

Microbiologie

Bactident® E. coli

Coffret d'identification rapide de E. coli

Contenu:

50 bandelettes indicatrices
50 cuvettes
1 portoir
1 flacon compte-gouttes de réactif de KOVACS (5 ml)

Composition:

La zone réactionnelle d'une bandelette-test Bactident® E. coli contient:

Méthyl-4-umbelliféryl-β-D-glucuronide 3,0 nmol
L-Tryptophane 0,4 μmol
Substances tampons
Détergent

Le réactif de KOVACS contient (mol/l):

Diméthylaminobenzaldéhyde 0,07
N-Butanol 1,6
Acide chlorhydrique, 37 % 0,6

Principe:

L'identification d'E. coli s'effectue par la mise en évidence de l'enzyme β-D-glucuronidase et de la tryptophanase (formation d'indole). Dans la famille des entérobactéries, l'activité β-D-glucuronidase constitue un caractère spécifique d'E. coli.

94 % de toutes les souches E. coli possèdent cette enzyme. Par ailleurs, seules quelques espèces isolées de Salmonella et Shigella présentent une réaction positive à la β-D-glucuronidase. La formation d'indole à partir du tryptophane est positive pour 99 % de toutes les souches E. coli.

Avec les présentes bandelettes, le substrat méthyl-4-umbelliféryl-β-D-glucuronide (MUG) est scindé en présence de β-D-glucuronidase. Une fluorescence bleu clair à la lumière UV (360 nm) indique la présence de cette enzyme. La mise en évidence de la formation d'indole s'effectue, après addition du réactif de KOVACS, par développement d'une coloration rouge dans la suspension.

Application:

Une colonie isolée bien développée est mise en suspension dans 0,2 ml d'eau désionisée pour former une opalescence nette (étalon 2 MacFarland).

Stabilité: voir date de péremption.

Ne prélever que la quantité de bandelettes nécessaire à chaque besoin. Ne pas toucher les zones réactionnelles de la bandelette. Bien refermer aussitôt les récipients. Attention à observer la température de conservation indiquée sur l'emballage.

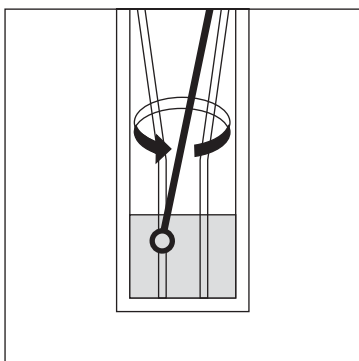
Elimination inoffensive pour l'environnement:

Après utilisation, la bandelette indicatrice et la cuvette doivent être éliminées de manière inoffensive comme un matériel contenant des bactéries. Cela peut être effectué en la brûlant, en la passant à l'autoclave ou en la trempant dans une solution de désinfectant à 5–6 % – au moins 6 heures.

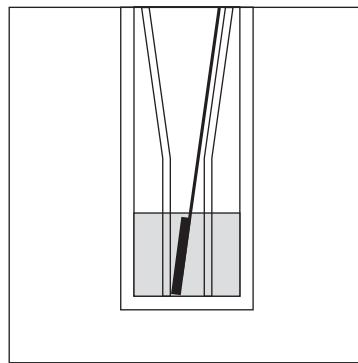
Technique:



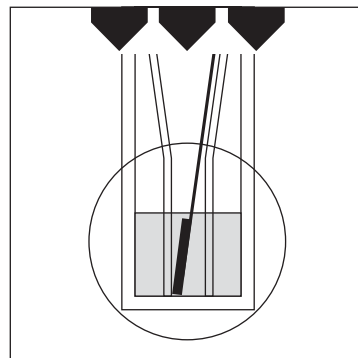
1. Avec l'anse à ensemencer, prélever du milieu nutritif des colonies isolées bien développées (figure 1).



2. Dans 200 μl d'eau désionisée, mettre en suspension la masse bactérienne dans une cuve à réaction et placer celle-ci sur le support (figure 2).

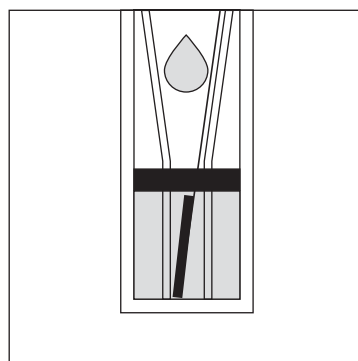


3. Introduire la bandelette test dans la fente prévue sur la cuvette à réaction. La bandelette test est fixée au milieu de la cuve par la fente de guidage (figure 3).



4. Incuber à 37 °C pendant 30 à 120 minutes, selon le milieu de culture utilisé (voir tableau 1).

5. Appréciation de la réaction sous une lampe UV de grande longueur d'ondes (env. 360 nm). Une fluorescence bleu indique la présence de, β-D-glucuronidase (figure 4).



6. Pour mettre en évidence l'indole formé, ajouter une goutte de réactif de KOVACS dans la cuve (à partir du flacon compte-gouttes contenu dans l'emballage). Une réaction positive est indiquée par une coloration rouge après 1 à 2 minutes (figure 5).

Tableau 1:

Activité β-D-glucuronidase d'E. coli (ATCC 25922) après culture sur différents milieux nutritifs

Milieux nutritifs	Temps d'incubation [min]			
	30	60	90	120
Agar au sang	+	++	++	++
Agar au chocolat	+	++	++	++
Agar CASO (trypticase soja)	+	++	++	++
Agar nutritif standard I	+	++	++	++
Agar nutritif standard II	+	++	++	++
Agar brovacine (CLED)	–	(+)	++	++
Agar Mac-CONKAY	–	–	+	++
Entéro-agar HEKTOEN	–	–	(+)	+
Agar EMB	–	–	(+)	+
Agar XLD	–	–	+	++
Agar lactose-désoxycholate	–	–	+	++

Activité enzymatique: – négative
+ positive – fluorescence nette
++ positive – fluorescence très forte

Remarque:

La durée de réaction dépend du milieu de culture utilisé. Si l'on effectue le test sur une colonie cultivée sur des milieux nutritifs pauvres en hydrates de carbone (agar au sang, agar chocolat, agar trypticase soja, agar standard I, agar standard II), la réaction peut être appréciée après un temps d'incubation de 30 à 60 minutes au maximum. Pour les colonies qui sont isolées sur un milieu nutritif avec une teneur élevée en hydrates de carbone (agar Mac-CONKEY, entéro-agar HEKTOEN, agar EMB, agar XLD, agar lactose-désoxycholate) le temps d'incubation nécessaire est de 90 à 120 minutes.

Lors de l'utilisation de milieux nutritifs contenant l'hydrolysate de caséine hydrolysé acide comme peptone principale (agar MUELLER-HINTON), pour les temps d'incubation employés, la réaction de l'indole peut être seulement faible ou négative.