
GELOSE AU VERT BRILLANT ET AU ROUGE DE PHENOL (KRISTENSEN)

DETECTION DE *SALMONELLA*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose au vert brillant et au rouge de phénol de Kristensen est un milieu très sélectif employé pour l'isolement des salmonelles, à l'exception de *Salmonella* Typhi, ceci à partir des prélèvements biologiques d'origine animale et des produits alimentaires.

La gélose est utilisée comme second milieu au choix dans les méthodes normalisées de recherche des salmonelles.

2 HISTORIQUE

C'est en 1925 que Kristensen, Lester et Jurgens ont décrit ce milieu dont la formule a été ensuite modifiée par Kauffmann, puis utilisée par Broh-Kahn et Edwards avec satisfaction.

3 PRINCIPES

L'inhibition de la flore à Gram positif et de la plupart des germes Gram négatif est due à la présence de vert brillant.

Le milieu contient deux glucides, lactose et saccharose, pour lesquels la fermentation de l'un ou l'autre ou des deux se traduit par un abaissement de pH, provoquant l'apparition de colonies colorées en jaune vert en présence de l'indicateur de pH, le rouge de phénol. Les salmonelles produisent des colonies incolores à rosâtres.

Il est particulièrement recommandé de repiquer les bouillons d'enrichissement simultanément sur d'autres milieux moins sélectifs tels que la gélose de MacConkey, la gélose XLD ou la gélose Hektöen.

En raison de son pouvoir inhibiteur élevé, ce milieu permet la mise en œuvre d'un inoculum fortement contaminé.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	5,0 g
- Peptone pepsique de viande	5,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Saccharose	10,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Rouge de phénol.....	80,0 mg
- Vert brillant	12,5 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 6,9 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 51,6 g de milieu déshydraté (BK071) 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 à raison de 100 mL.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

✓ **Reconstitution :**
51,6 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

6 MODE D'EMPLOI

- Ensemencer en stries l'inoculum sur les boîtes ainsi préparées, à partir des milieux d'enrichissement utilisés.
- Incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 à 48 h à 37 °C

NOTE

Le milieu, normalement brun rouge, devient rouge brillant après l'incubation, puis reprend sa couleur initiale lorsqu'il est ramené à température ambiante.

7 LECTURE

L'aspect des colonies est le suivant :

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies incolores à rosées, lisses, entourées de zones rouges dans le milieu Pas de croissance ou très faible	<i>Salmonella</i> lactose/saccharose-négatif à l'exclusion des <i>Salmonella</i> Typhi et Paratyphi. <i>Shigella</i>
Colonies jaunes à verdâtres, entourées de zones jaune vert dans le milieu	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> (lactose/saccharose positif)
Cultures totalement ou presque totalement inhibées	Bactéries à Gram positif

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre rosée, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose brun-orangé.

Réponse culturale après 48 heures d'incubation à 37 °C, méthode d'ensemencement 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 flacons (*) : Non recommandé, ne pas refondre le milieu.

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 BK071HA

11 REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Kristensen, M., Lester, V., and Jurgens, A.. 1925. On the 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.

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 : KRISTENSEN_FR_V5.

Date création : 11-2000

Date de révision : 10-2015

Motif de révision : Révision générale.