

# GÉLOSE ENTÉRIQUE HEKTOEN

## NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRETS A L'EMPLOI

### 1. Utilisation prévue

La gélose entérique Hektoen est un milieu semi-sélectif et différentiel destiné à la détection qualitative et à l'isolement des *Enterobacterales* à Gram négatif, en particulier pour l'isolement de *Shigella* et de *Salmonella* à partir d'échantillons de matériel biologique humain, principalement des selles et des écouvillons rectaux, et d'autres échantillons cliniques et non cliniques. La fonction du milieu est d'aider au diagnostic des patients présentant des symptômes indiquant une infection potentielle par des pathogènes entériques à Gram négatif, en particulier ceux des genres *Shigella* et *Salmonella*.

Les salmonelles sont l'une des causes les plus fréquentes d'intoxication alimentaire. Le pouvoir pathogène de ces micro-organismes varie d'un sérovar à l'autre et peut varier au sein d'une même sous-espèce. Certains sérovats sont connus pour être à l'origine de maladies invasives, tandis que d'autres provoquent des intoxications alimentaires qui guérissent spontanément. Les sérovats de *Salmonella* les plus couramment isolés sont *Salmonella enterica* subsp. *enterica* S. *enteritidis*, S. *typhimurium*, S. *virchow*, S. *hadar* ou S. *infantis*.

Le genre *Shigella* comprend quatre espèces : S. *dysenteriae*, S. *flexneri*, S. *boydii* et S. *sonnei* qui sont toutes des pathogènes obligatoires à l'origine de la dysenterie bactérienne.

Référence :	Type de milieu :	Emballage :
1060PD90	Boîte pré-coulée prête à l'emploi	2 x 10 pcs (90 mm)

### 2. Principe de la procédure

L'hydrolysate enzymatique de tissus animaux et l'extrait de levure sont la source de nutriments du milieu. Le mélange de sels biliaires et la fuchsine acide inhibent la croissance des bactéries Gram positif et de la plupart des autres bactéries coliformes non pathogènes qui constituent le microbiome naturel de l'intestin. Le lactose, le saccharose et la salicine contenus dans le milieu permettent de différencier les bactéries en fonction de leur capacité à fermenter les hydrates de carbone. Les bactéries non fermentaires (par exemple, *Salmonella*, *Shigella*) n'entraînent pas de modification du pH du milieu, et donc pas de changement de couleur. En revanche, les coliformes et certaines espèces de *Proteus* sont capables de fermenter les sucres et de produire des acides qui abaissent effectivement le pH du milieu et modifie sa couleur en jaune ou en orange. La fuchsine acide et le bleu de bromothymol sont des indicateurs de pH. Le citrate d'ammonium ferrique et le thiosulfate de sodium permettent de détecter la production de sulfure d'hydrogène. Les bactéries productrices de sulfure d'hydrogène se développent sous forme de colonies à centre noir.

### 3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :	
Hydrolysate enzymatique de tissus animaux	16,5 g
Extrait de levure	3,0 g
Salicine	2,0 g
Mélange de sels biliaires	4,5 g
Agar	13,5 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Citrate d'ammonium ferrique	1,5 g
Fuchsine acide	0,1 g
Bleu de bromothymol	0,065 g

pH 7,6 ± 0,2 à 25°C.

Aspect du milieu : milieu clair de couleur vert foncé.

#### 4. Préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Laisser le milieu revenir à la température ambiante avant de l'utiliser.

#### 5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel de laboratoire standard nécessaire à la réalisation des tests, y compris un incubateur.

#### 6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé.
- Le milieu contient des composants d'origine animale qui peuvent être associés à la présence d'agents biologiques pathogènes. Il doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation du matériel biologique potentiellement infectieux.
- Ne pas utiliser les boîtes si le support présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser de boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser les boîtes après la date de péremption.
- La ré-incubation de boîtes précédemment inoculées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats corrects, suivre ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans ce manuel, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

#### 7. Stockage

Conserver les boîtes à une température comprise entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Conserver les boîtes dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle de la boîte, ne pas ouvrir le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne pas stocker les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

#### 8. Péremption

Le milieu maintenu à une température comprise entre 2°C et 12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à partir de la date de fabrication.

#### 9. Type d'échantillon

Échantillons de milieu clinique d'origine humaine : matières fécales, écouvillons rectaux, cultures de souches cultivées à partir d'échantillons prélevés dans le tractus gastro-intestinal.

Prélever des échantillons à tester conformément aux directives en vigueur. Conserver les échantillons jusqu'à leur livraison au laboratoire conformément à la politique de conservation des échantillons du laboratoire.

Conserver les échantillons de selles dans un réfrigérateur à 4°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ). Conserver les échantillons collectés avec des écouvillons à température ambiante, en suivant les recommandations du fabricant. Inoculer les échantillons dès que possible après leur livraison au laboratoire.

#### 10. Procédure de test

- Laisser le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation.
- Inoculer l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de la gélose.
- Si l'échantillon est prélevé avec un écouvillon, faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste au bord de la boîte, puis inoculer l'échantillon à l'aide d'une anse stérile en utilisant la méthode des stries.
- Incuber la boîte inoculée à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ .
- Vérifier la croissance après 18-24 heures d'incubation

#### 11. Lecture et interprétation

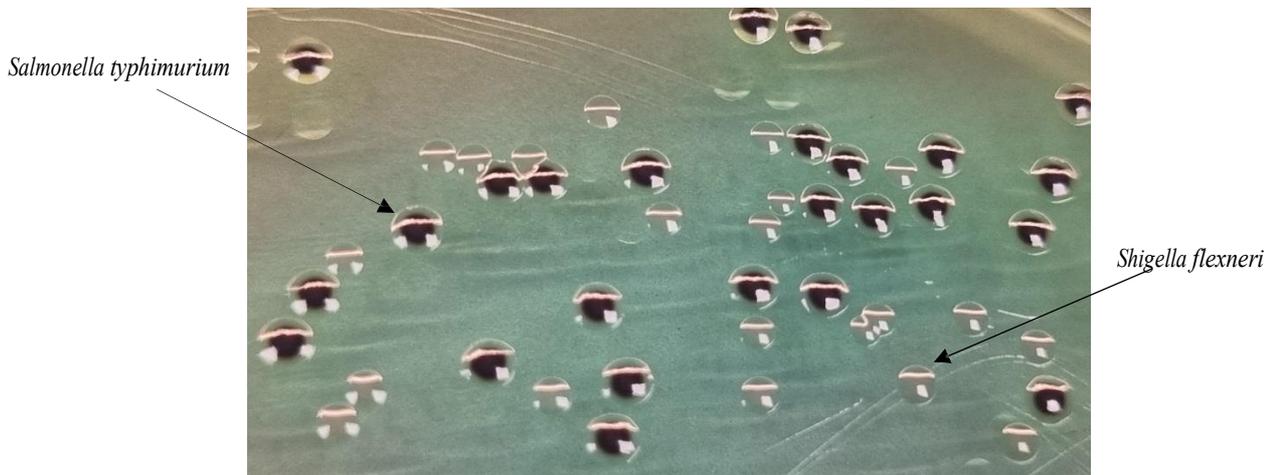
Après incubation, observer :

- La présence de colonies bactériennes,
- La morphologie de la colonie,
- La couleur de la colonie

Morphologie typique des colonies microbiennes cultivées sur la gélose entérique Hektoen :

Micro-organisme	Morphologie et coloration typiques des colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies de grande taille, de couleur jaune à orange saumonée. Certaines souches ne se développent pas.
<i>Klebsiella, Enterobacter</i>	Grandes colonies de couleur jaune à saumon
<i>Proteus</i>	Colonies de couleur bleu-vert à bleu ou saumon, généralement avec un centre noir
<i>Salmonelle</i>	Colonies vertes à bleues, généralement avec un centre noir, éventuellement entièrement noires
<i>Shigella</i>	Colonies vertes et convexes
<i>Pseudomonas</i>	Colonies vertes à brunes, irrégulières
Bactéries Gram-positives	Pas de croissance ou croissance très faible

Pour l'identification définitive des microorganismes cultivés, des tests supplémentaires et/ou des tests de confirmation doivent être effectués à l'aide d'autres méthodes utilisées dans le laboratoire.



Morphologie des colonies et schéma de croissance des bactéries *Salmonella* et *Shigella* sur gélose entérique Hektoen

## 12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles et la sélectivité du milieu doivent être vérifiées à l'aide de souches de référence donnant les réactions positives et négatives attendues. Le test doit être effectué à l'aide de cultures pures, de 18 à 24 heures, de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle qualité du milieu :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie de la colonie :
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	bonne croissance	vert avec centre noir
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	bonne croissance	vert
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	faible croissance	jaune à orange saumoné
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	pas de croissance	-

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions du laboratoire. Les procédures de contrôle qualité doivent répondre aux exigences des réglementations et lignes directrices/recommandations applicables.

## 13 Limites de la méthode

- En raison de la variabilité de la valeur nutritionnelle du milieu, certaines souches peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur la gélose entérique Hektoen

- Les *Proteus* spp. peuvent ressembler aux bactéries *Salmonella* et *Shigella*. C'est pourquoi il est recommandé de procéder à des tests de confirmation supplémentaires.

#### 14. Caractéristiques de la méthode

Les Entérobactérales constituent un vaste groupe de bactéries étroitement apparentées, comprenant plus de quarante genres, dont plus de la moitié sont liés à l'homme. De nombreuses entérobactéries vivent dans le tube digestif de personnes et d'animaux en bonne santé. D'autres, comme *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia*, sont des pathogènes obligatoires responsables de maladies spécifiques. L'infection se produit généralement lors de la consommation d'aliments contaminés par des micro-organismes. Pour diagnostiquer les infections, il est important d'isoler l'agent étiologique à partir du matériel clinique.

Il existe de nombreux milieux disponibles sur le marché qui permettent de diagnostiquer ces micro-organismes. Le choix de l'un d'entre eux dépend de la spécificité du laboratoire et souvent des préférences des employés. L'un des milieux utilisés pour le diagnostic des infections entériques est la gélose entérique Hektoen.

Wartburton D.W. et al. dans Int. J. Food Microbiol. ont comparé six milieux différents utilisés pour isoler les *salmonelles*. Il s'agit de Brilliant Green Sulpha Agar, Byzmuth Sulphite Agar, Hektoen Enteric Agar, Xylose Lysine Deoxycholate Agar, EF-18 Agar et Rambach Agar. 123 souches de *Salmonella* et 28 aliments inoculés avec des *Salmonella* ont été utilisés dans l'étude. Dans les tests quantitatifs, tous les milieux testés étaient comparables. Dans les tests qualitatifs, le meilleur milieu était la gélose EF-18 et la gélose entérique Hektoen. Les autres milieux étaient comparables.

#### 15. Élimination des milieux usagés

Les milieux utilisés et non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations en vigueur en matière de traitement des déchets médicaux et aux procédures de laboratoire relatives à l'élimination des matériaux infectieux et potentiellement infectieux.

#### 16. Déclaration des événements indésirables

Selon la réglementation en vigueur, les événements indésirables et les incidents qui peuvent être directement liés au substrat décrit doivent être signalés au fabricant et aux autorités compétentes.

#### 17. Références

1. King, S., and W. I. Metzger. 1968. A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. Appl. Microbiol. 16:577-578.
2. King, S., and W. I. Metzger. 1968. a new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II. Comparison of Hektoen Enteric Agar with S and EMB Agar. Appl Microbiol. 16:579-581.
3. Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (eds.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
4. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (eds.). 2015. compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4 th ed. American Public Health Association, Washington, D.C..
5. Association of Official Analytic Chemists. 2016 Official methods of analysis of AOAC International, 20th ed. AOAC International, Arlington, VA.
6. Warburton D.W., Bowen B., Konkle A., Crawford C., Durzi S., Foster R., Fox C., Gour L., Krohn G., LaCasse P., A comparison of six different plating media used in the isolation of Salmonella, Int. J. Food Microbiol., Jun 1994, 277-89

#### Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
07/04/2023	Document complet	Adaptation aux exigences du règlement (UE) 2017/746

## NOTE

L'historique des révisions du document n'inclut pas les changements éditoriaux.

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant du dispositif médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date à laquelle le dispositif médical a été fabriqué	5.1.3
	Numéro de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé.	5.1.6
	Lot	Indique le code de lot du fabricant afin de permettre l'identification du lot.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un dispositif médical destiné à être utilisé comme dispositif médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un dispositif médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Suffisantes pour <n> tests	Indique le nombre total de tests qui peuvent être effectués avec le dispositif médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit pas être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Conformité avec les exigences de l'UE)	Le marquage CE apposé sur un produit est une déclaration du fabricant selon laquelle le produit est conforme aux exigences essentielles de la réglementation de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	nd.
	Consultez la notice d'utilisation	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter la notice d'utilisation	5.4.3
	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptiques	Indique un dispositif médical qui a été fabriqué en utilisant des techniques aseptiques reconnues.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation	Indique qu'un dispositif médical ne doit pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur doit consulter la notice d'utilisation pour obtenir des informations sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un dispositif médical contenant des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale.	5.4.8



Graso Zenon Sobiecki  
Cercle 4A ; 83-200 Starogard  
Gdanski [www.grasobiotech.pl](http://www.grasobiotech.pl)  
tél. + 48 (58) 562 30 21

Département de la production  
Leśna 1, Owidz  
83-211 Jabłowo

