
GELOSE HEKTÖEN

DETECTION DE *SALMONELLA* ET DE *SHIGELLA*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Hektöen est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes. Elle est utilisée en santé animale dans le cadre de la recherche de *Salmonella* chez les mammifères (NF U47-102). Ce milieu est aussi préconisé pour la recherche de *Shigella*, en microbiologie des aliments (NF EN ISO 21567). La gélose Hektöen peut être utilisée comme second milieu au choix dans les méthodes normalisées de recherche des salmonelles.

2 HISTORIQUE

La gélose Hektöen a été formulée en 1967 par King et Metzger, à l'Institut Hektöen, afin d'augmenter la fréquence d'isolement des *Shigella* et des *Salmonella* comparativement à celle obtenue avec d'autres milieux d'isolement sélectif. Ce milieu, qui permettait d'isoler un large éventail d'entérobactéries pathogènes, était en contrepartie moins inhibiteur vis-à-vis des germes entériques non pathogènes. La formulation actuelle diffère de l'originale par l'élimination du désoxycholate et par la concentration en sels biliaires qui a été réduite. Parallèlement, la concentration en peptones a été augmentée afin de contrebalancer l'effet inhibiteur des sels biliaires.

3 PRINCIPES

L'inhibition de la flore à Gram positif est due à la présence des sels biliaires qui peuvent également inhiber légèrement la croissance de quelques souches de microorganismes à Gram négatif.

Le milieu contient trois glucides : lactose, saccharose et salicine. La forte concentration en lactose favorise la visualisation des entérobactéries en évitant le problème des fermentations tardives. Les autres glucides ont été introduits afin d'assurer une différenciation plus performante et de réduire la toxicité engendrée par les indicateurs colorés, de manière à obtenir une excellente récupération des *Shigella*.

Le principe de lecture est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu. Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur saumon, les autres donnant des colonies bleues ou vertes. Le système d'indicateurs colorés, composé de bleu de bromothymol et de fuchsine acide permet de colorer en saumon les entérobactéries lactose-positif et en bleu vert les microorganismes lactose-négatif.

En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène réduisent le citrate ferrique ammoniacal et se manifestent par un noircissement dû à l'apparition de sulfure de fer au centre des colonies.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande 12,0 g
- Extrait autolytique de levure..... 3,0 g
- Lactose..... 12,0 g
- Saccharose 12,0 g
- Salicine..... 2,0 g
- Sels biliaires 9,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Thiosulfate de sodium 5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal 1,5 g
- Bleu de bromothymol 65 mg
- Fuchsine acide 0,1 g
- Agar agar bactériologique 13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,4-7,7.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 75,1 g de milieu déshydraté (BK067) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

✓ **Reconstitution :**
75,1 g/L

✓ **Stérilisation :**
Ne pas autoclaver

6 MODE D'EMPLOI

- Ensemencer en stries l'inoculum sur les boîtes ainsi préparées, à partir des milieux d'enrichissement utilisés pour la recherche de *Salmonella* ou de *Shigella*.
- Incuber à 37 ± 1 °C pendant 21 à 24 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 h à 37 °C

7 LECTURE

Les salmonelles présentent des colonies vertes ou bleuâtres, avec un centre noir pour la majorité des souches.
Les shigelles présentent des colonies vertes ou bleuâtres, humides, sans centre noir.
Les coliformes présentent des colonies jaune-saumon.

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies jaune-saumon	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Arizona</i> , <i>Serratia</i>
Colonies jaune-saumon à centre noir	<i>Proteus vulgaris</i>
Colonies vertes à centre noir	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella</i>
Colonies vertes ou bleuâtres	<i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Proteus</i> <i>morganii</i> , <i>Proteus rettgeri</i>
Petites colonies bleues ou brunâtres	<i>Pseudomonas</i> (oxydase positive)

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose vert-foncé.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C

Microorganismes	Croissance	Colonies caractéristiques
<i>Salmonella</i> Typhimurium WDCM 00031	Bonne, score 2	Vertes à centre noir
<i>Salmonella</i> Enteritidis WDCM 00030	Bonne, score 2	Vertes à centre noir
<i>Shigella sonnei</i> WDCM 00127	Bonne, score 2	Vertes
<i>Shigella flexneri</i> WDCM 00125	Bonne, score 2	Vertes
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	Partiellement inhibée, score 0-1	Orange-saumon
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087	Inhibée, score 0	-
<i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034	Inhibée, score 0	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

Milieu préparé en flacon (*) : Non recommandé.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK067HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

King, S., and Metzger, W.I.. 1968. A New Plating Medium for the Isolation of Enteric Pathogens: I. Hektoen Enteric Agar. Applied and Environmental Microbiology, **16** : 577-578.

King, S., and Metzger, W.I.. 1968. A New Plating Medium for the Isolation of Enteric Pathogens: II. Comparison of Hektoen Enteric Agar with SS and EMB Agar. Appl. Microbiol., **16** : 579-581.

Taylor, W.I., and Schelhart, D.. 1971. Isolation of *Shigellae*. VIII. Comparison of Xylose Lysine Deoxycholate Agar, Hektoen Enteric Agar, Salmonella-Shigella Agar and Eosin Methylene Blue Agar with stool specimens. Applied Microbiology, **21** : 32-37.

Bisciello, N.B., and Schrade, T.P.. 1974. Evaluation of Hektoen enteric Agar for the detection of *Salmonella* in foods and feeds. Journal of A.O.A.C., **57** : 992-996.

NF EN ISO 21567. Mars 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

NF U47-102. Janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : recherche des *Salmonella* spp.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

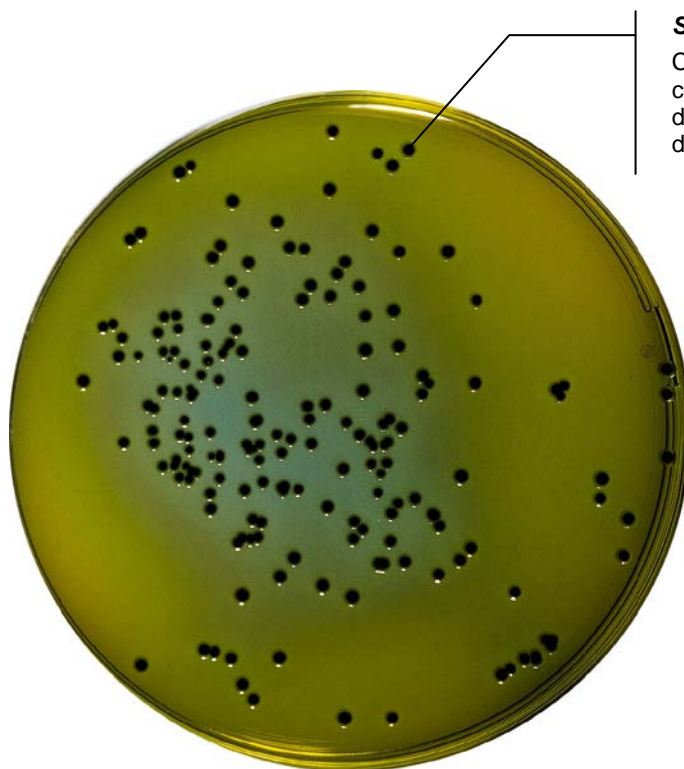
Code document : HEKTOEN_FR_V11
Date création : 03-2003
Date de révision : 02-2018
Motif de révision : Références bibliographiques.

Gélose Hektöen

Détection des entérobactéries pathogènes

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37°C.



Salmonella Typhimurium

Colonie caractéristique :
couleur verte à centre noir, qui
devient entièrement noire en fin
d'incubation.