

BD EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar), Modified

APPLICATION

La **BD EMB Agar, Modified** (gélose EBM modifiée), formulée par Holt-Harris et Teague, est un milieu différentiel légèrement sélectif servant à l'isolement et à la différenciation de bacilles entériques à Gram négatif (*Enterobacteriaceae* et divers autres bâtonnets Gram-négatifs) provenant d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

La EMB Agar est basée sur une préparation décrite pour la première fois en 1916 par Holt-Harris et Teague.¹

La préparation originale de Holt-Harris et Teague a été modifiée par Levine.² La principale différence entre les deux préparations réside dans l'ajout de saccharose au milieu de Holt-Harris et Teague. Certaines entérobactéries provoquent plus facilement la fermentation du saccharose que du lactose.³

La **BD EMB Agar, Modified** contient des colorants tels que l'éosine Y et le bleu de méthylène qui inhibent les bactéries Gram-positives jusqu'à un certain point. Ces colorants servent aussi d'indicateurs différentiels par réaction à la fermentation du lactose et/ou du saccharose due aux microorganismes. Les coliformes produisent des colonies de couleur bleu-noir tandis que les colonies de *Salmonella* et de *Shigella* sont incolores ou de couleur ambrée transparente. Les colonies de *Escherichia coli* peuvent présenter un aspect caractéristique vert métallisé brillant dû à la fermentation rapide du lactose.

La EMB Agar (avec ou sans saccharose) est ajoutée au panel des milieux d'isolement à faible sélectivité destinés à *Salmonella* et employés sur les échantillons fécaux et autres.⁴

Dans ce milieu, les bactéries Gram-positives telles que les streptocoques fécaux, les staphylocoques et les levures peuvent se développer et former des colonies localisées ou être inhibées.

REACTIFS

BD EMB Agar, Modified

Formule* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine	10,0 g
Lactose	5,0
Saccharose	5,0
Phosphate bipotassique	2,0
Gélose	13,5
Eosine Y	0,4
Bleu de méthylène	0,065

pH 7,2 +/- 0,2

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

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement. 

Ne pas utiliser les boîtes de Pétri qui montrent des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou tout autre type de détérioration.

Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

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 congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.

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

Inoculer les échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Incuber les boîtes de Pétri en aérobie à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 heures.

Souches	Croissance
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Croissance bonne à importante, colonies de couleur bleu-noir présentant un aspect brillant vert métallisé
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	Croissance bonne à importante, colonies de couleur gris clair à ambrée
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Croissance moyenne à bonne, colonies incolores à légèrement ambrées
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibition partielle, colonies incolores
Non inoculé	Couleur pourpre avec une nuance orange-vert, légèrement opalescente

METHODE

Matériel fourni

BD EMB Agar, Modified (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produit soumis à contrôle microbiologique.

Matériel non fourni

Les milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Ce milieu sélectif, qui met en évidence les bâtonnets Gram-négatifs, peut être employé pour l'isolement des bacilles entériques à Gram négatif provenant de tous les types d'échantillons (voir également la rubrique **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).

Mode opératoire du test

Diluer l'échantillon par striation dès que possible après réception par le laboratoire. La boîte à striation sert principalement à isoler les cultures pures des échantillons contenant des flores mixtes. Si la matière doit être cultivée directement à partir d'un écouvillon, rouler ce dernier sur une petite surface de la boîte de Pétri près du bord, puis strier l'échantillon depuis cette zone inoculée. Il convient de strier également un milieu non sélectif tel que la Columbia Agar with 5 % Sheep Blood pour signaler la présence d'autres organismes dans l'échantillon. Incuber les boîtes de Pétri à l'abri de la lumière à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h.

Résultats

Généralement, les colonies isolées dans ce milieu présentent la morphologie suivante :

Organismes	BD EMB Agar, Modified
<i>E. coli</i>	Grande taille, de couleur bleu-noir avec un aspect brillant vert métallisé
<i>Enterobacter/Klebsiella</i>	Grande taille, muqueuse, de couleur bleu-noir
<i>Proteus</i>	Grande taille, incolore
<i>Salmonella</i>	Grande taille, incolore à ambrée
<i>Shigella</i>	Grande taille, incolore à ambrée
<i>Pseudomonas</i>	Irrégulière, incolore
Bactéries Gram-positives	Croissance nulle à légère

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

Les organismes de la famille *Enterobacteriaceae* et plusieurs autres bâtonnets Gram-négatifs, tels que *Pseudomonas* et *Aeromonas*, se développent sur la **BD EMB Agar, Modified**.³⁻⁵

Souvent, les organismes Gram-positifs ne sont pas totalement inhibés dans ce milieu.

Il est certes possible de procéder à divers tests diagnostiques directement dans ce milieu mais, pour obtenir une identification complète, il convient d'employer des tests biochimiques et, si nécessaire, immunologiques, faisant appel à des cultures pures. Consulter les documents de référence appropriés.³⁻⁵

REFERENCES

1. Holt-Harris, J.E., and O. Teague. 1916. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosus* from stools. *J. Infect. Dis.* 18:596-600.
2. Levine, M. 1918. Differentiation of *B. coli* and *B. aerogenes* on a simplified eosin-methylene blue agar. *J. Infect. Dis.* 23:43-47.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
4. Farmer III, J.J. 2003. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. *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.
5. 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.

CONDITIONNEMENT

BD EMB Agar, Modified

N° cat. 254014

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

N° cat. 254073

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 120 unités

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

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



Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD