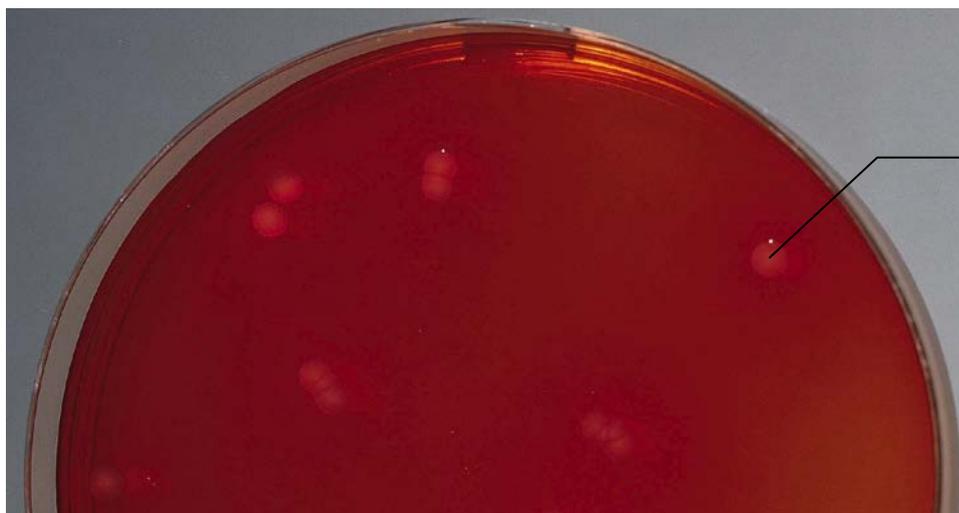
Code document : EDEL KAMPELMACHER_FR_V9
Date création : 06-2003
Date de révision : 02-2018
Motif de révision : Références bibliographiques.

Gélose au vert brillant et rouge phénol (selon Edel et Kampelmacher)

Détection de salmonelles

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37 °C.



Salmonella Typhimurium

Colonie caractéristique :
Incolore à rose entourée d'une
zone rouge dans le milieu.