
GELOSE KING B

CONFIRMATION DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose King B permet la production de fluorescéine (ou pyoverdine), pigment jaune-vert fluorescent sous lumière ultra-violette, par certains *Pseudomonas*. Le milieu est utilisé principalement dans l'analyse de l'eau pour la détection et la différenciation de *Pseudomonas aeruginosa* qui produit ce pigment fluorescent contrairement à certaines espèces de *Pseudomonas* qui n'en produisent pas.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 16266.

2 HISTORIQUE

Le milieu a été décrit par King, Ward et Raney en 1954, puis la formule a été modifiée selon les recommandations de la Pharmacopée américaine. Les auteurs ont également mis au point le milieu King A qui favorise la production de pyocyanine (pigment fluorescent bleu) au détriment de la pyoverdine.

3 PRINCIPES

Le phosphate dipotassique augmente la concentration en phosphore apporté par la peptone et stimule ainsi la production de fluorescéine, tout en inhibant la production de pyocyanine.

Le sulfate de magnésium apporte les cations nécessaires à la production de pyoverdine.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu complet :

- Peptone	20,0 g
- Glycérol	10,0 mL
- Phosphate dipotassique	1,5 g
- Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	1,5 g
- Agar agar bactériologique	15,0 g

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

5 PREPARATION

- Faire fondre les tubes de milieu pendant le minimum de temps nécessaire à leur reliquéfaction, puis les incliner de manière à obtenir une pente oblique, après refroidissement.
- Il est recommandé, lorsque le milieu n'est pas utilisé dans les 8 jours qui suivent sa préparation, de le reliquéfier au bain-marie bouillant et de le solidifier à nouveau en bonne position.

6 MODE D'EMPLOI

- A partir de chaque colonie suspecte prélevée sur le milieu d'isolement sélectif, puis purifiée sur gélose nutritive, ensemercer la surface inclinée de gélose King B par des stries serrées.
- Incuber à 36 ± 2 °C de 24 heures à 5 jours, Examiner quotidiennement la culture sous un rayonnement UV et noter la présence d'une éventuelle fluorescence.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 h à 5 j à 36 °C

Note : Il est nécessaire d'utiliser des cultures pures prélevées au centre de colonies bien isolées, sinon les réactions croisées rendent l'identification impossible à réaliser.

7 LECTURE

Les colonies présentant une fluorescence jaune-vert détectable sous ultra-violet à 360 nm, sont considérées comme positives pour le contrôle des eaux, suivant la méthode décrite dans la norme NF EN ISO 16266.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu complet : gélose ambrée.

Réponse culturale après 22 heures d'incubation à 36 °C (FD T 90-461):

Microorganismes		Croissance	Fluorescence à 360 nm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024	Positive	Positive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026	Positive	Positive
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00179	Positive	Négative

9 CONSERVATION

Milieu prêt-à-liquéfier en tubes : 2-25 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

10 PRESENTATION

Milieu complet prêt-à-liquéfier (avec glycérol) :

Sachet de 7 tubes de 7 mL BM10508

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

King, E. O., Ward, M. K., and Raney, D. E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med. **44**: 301.

NF EN ISO 16266. Août 2008. Qualité de l'eau. Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*. Méthode par filtration sur membrane.

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 : KING B_FR_V8.
Date création : 10-2003
Date de révision : 07-2016
Motif de révision : Révision générale.