

LE MILIEU UREE-INDOLE

1. Intérêt

Ce milieu permet de mettre en évidence les caractères suivants :

- présence d'une **uréase**
- présence d'une **tryptophanase**
- présence d'une **tryptophane désaminase (TDA)**

Ce milieu est utilisé pour l'identification des entérobactéries (bacille gram -, oxydase -).

2. Composition

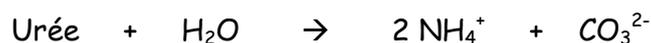
Milieu synthétique

Composant	Quantité (g/L)	Rôle
Urée	2	Lecture d'un caractère biochimique (substrat de l'uréase)
L-tryptophane	0,3	Lecture d'un caractère biochimique (acide aminé, permet la recherche de l'indole et de la TDA)
Chlorure de sodium	0,5	Source de sels minéraux Maintien de la pression osmotique
Dihydrogénophosphate de potassium	0,1	
Hydrogénophosphate de potassium	0,1	
Rouge de phénol	0,0025	Indicateur de pH
pH	7	

3. Principe

- recherche de l'uréase

L'**uréase** dégrade l'urée selon la réaction suivante :



Les ions CO_3^{2-} vont entraîner une **forte alcalinisation** du milieu qui sera révélée par un virage de l'indicateur de pH (le rouge de phénol) à sa teinte basique (rouge).

- recherche de la production d'indole (mise en évidence de la tryptophanase)

La **tryptophanase** hydrolyse le tryptophane selon la réaction suivante :



L'**indole** forme un **complexe coloré en rouge** en présence d'un réactif : **le réactif de Kovacs**.

- recherche de la tryptophane désaminase

La **TDA** dégrade le tryptophane selon la réaction suivante :

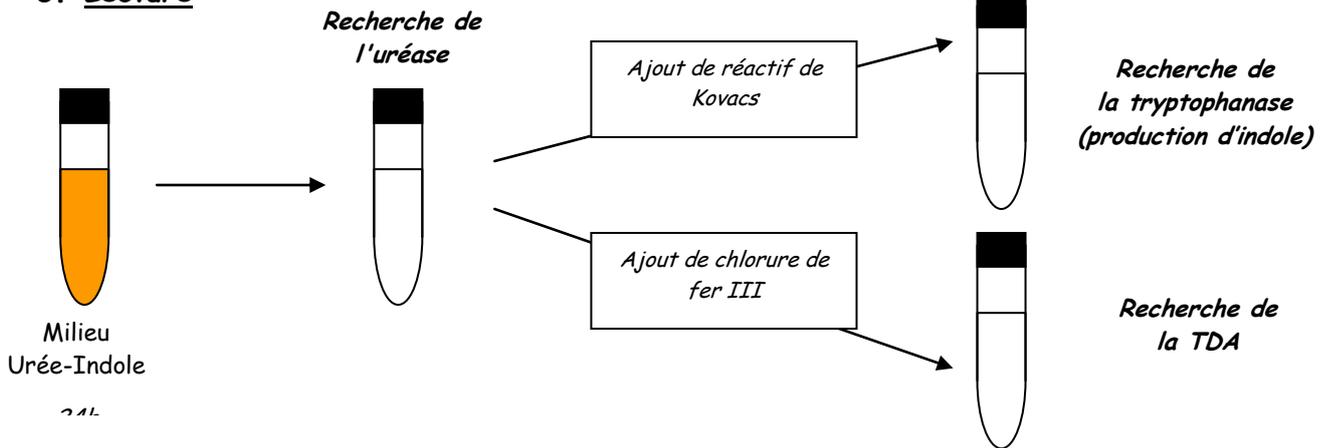


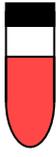
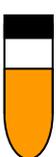
L'**acide indole pyruvique** forme un **précipité marron foncé** en présence d'un réactif : **le chlorure de fer en solution acide**.

4. Ensemencement

- Ensemencer avec quelques gouttes de suspension bactérienne ou avec une colonie prélevée à l'anse sur un milieu solide.
- Incubation 24 heures à 37°.

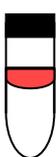
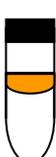
5. Lecture



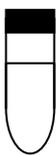
Caractère recherché	Observation	Interprétation	Conclusion
Uréase (lecture après 24 heures d'incubation)	 Milieu rouge	Alcalinisation du milieu due à la dégradation de l'urée	La bactérie possède l'uréase Elle est dite uréase +
	 Milieu orangé (inchangé)	Pas d'alcalinisation du milieu	La bactérie ne possède pas l'uréase Elle est dite uréase -

Après avoir effectué la lecture, séparer le milieu urée indole en deux (prélever une partie du milieu et le transvaser dans un tube à hémolyse propre) puis réaliser les tests suivants :

1^{er} tube : recherche de la production d'indole :
 Ajouter 3 gouttes du réactif de Kovacs et effectuer la lecture sans agiter le milieu

Indole	 Apparition d'un anneau rouge	Présence d'indole. Le tryptophane a donc été hydrolysé	La bactérie a produit de l'indole Elle est dite indole +
	 L'anneau reste orangé	Absence d'indole	La bactérie n'a pas produit d'indole Elle est dite indole -

2^{ème} tube : recherche de la tryptophane désaminase (TDA) :
 Ajouter 3 gouttes du réactif (= chlorure de fer III en solution acide) et effectuer la lecture

TDA	 Coloration marron foncé	Présence d'acide indole pyruvique. Le tryptophane a été désaminé.	La bactérie possède la tryptophane désaminase. Elle est dite TDA +
	 Coloration inchangé	Absence d'acide indole pyruvique	La bactérie ne possède pas la tryptophane désaminase. Elle est dite TDA -