

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

APPLICATION

La **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** (gélose DCLS modifiée / gélose entérique Hektoen en boîte de Pétri à deux compartiments) est utilisée pour l'isolement des *Salmonella* et des *Shigella* à partir d'échantillons fécaux humains.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

La DCLS Agar, Modified est une version modifiée des milieux Desoxycholate Citrate Agar décrits par Leifson.¹ Les microorganismes coliformes capables de fermenter le lactose ou le saccharose y sont généralement inhibés. Les bactéries à Gram positif sont inhibées. Dans le cadre de leur étude sur les agents pathogènes entériques en milieu Endo, Holt-Harris et Teague ont utilisé le lactose et le saccharose pour élaborer une gélose nutritive contenant du bleu de méthylène et de l'éosine. Certains coliformes fermentent le saccharose plus rapidement que le lactose.² L'adjonction de saccharose permet aux microorganismes non pathogènes fermentant le saccharose de produire des colonies rose-rouge facilement reconnaissables, ce qui diminue le nombre de faux positifs.

Il existe plusieurs modifications de la formule originale de la DCLS Agar.^{3,4} La formule de ce milieu, davantage dosé en lactose et en saccharose et moins en citrate, améliore légèrement la croissance des *Shigella* par rapport à une DCLS Agar standard. De plus, ce milieu permet de détecter les *Yersinia enterocolitica*.

Dans la DCLS Agar, Modified, l'extrait de viande et la peptone fournissent l'azote, tandis que l'extrait de levure apporte les vitamines. Le lactose et le saccharose sont des hydrates de carbone fermentescibles qui sont utilisés par de nombreux bâtonnets à Gram négatif non pathogènes, tels que les *Escherichia coli*, mais non par les *Salmonella* et les *Shigella*. Le citrate de sodium, le thiosulfate de sodium et le désoxycholate de sodium sont des agents sélectifs. Le rouge neutre est l'indicateur de pH.

La Hektoen Enteric Agar (HEA) a été développée en 1967 par King et Metzger, de l'institut Hektoen, afin d'isoler les microorganismes de *Shigella* et de *Salmonella* plus efficacement que les autres milieux couramment utilisés à cette époque.⁵ Ce milieu, considéré comme modérément sélectif, est particulièrement utile pour isoler les *Shigella* spp. Sa préparation actuelle diffère de la précédente par le retrait du désoxycholate de sodium et la diminution de la concentration de sels biliaires. De plus, la concentration en peptone a été augmentée afin de compenser les effets inhibiteurs des sels biliaires.³

Les sels biliaires rendent le milieu sélectif en inhibant les microorganismes à Gram positif et en réduisant la croissance de certaines bactéries à Gram négatif autres que *Salmonella* et *Shigella*. Le lactose, le saccharose et la salicine sont ajoutés pour obtenir une différenciation optimale des colonies grâce à leur couleur et à celle du milieu adjacent. *Salmonella* et *Shigella* ne provoquent pas la fermentation de ces composés carbonés et ne modifient donc pas la couleur du système indicateur de pH. En revanche, les microorganismes comme *E. coli* qui provoquent la fermentation d'au moins un de ces composés en acides entraînent un changement de la couleur vers le jaune, l'orange ou le saumon. Le citrate d'ammonium ferrique et le thiosulfate de sodium présents dans ce milieu permettent de détecter la production d'acide sulfhydrique par *Salmonella*. Le système indicateur de pH se compose de fuchsine acide et de bleu de bromothymol. Cette formulation est recommandée comme l'un des divers milieux en boîte de Pétri existant pour cultiver les *Enterobacteriaceae* à partir d'échantillons fécaux.⁶⁻⁸

La **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** est une combinaison de deux milieux différentiels sélectifs utilisés pour l'isolement des *Salmonella* et des *Shigella* à partir d'échantillons fécaux humains.

REACTIFS

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

Formules* par litre d'eau purifiée

DCLS Agar, Modified		Hektoen Enteric Agar	
Peptone de viande (pancréatique)	5,0 g	Digestion peptique de tissu animal	12,0 g
Extrait de levure	2,5	Extrait de levure	3,0
Extrait de viande	2,5	Sels biliaires	9,0
Lactose	10,0	Lactose	12,0
Saccharose	10,0	Saccharose	12,0
Citrate d'ammonium ferrique	1,0	Salicine	2,0
Désoxycholate de sodium	2,5	Chlorure de sodium	5,0
Thiosulfate de sodium	5,0	Thiosulfate de sodium	5,0
Citrate de sodium	1,0	Citrate d'ammonium ferrique	1,5
Rouge neutre	0,02	Bleu de bromothymol	0,064
Gélose	10,0	Fuchsine acide	0,1
pH 7,5 ± 0,2		Gélose	13,5
		pH 7,6 ± 0,2	

*Ajustées et/ou complétées en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent êtreensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber les boîtes à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie. Il peut arriver que des *Shigella* spp. nécessitent 42 à 48 h d'incubation.

Observer les boîtes de Pétri après 18 à 24 h, puis après 42 à 48 h, pour mesurer la croissance, la taille des colonies, la pigmentation et la sélectivité.

Souches	DCLS Agar, Modified	Hektoen Enteric Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Croissance nulle à moyenne, colonies de couleur rose-rouge, parfois entourées d'un précipité	Inhibition partielle à complète, colonies de couleur jaune-orange, parfois entourées d'un précipité ; auréoles de couleur saumon à orange
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibition complète	Inhibition partielle à complète, colonies minuscules de couleur jaune, auréoles de couleur saumon à orange
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Colonies orange-rouge, croissance moyenne à bonne	Couleur bleu-vert à bleu, à centre noir
<i>Salmonella</i> Abony DSM 4224	Colonies orange-rouge à jaune, croissance bonne à importante	Croissance bonne à importante, colonies de couleur verte à bleu-vert, à centre noir
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	Colonies orange-rouge à jaune, croissance bonne à importante	Croissance bonne à importante, colonies de couleur verte à bleu-vert, à centre noir
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Colonies orange-rouge à jaune, croissance moyenne à importante	Croissance moyenne à importante, colonies de couleur vert clair
Sans ensemencement	Couleur orange-rouge légèrement opalescente	Couleur verte, presque transparente

METHODE

Matériaux fournis

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm divisées en deux compartiments). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Ce milieu est utilisé pour analyser les échantillons fécaux de patients susceptibles d'être atteints d'une infection entérique bactérienne ainsi que d'autres matières similaires, p. ex. les écouvillons rectaux (voir également la rubrique « **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE** »).

Mode opératoire du test

Strier les deux milieux de la boîte avec l'échantillon dès que possible après réception au laboratoire. La boîte d'étalement sert principalement à isoler des cultures pures à partir d'échantillons contenant des flores mixtes. Ou bien, si le prélèvement est mis en culture directement à partir d'un écouvillon, rouler celui-ci sur une petite partie de la gélose au niveau du bord de la boîte, puis strier la gélose à partir de cette zone ensemencée.

Il convient également d'ensemencer un milieu moins sélectif, p. ex. la **BD MacConkey II Agar**, et des milieux d'enrichissement liquides sélectifs, p.ex. le Selenite F Broth, pour augmenter les possibilités de mise en évidence lorsque la population de microorganismes à Gram négatif est limitée et pour indiquer la présence d'autres microorganismes dans l'échantillon. Consulter les procédures décrites dans les publications citées en référence pour obtenir des informations complètes sur l'isolement et l'identification d'agents pathogènes entériques provenant d'échantillons cliniques.⁶⁻⁸

La **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** peut servir de milieu de repiquage à partir du bouillon Selenite F.

Incuber les boîtes de Pétri à l'abri de la lumière, à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h. En cas d'absence de résultats, incuber à nouveau pendant 18 à 24 h.

Résultats

Généralement, les croissances obtenues sur **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** présentent la morphologie suivante :

Microorganismes	DCLS Agar, Modified	Hektoen Enteric Agar
<i>E. coli</i>	Grande taille, plane, de couleur rose à rouge avec une zone de précipitation biliaire	Grande taille, de couleur jaune à saumon, inhibition possible de certaines souches
<i>Enterobacter/Klebsiella</i>	Grande taille, mucoïde, de couleur rose	Grande taille, de couleur jaune à saumon
<i>Proteus</i>	Incolore à rouge	Variable, de couleur bleu-vert à bleu ou saumon ; la plupart des souches ont un centre noir
<i>Salmonella</i>	Incolore à rose pâle	Couleur bleu-vert à bleu ; la plupart des souches ont un centre noir
<i>Shigella</i>	Incolore à rose pâle	Couleur verte, humides et convexes
<i>Pseudomonas</i>	Incolore à marron ou vert	Irrégulières, de couleur verte à marron
A Gram positif	Aucune croissance	Croissance nulle à légère

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** est utilisée pour l'isolement des *Salmonella* et des *Shigella* à partir d'échantillons fécaux et d'écouvillons rectaux humains.^{3,6-9}

Si un échantillon comporte une faible quantité d'agents pathogènes, ceux-ci risquent de ne pas être décelés dans un milieu très sélectif. Il est donc recommandé d'ensemencer également un milieu moins sélectif, p. ex. une **BD MacConkey II Agar** et/ou un milieu sélectif liquide enrichi.⁶⁻⁸

Dans ces milieux, les colonies de *Proteus mirabilis* peuvent ressembler à des *Salmonella*.

Certaines souches de *Shigella* peuvent nécessiter une incubation de 42 à 48 h.

Il est possible de procéder à certains tests diagnostiques directement dans ces milieux.

Toutefois, pour obtenir une identification complète, il est nécessaire d'employer des tests biochimiques et, le cas échéant, immunologiques, portant sur des cultures pures.

Les colonies susceptibles d'être des *Salmonella* ou des *Shigella* doivent faire l'objet d'une confirmation et d'une identification au moyen de tests sérologiques.⁶

Les besoins nutritionnels des microorganismes étant variables, il est possible que certaines souches se développent peu, voire pas du tout, dans ces milieux.

REFERENCES

1. Leifson, E. 1935. New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. *J. Pathol. Bacteriol.* 40:581-599.
2. Holt-Harris, J. E., and O. Teague. 1916. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosus* from stools. *J. Infect. Dis.* 18:596-601.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Hajna, A. A., and S. R. Damon. 1956. New enrichment and plating medium for the isolation of *Salmonella* and *Shigella* organisms. *Appl. Microbiol.* 4: 341.
5. King, S., and W.I. Metzger. 1968. A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. I. Hektoen enteric agar. *Appl. Microbiol.* 16:577-578.
6. Bopp, C.A., Brenner, F.W., Fields, P.I., Wells, J.G., and N.A. Strockbine. 2003. *Escherichia, Shigella, and Salmonella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. *Clinical microbiology procedures handbook*, vol.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover

(ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

9. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. *In*: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.

CONDITIONNEMENT

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

N° réf. 254553

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company.