
GELOSE KF

DENOMBREMENT DES ENTEROCOQUES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose KF (Kenner Fecal) est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et le dénombrement des entérocoques dans les produits alimentaires par la méthode classique de numération en boîtes de Petri.
Elle est aussi préconisée dans la norme de composition en ferments acidifiants des produits laitiers (ISO 27205), pour la recherche des entérocoques en tant que contaminants.

2 HISTORIQUE

La gélose KF, utilisée par Kenner *et al.* en 1960 pour le dénombrement des streptocoques fécaux dans les eaux, a montré un excellent pouvoir récupérateur comparativement à d'autres milieux antérieurement utilisés. Les auteurs ont observé que le milieu permettait une excellente caractérisation des entérocoques ainsi que des microorganismes présentant des caractéristiques biochimiques et antigéniques proches : *Streptococcus bovis*, *Streptococcus equinus*.

3 PRINCIPES

La forte nutritivité du milieu est due à la forte proportion de peptone, d'extrait de levure et de glucides.

Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.

Le lactose et le maltose sont des sources d'énergie pour les microorganismes susceptibles de les utiliser.

L'acidification du milieu est révélée par le virage au jaune du pourpre de bromocrésol.

L'azide de sodium permet d'inhiber la croissance des microorganismes contaminants à Gram négatif.

Le TTC (chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium) ajouté extemporanément est un indicateur de la croissance bactérienne. Il est réduit en un formazan insoluble à l'intérieur de la cellule. Cette réaction se manifeste par l'apparition de colonies de couleur rouge à marron.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu complet :

- Polypeptone	10,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	10,0 g
- Maltose.....	20,0 g
- Lactose.....	1,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Glycérophosphate de sodium	10,0 g
- Azide de sodium.....	0,4 g
- Pourpre de bromocrésol.....	15,0 mg
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium	0.1 g
- Agar agar bactériologique	12,0 g

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

Pour 68,4 g de base déshydratée BK132

- Polypeptone	10,0 g
- Extrait autolytique de levure	10,0 g
- Maltose	20,0 g
- Lactose	1,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Glycérophosphate de sodium	10,0 g
- Azide de sodium	0,4 g
- Pourpre de bromocrésol	15,0 mg
- Agar agar bactériologique	12,0 g

Pour un flacon de supplément BS027

- triphényltétrazolium50 mg
(chlorure)

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 68,4 g de milieu de base déshydraté (BK132) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante.
- Maintenir l'ébullition jusqu'à 5 minutes maximum.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir à 44-47 °C

- Réhydrater le supplément TTC (BS027) avec 5 mL d'eau distillée ou déminéralisée stérile.
- Agiter ou vortexer le flacon de supplément de façon à assurer une complète dissolution, tout en évitant la formation de mousse.

- Ajouter 1 mL de supplément pour 100 mL de base maintenu à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri.
- Laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
68,4 g/L

✓ **Stérilisation :**
Ne pas autoclaver

✓ **Réhydratation
supplément :**
5 mL eau stérile
✓ **Ajout base :**
1 mL / 100 mL

6 MODE D'EMPLOI

- A la surface du milieu préparé en boîtes, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales successives.
- Étaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 43 ± 1 °C pendant 48 heures.

✓ **Ensemencement**
0,1 mL en surface

✓ **Incubation**
48 h à 43 °C

NOTE :

Le milieu peut être ensemencé en profondeur, avec un inoculum de 1 mL par boîte.

7 LECTURE

Les colonies caractéristiques présentent une coloration rouge, marron ou rose entourées d'un halo jaune.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanchâtre, fluide et homogène.

Supplément lyophilisé : lyophilisat blanc, donnant après reconstitution une solution incolore, limpide.

Milieu préparé (complet) : gélose bleu-violacé.

Réponse culturale après 48 heures d'incubation à 43 °C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	$P_R \geq 70 \%$
<i>Enterococcus faecium</i>	WDCM 00010	$P_R \geq 70 \%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée, score 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée, score 0

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30 °C.

Supplément TTC 50 mg : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu complet préparé en boîtes (*) : 8 jours à 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Supplément réhydraté (*) : 30 jours à 2-8 °C à l'abri de la lumière.

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK132HA

Supplément TTC 50 mg :

Coffret de 10 flacons BS02708

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kenner, B.A., Clark, H.F., and Kabler, P.W. 1961. Fecal Streptococci. I. Cultivation and Enumeration of Streptococci in Surface Waters. Appl. Microb., 9: 15-20.

MacFaddin, J.F. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Maintenance of Medical Bacteria. Vol 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 395-398.

ISO 27205. Février 2010. Produits laitiers. Ferments acidifiants. Norme de composition.

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 : KF GELOSE_FR_7.

Date création : 01-2003

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.

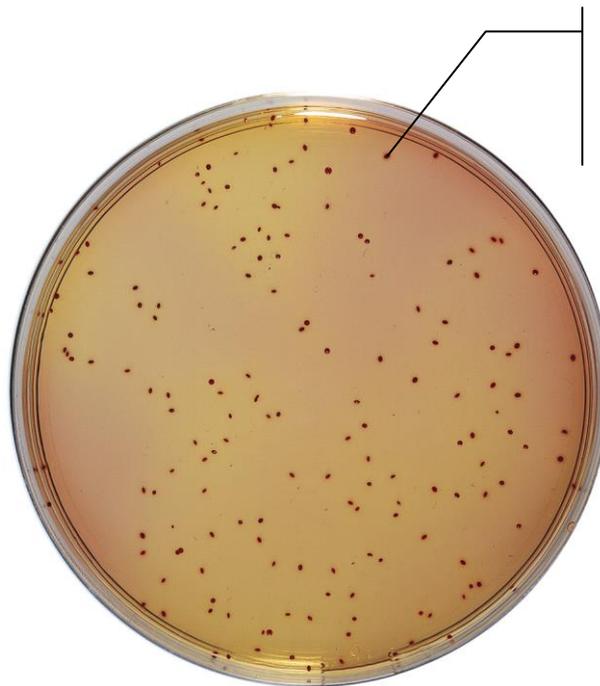
ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

Gélose KF

Détection et dénombrement des entérocoques.

Lecture :

Croissance obtenue après 48 heures d'incubation à 43 °C.



Enterococcus faecalis

Colonie caractéristique :
couleur rouge à marron, entourée
d'un halo jaune.