

MILIEU D'IDENTIFICATION DES *ENTÉROBACTÉRIES*



2016/07

1- APPLICATION

Le milieu Urea Indole permet la mise en évidence de l'uréase, de la tryptophane désaminase et de la production d'indole (le milieu contribue à la mise en évidence des caractères d'identification des Entérobactéries).

2- PRINCIPE

Les bactéries possédant une uréase transforment l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration **rouge violacé** du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH). La production d'indole est mise en évidence par l'addition de réactif de Kovacs (code 55313) qui agit avec l'indole en donnant une coloration **rouge** dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive. La présence de tryptophane désaminase (TDA) est mise en évidence par addition de perchlorure de fer qui provoque une coloration **brun rouge** du milieu en cas de réaction positive.

3- PRÉSENTATION

- Milieu prêt à l'emploi :
 - Coffret de 50 ampoules de 1 ml code 63713
 - Coffret de 10 ampoules de 10 ml code 63714

4- COMPOSITION (en g/l d'eau distillée)

| | |
|---------------------------------|-------|
| L-Tryptophane | 3 |
| KH ₂ PO ₄ | 1 |
| K ₂ HPO ₄ | 1 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Urée | 20 |
| Alcool à 95° | 10 ml |
| Rouge de phénol | 0,05 |
| pH final : 6,8 ±0,2 | |

Préparation du milieu :

Distribuer stérilement de 0,25 à 0,50 ml de milieu Urea Indole dans des tubes à hémolyse, chacun devant servir à l'étude de souches différentes et/ou à la réalisation de différents tests :

- Un premier tube peut, pour une souche donnée, être utilisé pour la mise en évidence de l'uréase et pour la production d'indole.
- Un second tube est, pour cette même souche, réservé à la recherche de la T.D.A.

5- CONSERVATION

- Milieu prêt à l'emploi : à + 2 - 8°C.

La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

6- UTILISATION

Matériel :

- Matériel fourni : milieu Urea Indole
- Matériel spécifique non fourni :
 - Tubes à hémolyse
 - Réactif Kovacs (code 55313)
 - Ferric Chloride Solution

Ensemencement :

Ensemencer chaque tube abondamment à partir d'une culture pure et fraîche prélevée sur un milieu d'isolement.

Incubation :

Incuber 24 heures à 37°C.

Lecture :

1. **Présence d'une uréase** : le milieu vire au **rouge violacé**:
 - en 5 à 10 minutes pour *Proteus morganii* et *Yersinia enterocolitica*
 - en 2 à 4 heures pour les autres *Proteus*
 - en 12 à 18 heures pour les *Klebsiella* et quelques *Citrobacter*.
 En absence d'uréase, la coloration du milieu reste inchangée.
2. **Recherche de la production d'indole** : après 24 heures d'incubation, verser 4 à 5 gouttes de réactif Kovacs (code 55313) dans le tube de milieu Urea Indole ensemencé : la présence d'indole est révélée par l'apparition d'une coloration **rouge** à la surface du milieu.
3. **Recherche de la T.D.A.** : après 24 heures d'incubation, verser dans le tube du milieu Urea Indole 1 à 2 gouttes de Ferric Chloride Solution (code 53913) :
 - coloration **brun rouge** : T.D.A. (+)
 - coloration **jaune orangée** : T.D.A. (-)

| Enterobacteriaceae | Uréase | TDA | Indole |
|--|---------------|------------|---------------|
| <i>Salmonella</i> SE I en général | - | - | - |
| <i>S. typhi</i> | - | - | - |
| <i>S. paratyphi</i> A | - | - | - |
| <i>S. arizonae</i> | - | - | - |
| <i>Citrobacter</i> | - | - | - |
| <i>Edwardsiella</i> | - | - | + |
| <i>Escherichia coli</i> | - | - | + |
| <i>Alkalescens dispar</i> | - | - | + |
| <i>S. dysenteriae</i> | - | - | d |
| <i>S. boydii, flexneri</i> | - | - | d |
| <i>S. sonnei</i> | - | - | - |
| <i>Proteus vulgaris</i> | + | + | + |
| <i>Proteus mirabilis</i> | + | + | - |
| <i>Proteus rettgeri</i> | + | + | + |
| <i>Proteus morganii</i> | + | + | + |
| <i>Providencia</i> | - | + | + |
| <i>Levinea</i> | - | - | + |
| <i>Y. enterocolitica</i> | + | - | d |
| <i>Y. pseudotuberculosis</i> | + | - | - |
| <i>K. pneumonia</i> | + lent | - | - |
| <i>K. oxytoca</i> | + lent | - | + |
| <i>E. aerogenes</i> | - | - | - |
| <i>K. ozaenae</i> | D | - | - |
| <i>K. rhinoscleromatis</i> | - | - | - |
| <i>E. cloacae</i> | - | - | - |
| <i>E. agglomerans</i> | - | - | - |
| <i>Hafnia alvei</i> | - | - | - |
| <i>Serratia marcescens</i> et liquefaciens | - | - | - |
| Vibrionaceae | Uréase | TDA | Indole |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | - | - | + |
| <i>A. sobria</i> | - | - | + |
| <i>A. salmonicida</i> (culture à 22°C) | - | - | - |
| <i>Plesiomonas shigelloides</i> | - | - | + |
| <i>Vibrio cholerae</i> 01 | - | - | + |
| <i>Vibrio</i> NAG | - | - | + |
| <i>V. parahaemolyticus</i> | - | - | + |
| <i>V. alginolyticus</i> | - | - | + |
| <i>V. anguillarum</i> | - | - | + |

7- PERFORMANCES / CONTRÔLE QUALITÉ DU TEST

- Aspect du milieu prêt à l'emploi : bouillon limpide **orange**.
- Les performances culturales du milieu Urea Indole sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

| SOUCHES | RÉSULTAT DE LA CULTURE EN 24 H À 37°C | | |
|--|---------------------------------------|--------|-----|
| | Uréase | Indole | TDA |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™ | - | + | - |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC® 14028™ | - | - | - |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 13883™ | + | - | - |
| <i>Proteus vulgaris</i> ATCC® 13315™ | + | + | + |
| <i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 25933™ | + | - | + |

8- CONTRÔLE QUALITÉ 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 de produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et 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 par le fabricant.

9- LIMITES D'UTILISATION

- Après une incubation prolongée, l'alcalinisation du milieu peut être provoquée par une hydrolyse des protéines et non par la présence d'une uréase. Seule l'alcalinisation rapide du milieu en 24h maximum est caractéristique de l'activité uréasique des bactéries.
- Ne pas chauffer ou réchauffer le milieu car cela entraînerait une décomposition de l'urée.
- En cas de doute sur le résultat, il est conseillé de comparer le tube suspect avec un tube témoin non inoculé.



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33
www.bio-rad.com



2016/07

