

Kligler-Hajna / Gélose (Lactose-Glucose-H₂S)

355-5378
356-4844

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé lors de l'identification des *entérobactéries* suite à leur isolement dans les produits alimentaires et les eaux.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF EN ISO 10273 (Décembre 2003)** : Microbiologie - Directives générales pour la recherche des *Yersinia enterocolitica* présumées pathogènes (IC : V08-027)

• **NF V08-301 (Juin 1983)** : Microbiologie alimentaire - Produits déshydratés – Examen microbiologique (IC : V08-301)

EAUX

• **ISO 19250 (Juillet 2010)** : Qualité de l'eau - Recherche de *Salmonella*

• **NF T90-461/A2 (Mai 2007)** : Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des entérobactéries à fermenter ou non le lactose (pente jaune = colonies lactose +) et le glucose (culot jaune = colonies glucose +) avec ou sans production de gaz ou de sulfure d'hydrogène (coloration noire).

PRESENTATION

• Prêt à l'emploi

10 ml x 25 tubes inclinés **code 355-5378**

• Déshydraté

500 g **code 356-4844**

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 2 - 8°C
- Déshydraté : + 15 - 25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement

FORMULE THEORIQUE

Peptone	20 g
Extrait de viande de boeuf	3 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Sulfate ferreux	0,2 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Lactose	10 g

Glucose	1 g
Rouge de phénol	25 mg
Agar	11 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 7,5 ± 0,2	

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI)

(liste non exhaustive)

- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Tubes à essais (16 x 160 mm) avec bouchons autoclavables
- Pipettes Pasteur stériles (**code 355-0751**) ou öse bouclée
- Bain-marie à 100°C pour la fusion des milieux prêt à l'emploi
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation.

Dissoudre 53.5 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Bien mélanger et répartir à raison de 10 ml par tube. Stériliser à l'autoclave à 121 ± 1°C pendant 15 minutes.

Refroidir en position inclinée, de façon à obtenir un culot de 3 cm environ de hauteur, ainsi qu'une pente. Dès que la surface de cette dernière est sèche, le milieu est prêt à l'emploi.

N.B. : Lorsqu'il a été préparé plus de 8 jours avant l'emploi, ce milieu doit de préférence, être refondu au bain-marie bouillant, puis solidifié à nouveau en bonne position.

Taux de reconstitution : 53,5 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 9,3 litres de milieu.

PROTOCOLE

• Ensemencement et incubation

Ensemencer le culot par piqûre et la surface inclinée par stries serrées et parallèles, pour avoir une culture en nappe.

Incuber à 37 ± 1°C pendant 18 à 24 heures. **NE PAS REVISSER A FOND LE BOUCHON.**

Kligler-Hajna / Gélose

(Lactose-Glucose-H₂S)

LECTURE ET INTERPRETATION

Ce milieu donne trois réponses en 24 heures au maximum :

- Le lactose est fermenté : la surface inclinée vire au jaune. Dans le cas contraire, sa couleur reste inchangée.
- Le glucose est fermenté : le culot vire au jaune. Dans le cas contraire, sa couleur reste inchangée. S'il y a production de gaz, il est possible d'observer, soit seulement quelques bulles, soit une poche gazeuse qui décolle complètement le milieu du fond du tube.
- La production d'H₂S se traduit par un noircissement du milieu dans la zone joignant le culot à la pente. Avec les bactéries donnant peu d'H₂S (*S.typhi*), le noircissement reste localisé au niveau de la piqûre.

A partir des résultats obtenus et d'autres tests complémentaires, l'identification peut être réalisée à l'aide des tableaux suivants :

Enterobacteriaceae	Gaz Glucose	Lactose	ONPG	H ₂ S	LDC
<i>Salmonella SE</i> en général	+	-	-	+	+
<i>S. typhi</i>	-	-	-	+ faible	+
<i>S. paratyphi A</i>	+	-	-	-	-
<i>S. arizona SE III</i>	+	-	+	+	+
<i>Citrobacter</i>	+	d	+	+	+
<i>Edwardsiella</i>	+	-	-	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	d	+	-	d
<i>Alkalescens</i>	-	-	d	-	d
<i>Sh. dysenteriae</i>	-	-	d	-	-
<i>Sh. boydii, flexneri</i>	-	-	-	-	-
<i>Sh. sonnei</i>	-	-	d	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-	-	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	-	+	-
<i>Proteus rettgeri</i>	d	-	-	-	-
<i>Proteus morgani</i>	+	-	-	-	-
<i>Providencia</i>	d	-	-	-	-
<i>Levinea</i>	+	-	+	-	-

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

<i>Y. enterocolitica</i>	-	-	+	-	-
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	-	-	d	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	-	+
<i>K. oxytoca</i>	+	+	+	-	+
<i>E. aerogenes</i>	+	d	+	-	+
<i>K. ozonae</i>	d	d	+	-	d
<i>K. rhinoscleromatis</i>	-	-	-	-	-
<i>E. cloacae</i>	+	-	+	-	-
<i>E. agglomerans</i>	d	d	+	-	-
<i>Hafnia alvei</i>	+	-	+	-	+
<i>Serratia arcscens et liquefaciens</i>	d	-	+	-	+
<i>V. parahemolyticus</i>	-	-	-	-	+

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 h à 37°C			
	Glu	Lac	Gaz	H ₂ S
<i>Escherichia coli</i> CIP 106878	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	+	+	+	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	+	+	+	+
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	+	-	+	+
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	+	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6380	+	-	±	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Kligler-Hajna / Enterobacteriaceae / Produits alimentaires / Eaux / Identification / Isolement / Lactose / Glucose / H₂S / Gaz / Fermentation / Milieu.

BIBLIOGRAPHIE

CHATELAIN et Coll. (1979) : Ann. Inst. Pasteur 130 A: 449-454.