



BBL Urea Agar Base Concentrate 10X BBL Urea Agar Slants, Complete

L007521 • Rev. 11 • septembre 2015



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE (Facultatif)

I INTRODUCTION

La gélose Urea Agar est un milieu différentiel pour les membres de la famille des *Enterobacteriaceae* basé sur la capacité de ceux-ci à produire de l'uréase.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

A. Mode d'emploi pour la préparation d'un milieu complet à partir d'Urea Agar Base Concentrate 10X

1. Pour préparer un milieu d'Urea Agar, ajouter 1,7 g de gélose granulée à 100 mL d'eau purifiée. Chauffer sous agitation et laisser bouillir pendant 1 mn.
2. Distribuer dans des tubes par aliquotes de 9 mL et stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 mn.
3. Laisser refroidir la gélose jusqu'à une température de 45 à 50 °C, et laisser un tube de concentré refroidir jusqu'à température ambiante. Ajouter 1 mL de concentré à chaque solution de 9 mL de gélose refroidie et bien mélanger.
4. Laisser refroidir les tubes sur un plan incliné pour permettre la formation de pentes avec des culots profonds.

B. Test du milieu complet (Urea Agar Slants)

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide d'une anse calibrée (0,01 mL), ensemencer les surfaces inclinées avec des inoculum lourds en utilisant des cultures de **Trypticase** Soy Agar Slant âgées de 24 à 48 heures. Ne pas ensemencer le culot.
 - b. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
2. Au bout de 2, 4, 6 et 24 h, examiner les tubes afin de contrôler la croissance et les réactions.
3. Résultats attendus

Organismes de contrôle (souches ATCC)

Production d'uréase

**Proteus vulgaris* + (couleur intense allant du rose-rouge au rouge-violet)
ATCC 8427

Morganella morganii subsp. *morganii* + (couleur intense allant du rose-rouge au rouge-violet)
ATCC 8019

**Salmonella enterica* subsp. *enterica* – (pas de changement de couleur)
sérotypage Typhimurium
ATCC 13311

*Souche recommandée pour le contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur.

REMARQUE : Ce milieu n'est pas soumis aux tests de Contrôle Qualité par l'utilisateur selon CLSI M22-A3.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Déterminer le pH par potentiométrie à température ambiante afin de respecter la spécification de $6,8 \pm 0,2$.
4. Incuber des tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATION PRODUIT

IV APPLICATION

La Urea Agar (gélose d'urée) est utilisée pour différencier des organismes, et plus particulièrement les membres de la famille des *Enterobacteriaceae*, sur la base de la capacité à produire de l'uréase.

V RESUME ET EXPLICATION

La gélose Urea Agar a été conçue par Christensen pour être utilisée en tant que milieu semi-solide destiné à la différenciation des bacilles entériques.¹ Elle différencie les organismes *Proteaeae* uréase-positifs rapides (*Proteus* subsp. *Morganella morganii* subsp. *morganii*, *Providencia rettgeri* et certaines *Providencia stuartii*) des autres organismes uréase-positifs : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* et des bactéries autres que les *Enterobacteriaceae*, c'est-à-dire certaines espèces *Bordetella* et *Brucella*.²

La base est également fournie sous la forme de tubes de solution concentrée à 10X et stérilisée par filtration, à utiliser pour la préparation de géloses inclinées Urea Agar Slants en laboratoire.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Le milieu d'urée de Rustigian et Stuart³ convient particulièrement à la différenciation des espèces *Proteus* des autres bacilles entériques Gram négatifs capables d'utiliser l'urée ;¹ ces derniers ne peuvent pas utiliser l'urée dans un bouillon Urease Test Broth en raison de la faible quantité d'éléments nutritifs et du fort pouvoir tampon du milieu. Pour élargir l'utilité de ce milieu, Christensen¹ a mis au point une gélose Urea Agar contenant de la peptone et du dextrose et présentant un pouvoir tampon réduit pour accélérer la croissance de nombreux *Enterobacteriaceae* et diminuer la durée d'incubation.

Lorsque les organismes utilisent l'urée, de l'ammoniaque se forme lors de l'incubation. Le milieu a alors une réaction alcaline produisant une couleur rose-rouge. La production d'urée peut de ce fait être détectée par le changement de couleur de l'indicateur au rouge de phénol.

VII REACTIFS

Urea Agar Base Concentrate 10X

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine	10,0	g
Dextrose	10,0	g
Chlorure de sodium	50,0	g
Phosphate de potassium	20,0	g
Urée	200,0	g
Rouge de phénol	0,12	g

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

Urea Agar Slants, Complete

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine	1,0	g
Dextrose	1,0	g
Chlorure de sodium	5,0	g
Phosphate de potassium	2,0	g
Urée	20,0	g
Rouge de phénol	0,012	g
Gélose	15,0	g

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé avant de les éliminer.

221100 BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, boîte de 10 tubes de taille K

Attention



H315 Provoque une irritation cutanée. **H319** Provoque une sévère irritation des yeux.

P103 Lire l'étiquette avant utilisation. **P264** Se laver soigneusement après manipulation.

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection

des yeux/du visage. **P305+P351+P338** EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Instructions pour la conservation

Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Les milieux en tube conservés conformément aux instructions jusqu'au moment de leur utilisation peuvent êtreensemencés jusqu'à la date de péremption indiquée et incubés pendant les durées recommandées. Maintenir à l'abri de la lumière.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la mise en culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{4,5} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Urea Agar Base Concentrate 10X ou

Urea Agar Slants, Complete

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie.

Si l'Urea Agar Base Concentrate 10X est utilisé, préparer le milieu complet comme décrit à la section Contrôle de qualité. Si des cristaux se forment dans le concentré, ils se dissoudront peu à peu à température ambiante, ou en quelques minutes dans un bain-marie à 40 °C.

Strier la surface de la pente par mouvements de va-et-vient à l'aide d'un inoculum lourd de croissance provenant d'une culture pure âgée de 18 à 24 h (TSI Agar ou autre milieu approprié). Ne pas piquer le culot car il sert de contrôle de la couleur. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, à une température de 35 ± 2 °C dans un incubateur ou au bain-marie. Observer les réactions après 2, 4, 6 et 24 h, puis tous les jours pendant 6 jours en tout. Des périodes d'incubation encore plus longues peuvent s'avérer nécessaires.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Chaque lot de milieu a été testé à l'aide des organismes de contrôle de qualité adaptés et ces tests sont conformes aux spécifications du produit, ainsi qu'aux normes CLSI, lorsqu'elles sont applicables. Comme toujours, les tests de CQ doivent être réalisés conformément aux réglementations locales, régionales, nationales ou internationales, aux exigences d'accréditation et/ou aux protocoles de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement.

X RESULTATS

La production d'uréase est indiquée par une intense couleur rose-rouge (rouge-violet) sur la pente. Il se peut que la couleur pénètre dans la gélose (culot) ; la propagation de la couleur indique le taux d'hydrolyse de l'urée.⁶

Si la couleur reste la même, cela indique une réaction négative ; le milieu gélosé reste d'une couleur jaune pâle à chamois.

Pour obtenir la liste des organismes uréase-positifs, consulter les publications citées en référence.^{5,7,8}

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

1. Ces milieux de test de l'urée se basent sur la mise en évidence d'alcalinité ; ils ne sont donc pas spécifiques à l'uréase. L'utilisation de peptones, particulièrement avec la gélose inclinée (*Pseudomonas aeruginosa*, par exemple), ou d'autres protéines dans le milieu peut entraîner une hausse du pH vers l'alcalinité du fait de l'hydrolyse des protéines et de la production d'une quantité excessive de résidus aminoacides. Cela entraîne une réaction faussement positive.²
2. Avec la gélose Urea Agar, les organismes *Proteeae* uréase-positifs font virer le pH du milieu à un pH alcalin peu de temps après l'ensemencement. Pour que les résultats de la détection de *Proteeae* soient valides, ceux-ci doivent être interprétés dans les 6 h suivant l'incubation. Il se peut que *Citrobacter freundii* et *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* produisent des réactions positives après 24 à 48 h.²
3. Pour procéder à l'identification, les organismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Pour plus d'informations, et pour connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.^{4,5,7}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Kantor et al. ont développé un programme rapide et simplifié faisant appel à un minimum de trois tests et à un maximum de sept tests, que les laboratoires peuvent utiliser de façon routinière pour identifier les bactéries Gram négatives non fermentatives. Au total, 229 organismes Gram négatifs non fermentatifs inconnus ainsi que 14 souches de référence ont été identifiés à l'aide de ce programme. L'Urea Agar a été utilisée pour différencier l'espèce *Alcaligenes* et la *Pseudomonas alcaligenes* de *Bordetella bronchiseptica*.⁹

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
221100	BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, boîte de 10 tubes de taille K
221096	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, boîte de 10 tubes de taille K
221097	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, carton de 100 tubes de taille K

XIV REFERENCES

1. Christensen, W.B. 1946. Urea decomposition as a means of differentiating *Proteus* and paracolon cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* types. *J. Bacteriol.* 52:461-466.
2. MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacterial*, 3rd ed., Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Rustigian, R., and C.A. Stuart. 1941. Decomposition of urea by *Proteus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 47:108-112.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
6. Ewing, W.H. 1985. *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual™ of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Farmer, J.J., III. 1999. Enterobacteriaceae: introduction and identification, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Kantor, L.T., S.D. Kominos, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Am. J. Med. Technol.* 41:3-9.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD