

## Hektoen/Gélose

356-3894  
355-4386  
356-4284

### DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour l'isolement des Entérobactéries et la différenciation des Entérobactéries pathogènes dans les produits alimentaires.

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

#### MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE

• **NF EN ISO 21567 (Mars 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella spp.* (IC : V 08-411).L

• **NF U 47-100 (Juillet 2001)** : Méthode d'analyse en santé animale - Isolement et identification des Salmonelles dans l'environnement des productions animales (U 47-100).

• **NF U 47-101 (Août 2001)** : Méthodes d'analyse en santé animale - Isolement et identification des Salmonelles chez les oiseaux (U 47-101).

### PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude ou l'incapacité des entérobactéries à fermenter trois sucres : le lactose, le saccharose, la salicine.

Deux indicateurs permettent de visualiser la réaction : le bleu de bromothymol qui vire au jaune à l'acidité et la fushine qui se colore en présence d'aldéhyde.

Une différenciation supplémentaire reposant sur la production d'hydrogène sulfuré est possible grâce à la présence de thiosulfate de sodium et de citrate de fer.

Elle se traduit par des colonies à centre noir, coloration due à la formation de sulfure de fer. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram (+) par les sels biliaires.

### PRESENTATION

#### • Pré-coulé

20 boîtes x 90 mm

code 356-3894

#### • Prêt à l'emploi

100 ml x 6 flacons

code 355-4386

#### • Déshydraté

500 g

code 356-4284

### CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Pré-coulé : à + 2° - 20 °C.
- Prêt à l'emploi : à + 2° - 8 °C.
- Déshydraté : + 15° - 25 °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

### FORMULE THEORIQUE

Protéose peptone	12 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Thiosulfate de sodium	5 g
Sels biliaires	9 g
Citrate de fer ammoniacal	1,5 g
Salicine	2 g
Lactose	12 g
Saccharose	12 g
Fuchisine acide	100 mg
Bleu de bromothymol	65 mg
Agar	13 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25°C) final = 7,5 ± 0,2

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

- Diluant(s)
- Eau distillée

### MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI)

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 100 ml avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (ø = 90 mm)
- Pipettes Pasteur stériles (code 355-0751) ou øse bouclée
- Bain-Marie avec une précision de ± 1 °C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Tout matériel courant d'un laboratoire.

### PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

#### Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 75 g de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer légèrement en agitant fréquemment et porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

**NE PAS AUTOCLAVER !**

Refroidir à 44° - 49 °C, selon les normes et couler en boîtes de Pétri.

**Taux de reconstitution : 75 g/l**

**500 g de poudre permettent de réaliser 6,6 litres de milieu.**

## PROTOCOLE

### • Ensemencement et incubation

Après enrichissement sélectif pour la recherche des *Salmonella*, ensemencer en stries à l'aide d'une öse bouclée ou d'une pipette Pasteur bouclée préalablement stérilisée à la flamme. Incuber à 37°C ± 1°C pendant 24 à 48 heures.

## LECTURE ET INTERPRETATION

- **Colonies saumon** : *Escherichia*, *Levinea*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Yersinia*.

- **Colonies saumon à centre noir** : *Proteus vulgaris*

- **Colonies bleu-vert à centre noir** : suspicion de *Salmonella* à différencier de *Proteus mirabilis*

- **Colonies bleu-vert ou vertes** : suspicion de *Shigella* ou de *Salmonella* à différencier de *Proteus morgani* ou *rettgeri* de *Providencia*, *Hafnia*, *Levinea*, *Plesiomonas*.

### Remarques :

1. Certaines *Salmonella arizonae* et *Shigella sonnei* donnent des colonies jaunes saumon.
2. L'aspect des colonies de *Pseudomonas* : petites, brunes ou bleuâtres.
3. Le développement possible de *Vibrio cholerae* dont les colonies sont jaune rosé.

## PRECAUTION D'EMPLOI

- Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la solution-mère (ou de la dilution 10<sup>-1</sup> dans le cas d'un produit solide) et le moment où les dilutions entrent en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 15 minutes.

- **NE PAS AUTOCLAVER LE MILIEU.**

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

## PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

(Voir tableau ci-contre)

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 - 48H à 37 °C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Colonies saumon Inhibition partielle
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Colonies Bleu-vert à centre noir
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	Colonies vertes à saumon
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Colonies vertes
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	Colonies Bleu-vert à centre noir
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	Colonies saumon
<i>Enterococcus faecalis</i> var <i>zymogenes</i> ATCC 29212	Inhibition

## 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

Hektoen / Entérobactéries / Produits alimentaires / Eaux / Isolement / Différenciation / Lactose / Saccharose / Salicine / Bleu de bromothymol / Fushine / Thiosulfate de sodium / Citrate de fer / Milieu.

## BIBLIOGRAPHIE

• TAYLOR, W. I., SCHELHAUT, D. (1971): Appl. Microbiol. **21** : 32-37.

• KINGS, S., METZGER, W.I. (1968): Appl. Microbiol. **16** : 577-578.