



BBL Bile Esculin Agar Slants

L007435 • Rev. 10 • Avril 2015



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

La Bile Esculin Agar est un milieu servant à l'identification présomptive des espèces d'entérocoques et du groupe *Streptococcus bovis* des streptocoques.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Ensemencer en stries les surfaces inclinées à l'aide d'une anse calibrée de 0,01 mL avec des cultures de **Trypticase** Soy Broth diluées au 1/10 et âgées de 18 à 24 heures.
 - b. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de 35 ± 2 °C.
 - c. Incorporer des **Trypticase** Soy Agar Slants pour qu'elles jouent le rôle de contrôles non sélectifs pour tous les organismes.
2. Au bout de 18 à 24 heures et de 42 à 48 heures, examiner les tubes afin de contrôler la croissance, la sélectivité et les réactions positives.
3. Résultats attendus

Organismes de contrôle du CLSI (souches ATCC)

**Enterococcus faecalis* Croissance, noircissement autour des colonies (29212) (noircissement de la moitié du milieu ou davantage)
**Streptococcus pyogenes* Inhibition (partielle ou totale), pas de phénomène de (19615) noircissement

Souche complémentaire utilisée :

Streptococcus gallolyticus Croissance, noircissement de la moitié du milieu ou ATCC 9809 davantage)

*Souche recommandée pour le contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Incuber des tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

La Bile Esculin Agar (gélose à l'esculine et à la bile) permet de différencier les entérocoques et le groupe *Streptococcus bovis* des autres streptocoques.^{1,2}

V RESUME ET EXPLICATION

Rochaix a remarqué l'importance du rôle de l'hydrolyse de l'esculine dans l'identification des entérocoques.³ Meyer et Schonfeld ont incorporé de la bile dans le milieu à l'esculine, et ont démontré que 61 entérocoques sur 62 étaient capables de se développer et de cliver l'esculine, contrairement aux autres streptocoques.⁴ Swan s'est servi d'un milieu à l'esculine contenant 40 % de sels biliaires et a constaté qu'une réaction positive sur le milieu bile-esculine était liée à une réaction à la précipitine du groupe sérologique D.⁵

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Les entérocoques et certains streptocoques hydrolysent le glycoside et l'esculine en esculétine et en dextrose. L'esculétine réagit à un sel de fer en formant un complexe de couleur marron foncé ou noire.⁶ Du citrate ferrique est incorporé au milieu afin de servir d'indicateur de l'hydrolyse de l'esculine et de la formation d'esculétine qu'elle produit. On utilise de la bile de bœuf pour inhiber la croissance des bactéries Gram positives autres que les entérocoques.

VII REACTIFS

Bile Esculin Agar Slants

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine	5,0	g
Extrait de bœuf	3,0	g
Bile de bœuf	20,0	g
Citrate ferrique	0,5	g
Esculine	1,0	g
Gélose.....	14,0	g

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation

Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Maintenir à l'abri de la lumière. Les milieux en tube conservés conformément aux instructions jusqu'au moment de leur utilisation peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption indiquée et incubés pendant les durées recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la mise en culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{7,8}

Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Bile Esculin Agar Slants

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie.

Ensemencer le milieu avec deux ou trois colonies et laisser incuber une nuit à 35 ± 2 °C, dans une atmosphère aérobie.⁹

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

Si, au bout de 24 à 48 heures, le phénomène de noircissement affecte plus de la moitié du milieu, le test est positif. Si, au bout de 24 à 48 heures, aucun noircissement ne s'est produit, ou si le phénomène affecte moins de la moitié de la gélose, le test est négatif.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Les souches de *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* entraînant une réaction bile-esculine positive ont été isolées à partir des infections humaines.^{1,9}

Parfois, des souches du groupe des streptocoques viridans noircissent le milieu ou produisent des réactions faiblement positives.²

Pour procéder à l'identification, les organismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Consulter les publications citées en référence pour plus d'informations sur les méthodes recommandées.^{7,8}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Hussain *et al.* ont testé 194 isolats de streptocoques préalablement identifiés lors de tests sérologiques, afin de déterminer l'efficacité de plusieurs tests biochimiques permettant l'identification des streptocoques des groupes A et B et la différenciation entre les streptocoques entérocoques et les streptocoques non entérocoques du groupe D. Vingt-deux (22) souches d'entérocoques du groupe D ont été identifiées. Cent pour cent (100 %) des streptocoques du groupe D, une souche du groupe R et une souche de streptocoque non groupable ont noirci les Bile Esculin Agar Slants. Avec un inoculum lourd, l'hydrolyse de l'esculine était détectable au bout de 4 heures dans 93 % des échantillons testés.¹⁰

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
---------	-------------

221409	BD BBL Bile Esculin Agar Slants, boîte de 10 tubes de taille K
--------	--

221410	BD BBL Bile Esculin Agar Slants, carton de 100 tubes de taille K
--------	--

XIV REFERENCES

1. Facklam, R.R., D.F. Sahm, and L.M. Teixeira. 1999. *Enterococcus*, p. 297-305. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Ruoff, K.L., R.A. Wiley, and D. Beighton. 1999. *Streptococcus*, p. 283-296. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Rochaix, A. 1924. Milieux à l'esculine pour le diagnostic différentiel des bactéries du groupe strepto-entéro pneumocoque. Compt. Rend. Soc. Biol. 90:771-772.
4. Meyer, K., and H. Schonfeld. 1926. Über die Unterscheidung des *Enterococcus* vom *Streptococcus viridans* und die Beziehungen beider zum *Streptococcus lactis*. Zentralbl. Bakteriell. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I. Orig. 99:402-416.
5. Swan, A. 1954. The use of bile-esculin medium and of Maxted's technique of Lancefield grouping in the identification of enterococci (group D streptococci). J. Clin. Pathol. 7:160-163.
6. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
7. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Tenover, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Tenover. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
9. Ruoff, K.L. 1995. *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Stomatococcus*, and miscellaneous gram-positive cocci that grow aerobically, p. 315-323. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Hussain, Z., R. Lannigan, and L. Stoakes. 1984. A new approach for presumptive identification of clinically important streptococci. Zbl. Bakt. Hyg. A 258:74-79.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD