

Principe

Milieu solide pour la confirmation et le dénombrement des entérocoques dans les échantillons cliniques et les échantillons d'eau par la méthode de filtration sur membrane selon ISO.

Formule * en g/L

Tryptone.....	17,00
Peptone.....	3,00
Extrait de levure.....	5,00
Bile.....	10,00
Chlorure de sodium.....	5,00
Esculine.....	1,00
Ammonium ferric citrate.....	0,50
Azoture de sodium.....	0,15
Agar.....	15,00

pH final 7,1 ±0,1 à 25 °C

*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

Préparation

Suspendre 56,6 g de poudre dans 1 L d'eau distillée et porter à ébullition. Répartir dans des récipients adaptés et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

Description

La gélose Bile Esculine Azide est une modification de la Bile Esculine classique proposée par Isenberg, Goldberg et Sampson en 1970, mais avec une réduction de la quantité de bile et l'ajout d'Azoture de sodium. Brodsky et Schieman ont montré que ce milieu, également connu comme Pfizer Enterococci Selective Medium a donné les meilleurs résultats en utilisant la technique de filtration sur membrane.

La formulation proprement dite selon la norme ISO 7899-2: 2000 est utilisée pour la deuxième étape de la confirmation et du dénombrement des entérocoques dans l'eau par la méthode de filtration sur membrane. Les colonies préalablement sélectionnées dans la gélose Slanetz Bartley doivent être confirmées par une courte incubation sur un milieu biliaire azide esculin pour vérification de l'hydrolyse esculine dans un environnement sélectif.

Utilisation

Après une incubation de 24 à 48 heures sur Gélose Slanetz Bartley, le filtre à membrane présentant des colonies typiques est transféré, avec des pinces stériles en position verticale, sur une plaque préchauffée de Bile Esculine Azide Agar. Après deux heures d'incubation à 44 ± 0,5 °C la membrane filtrante est inspectée. Toutes les colonies typiques de couleur brune à noire dans le milieu environnant sont considérées comme positives et donc des entérocoques intestinaux.

Une distribution hétérogène des colonies ou la présence de micro-organismes abondants et différents peuvent interférer avec la différenciation des colonies positives.

Contrôle qualité

Température d'incubation: 44°C ±0,5

Temps d'incubation: 2 h

Inoculum: MF jusque SB, incuber immédiatement dans un milieu BEA préchauffé à 44 °C. ≥ 10³ CFU (spécificité) selon ISO 11133: 2014/ Adm.2:2020.

Micro-organismes

Escherichia coli ATCC® 25922
Enterococcus faecalis ATCC® 29212
Enterococcus faecalis ATCC® 19433
Enterococcus faecium ATCC® 6057
Aerococcus viridans ATCC® 11563

Croissance

Inhibée
 Bonne
 Bonne
 Bonne
 Faible à Bonne

Remarques

-
 Halo noir. E (+)
 Halo noir. E (+)
 Halo noir. E (+)
 Pas de changement Milieu. E (-)

Références

- ATLAS, R.M. & J.W. SNYDER (1995) Handbook of Media for Clinical Microbiology. CRC Press. Boca Raton, Fla, USA.
- ALVAREZ, M.V., E. BOQUET, I. de FEZ (1988) Manual de Técnicas en Microbiología Clínica., AEFA, San Sebastian.
- BRODSKY M.H. & D.A. SCHIEMANN (1976) Evaluation of Pfizer Selective Enterococcus and KF media for recovery of fecal streptococci from water by membrane filtration. Appl. Environ. Microbiol. 31 :695-699.
- CHAPIN, K.C. & T-L. LAUDERDALE (2003) Chap. 27: Reagents, Stains and Media : Bacteriology in Manual of Clinical Microbiology 8th edition Volume 1, edited by Murray-Baron-Jorgensen-Pfaller-Yolken. ASM. Washington DC, USA
- FORBES, B.A., D.F. SAHM, & A.S. WEISSFELD (1998) Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology 10th edition. Mosby. St. Lous. USA
- ISENBERG, H.D., D. GOLDBERG & J. SAMPSON (1970) Laboratory studies with a Selective Enterococcus Medium. Appl. Microbiol. 20:433.
- ISENBERG, H. D. (1992) Clinical Microbiology Procedures Handbook, Volume 1. ASM Press, Washington USA.
- ISO Standard 7899-2 (2000) Water Quality. Detection and enumeration of intestinal enterococci. Part 2: Membrane filtration method.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018/ Adm 2:2020/ Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- MURRAY, P.R., E.J. BARON, J.H. JORGENSEN, M.A. PFALLER & R.H. YOLKEN (2003) Manual of Clinical Microbiology 8th Edition, Volume 1, ASM Press, Washington DC., USA
- McFADDIN, J.F. (1985) Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Volume 1. Williams & Wilkins. Baltimore. USA
- PRATT-RIPPIN, K. & M. PEZLO (1992) Identification of Commonly Isolated Aerobic Grampositive Bacteria, in Clinical Microbiology Procedures Handbook, Volume 1 edited by H. D. Isenberg, ASM Press, Washington USA
- RUOFF, K.L., R.A. WHILEY & D.BEIGHTON (2003) Chap. 29: Streptococcus in Manual of Clinical Microbiology 8th edition Volume 1, edited by Murray-Baron-Jorgensen-Pfaller-Yolken. ASM. Washington DC, USA
- WINN, W. Jr., S.ALLEN, W. JANDA, E. KONEMAN, G. PROCOP, P. SCHRECKENBERGER, G. WOODS (2006) Konemasn'sa Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadcelphia. USA.

Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).