

## LDC - ODC - ADH / Bouillon

355-3725

**DOMAINE D'APPLICATION**

Milieux utilisés lors du diagnostic différentiel des espèces appartenant aux familles des *Enterobacteriaceae*, des *Vibrionaceae*, des *Pseudomonadaceae*... lors du contrôle des produits alimentaires et des eaux.

**REFERENCE(S) NORMATIVE(S)****MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE**

- **NF EN ISO 6579 (Juillet 2002):** Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

**PRESENTATION****Prêt à l'emploi**

5 ml x 3 tubes

355-3725

**CONSERVATION/VALIDITE/LOT**

- Prêt à l'emploi : à + 2 - 8°C
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement

**FORMULES THEORIQUES**

	ODC	ADH	LDC
L-ornithine (monochlorhydrate)	5 g	-	-
L-arginine (monochlorhydrate)	-	5 g	-
L-lysine (monochlorhydrate)	-	-	5 g
Extrait de levure	3 g	3 g	3 g
NaCl *	5 g	5 g	5 g
Glucose	1 g	1 g	1 g
Bromocrésol pourpre (1,6 g /100 ml of 95° alcohol)	1 ml	1 ml	1 ml
Eau distillée	1000 ml	1000 ml	1000 ml
PH <sub>(25 °C)</sub> final =	6.8± 0.2	6.9± 0.2	6.9 ± 0.2

\* Le NaCl est ajouté à ces milieux pour permettre la croissance des bactéries halophiles telles que *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*...

Les milieux, répartis sous le volume 4,5 ml dans des tubes à vis 95 x 10 mm, sont stérilisés par autoclavage de 15 minutes à 121°C.

**PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST**

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 h à 37°C		
	LDC	ODC	ADH
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	-	-	-
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	-	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	+	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	+

**CONTROLE QUALITE 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 du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il 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.

**MOTS CLES**

LDC / ODC / ADH / *Enterobacteriaceae* / Produits alimentaires / Eaux / Glucose / Milieu.

**BIBLIOGRAPHIE**

- **EWING, W.H., DAVIS, B.R., EDWARDS, P.R. (1960):** The decarboxylase reactions of *Enterobacteriaceae* and their value in taxonomy. Pub. Health. Lab. 18: 77-83.
- **FALKOW, S. (1958):** Activity of lysine decarboxylase as an aid identification of *Salmonella* and *Shigella*. Amer J. Clin. Path. 29 : 589-600.
- **MOELLER, V. (1955):** Simplified tests for some amino acid-decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. Acta path. Microbiol. Scand. 36: 158-172.

• **RICHARD, C. (1968):** Techniques rapides de recherche des lysine décarboxylase, ornithine-décarboxylase et arginine-dihydrolase dans les genres *Pseudomonas*, *Alcaligenes* et *Moraxella*. Ann. Ins. Pasteur 114: 425-430.

### APPLICATIONS

#### FACULTATIVE GRAM-NEGATIVE AERO-ANAEROBIC BACILLI WITH FERMENTING METABOLISM

(*Enterobacteriaceae* and *Vibrionaceae*)

### PRINCIPE

Les bactéries appartenant à ces familles, fermentent le glucose et, dans un premier temps, les milieux s'acidifient (virage du violet au jaune de l'indicateur BCP). A pH acide, les décarboxylases et dihydrolases présentent une activité maximale.

Dans un second temps, lorsque les bactéries en étude possèdent ces enzymes, les métabolites aminés formés à partir des amino-acides alcalinisent les milieux et font virer l'indicateur de pH au violet (formation de putrescine à partir de l'ornithine, de cadavérine à partir de la lysine, et d'agmatine, puis de putrescine à partir de l'arginine).

### PROTOCOLE

#### • Ensemencement et incubation

A partir d'une culture de la souche à étudier sur gélose nutritive (code 356-4485) ou sur gélose trypto-caséine-soja (code 356-4554), on prépare une suspension en eau physiologique renfermant environ  $10^9$  bactéries/ml.

On ensemence chacun des trois tubes avec deux gouttes de cette suspension.

Les tubes sont alors presque pleins : la culture des bactéries s'effectue dans des conditions d'anaérobiose convenable pour la recherche des décarboxylases et il n'est pas nécessaire de recouvrir la surface des milieux avec de l'huile de vaseline stérile, comme on le fait avec les milieux de type Moeller ou Taylor.

### LECTURE ET INTERPRETATION

Elles sont limitées à 4 jours.

- Virage acide (jaune) : résultat négatif

- Virage alcalin (violet) : résultat positif

Se reporter au Tableau 1 (en bas).

#### Remarques :

• Si un résultat paraît positif (milieu violet), il faut s'assurer qu'il y a eu effectivement croissance dans le tube (milieu trouble).

• On peut éviter d'ensemencer un quatrième tube, tube témoin sans aminoacide (donc virant toujours au jaune). En effet, sauf dans le cas des *Plesiomonas shigelloïdes* (LDC+, ODC+, ADH+), l'un au moins des trois tubes présente

un résultat négatif, le premier jour de lecture, et ce tube constitue un témoin de l'acidification primaire par fermentation du glucose.

ENTERO-BACTERIACEAE	LDC	ODC	ADH
<i>E.coli</i>	[+]	d	-
<i>Alkalescens dispar</i>	d	[-]	-
<i>Sh.dysenteriae</i>	-	-	-
<i>Sh.boydii</i>	-	-	-
<i>Sh.flexneri</i>	-	-	-
<i>Sh.sonnei</i>	-	+	-
<i>S. Typhi</i>	+	-	-
<i>S. Paratyphi A</i>	-	+	- ou (+)
Other <i>Salmonella</i> serotypes (including <i>S.arizona</i> )	+	+	- ou (+)
<i>Citrobacter</i>	-	[-]	-
<i>Edwardsiella</i>	+	+	- ou (+)
<i>L.malonatica</i>	-	+	(+) ou -
<i>L.amalonatica</i>	-	+	(+) ou -
<i>Y.enterocolitica</i>	-	[+]	-
<i>Y.pseudotuberculosis</i>	-	-	-
<i>Y.pestis</i>	-	-	-
<i>E.aerogenes</i>	+	+	-
<i>K.pneumoniae</i>	+	-	-
<i>K.oxytoca</i>	+	-	-
<i>K.ozzaenae</i>	d	-	-
<i>K.rhinoscleromatis</i>	-	-	-
<i>E.cloacae</i>	-	+	+
<i>E.agglomerans</i>	-	-	-
<i>H.alvei</i>	+	+	-
<i>S.marcescens</i>	+	+	-
<i>S.liquefaciens</i>	+ ou (+)	+	-
<i>S.rubidaea</i>	+ ou (+)	-	-
<i>P.mirabilis</i>	-	+	-
<i>P.morganii</i>	-	+	-
<i>P.vulgaris</i>	-	-	-
<i>P.rettgeri</i>	-	-	-
<i>Providencia</i>	-	-	-

VIBRIONACEAE	LDC	ODC	ADH
<i>V.cholerae</i>	+	[+]	-
<i>Vibrio</i> NAG	+	[+]	-
<i>V.parahaemolyticus</i>	+	d	-
<i>V.alginolyticus</i>	-	-	+
<i>V.anguillarum</i>	-	-	+
<i>A.hydrophila</i>	-	-	[+]
<i>A.salmonicida</i>	-	-	-
<i>Pl.shigelloides</i>	+	+	+

Tableau 1

**Légende :**

- + positif en 1 ou 2 jours, [+] généralement positif en 1 ou 2 jours.
- (+) positif en 3 ou 4 jours, [-] généralement négatif, - négatif.
- d : résultats variables suivant les souches.

**BACILLES GRAM NÉGATIF (AÉROBIES STRICTS) A MÉTABOLISME OXYDATIF (*Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*)**

**PROTOCOLE**

Contrairement aux *Enterobacteriaceae* et aux *Vibrionaceae*, ces bacilles aérobies stricts dégradent les glucides par voie oxydative en ne produisant que peu de catabolites acides il s'en suit que la coloration des 3 milieux demeure pratiquement inchangée, mauve pâle à violet foncé après 24 ou 48 h d'incubation, sauf dans le cas de *Acinetobacter glucidolytica* (virage au jaune sale).

On peut cependant mettre en évidence une décarboxylase ou une dihydrolase chez ces bacilles en procédant comme suit :

On verse goutte à goutte une solution de tampon pH 4 (Titrisol Merck), dans chacun des 3 tubes de milieu ; on agite quelques secondes après l'addition de chaque goutte.

Chaque tube reçoit le même nombre de gouttes de tampon pH 4 jusqu'à virage acide d'au moins un des trois tubes, qui sert de témoin (virage au jaune de l'indicateur).

On ajoute alors dans les tubes de milieu restés alcalins (coloration mauve) trois gouttes supplémentaires de tampon pH 4. On agite. L'absence de virage acide correspond à la présence d'une décarboxylase ou d'une dihydrolase.

Pour les résultats, se reporter aux tableaux ci-dessous :

PSEUDOMONADACEAE	LDC	ODC	ADH
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	+
<i>P.fluorescens</i>	-	-	+
<i>P.putida</i>	-	-	+
<i>P.pseudomallei</i>	-	-	+
<i>P.mallei</i>	-	-	+
<i>P.stutzeri</i>	-	-	-
<i>P.pseudoamcaligenes</i>	-	-	+weak
<i>P.cepacia</i>	+	d	-
<i>P.maltophilia</i>	+	-	-
<i>P.acidovorans</i>	-	-	-
<i>P.diminutavesicularis</i>	-	-	-

AUTRES BACTERIES GRAM NÉGATIF AÉROBIES STRICTES	LDC	ODC	ADH
<i>Alteromonas putrefaciens</i>	-	+	-
<i>Alcaligenes</i>	-	-	-
<i>Flavobacterium</i>	-	-	-
<i>Xanthomonas</i>	-	-	-
<i>Acinetobacter Lwoffii</i>	-	-	-
<i>Acinetobacter glucidolytica</i>	-	-	- ou +