

---

---

**Microbiologie des aliments — Méthode  
horizontale pour la recherche de *Shigella*  
spp.**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for  
the detection of Shigella spp.*

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 21567:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004>



**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 21567:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004>

© ISO 2004

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax. + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos .....	iv
Introduction .....	v
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>2</b>
<b>4</b> <b>Principe</b> .....	<b>2</b>
<b>4.1</b> <b>Généralités</b> .....	<b>2</b>
<b>4.2</b> <b>Enrichissement en milieu sélectif liquide</b> .....	<b>2</b>
<b>4.3</b> <b>Isolement et identification des colonies</b> .....	<b>2</b>
<b>4.4</b> <b>Confirmation biochimique et sérologique</b> .....	<b>2</b>
<b>5</b> <b>Milieus de culture, réactifs et antisérums</b> .....	<b>2</b>
<b>6</b> <b>Appareillage et verrerie</b> .....	<b>3</b>
<b>7</b> <b>Échantillonnage</b> .....	<b>3</b>
<b>8</b> <b>Préparation de l'échantillon pour essai</b> .....	<b>4</b>
<b>9</b> <b>Mode opératoire (voir schéma en Annexe A)</b> .....	<b>4</b>
<b>9.1</b> <b>Prise d'essai</b> .....	<b>4</b>
<b>9.2</b> <b>Enrichissement</b> .....	<b>4</b>
<b>9.3</b> <b>Isolement et choix des colonies pour la confirmation</b> .....	<b>4</b>
<b>9.4</b> <b>Confirmation des colonies</b> .....	<b>5</b>
<b>9.5</b> <b>Confirmation sérologique</b> .....	<b>10</b>
<b>10</b> <b>Expression des résultats</b> .....	<b>11</b>
<b>11</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>12</b>
<b>Annexe A (normative) Diagramme de procédure</b> .....	<b>13</b>
<b>Annexe B (normative) Composition et préparation des milieux de culture et des réactifs</b> .....	<b>14</b>
<b>Annexe C (normative) Description de la morphologie et de la couleur des colonies des <i>Shigella</i> sur géloses sélectives à des fins d'identification et de contrôle qualité</b> .....	<b>27</b>

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 21567 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 21567:2004  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004>

## Introduction

En raison de la grande diversité des produits, il est possible que cette méthode horizontale, dans tout son détail, ne convienne pas à certains produits. Dans ce cas, il est possible d'employer des méthodes différentes, spécifiques à ces produits, si cela est absolument nécessaire pour des raisons techniques justifiées. Néanmoins, il est recommandé que tous les efforts soient faits pour appliquer, chaque fois qu'il sera possible, cette méthode horizontale.

Lorsque la présente Norme internationale sera réexaminée, il sera tenu compte de tous les renseignements disponibles à ce moment-là, à savoir dans quelle mesure cette méthode horizontale aura été suivie et les raisons pour lesquelles il aura été nécessaire d'y déroger dans le cas de produits particuliers.

L'harmonisation des méthodes d'essai ne peut pas être immédiate et, pour certains groupes de produits, des Normes internationales et/ou des normes nationales existent peut-être déjà, qui ne concordent pas avec la méthode horizontale décrite dans le présent document. Il serait souhaitable que lorsque ces normes viendront en révision, elles soient modifiées de façon à se conformer à la présente Norme internationale si bien que, finalement, les seules divergences restantes seront celles nécessaires pour des raisons techniques bien établies.

## iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 21567:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 21567:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004>

# Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

**AVERTISSEMENT** — Afin de protéger la santé du personnel de laboratoire, il est essentiel que cette méthode ne soit mise en œuvre que par du personnel compétent suivant les bonnes pratiques de laboratoire et manipulant de préférence dans une enceinte de confinement. La réglementation nationale en matière de santé et de sécurité concernant ce microorganisme doit être respectée. Des précautions doivent être prises lors de l'élimination des déchets contaminés.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode horizontale pour la recherche d'espèces de *Shigella*.

Sous réserve des limitations mentionnées en introduction, la présente Norme internationale est applicable aux

- produits pour l'alimentation humaine et animale, et
- échantillons environnementaux pour la production et la distribution des aliments.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

## 2 Références normatives

ISO 21567:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-3a7a5601a180/iso-21567-2004>

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 6887-1, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales*

ISO 6887-2, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 2: Règles spécifiques pour la préparation des viandes et produits à base de viande*

ISO 6887-3, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 3: Règles spécifiques pour la préparation des produits de la pêche*

ISO 6887-4, *Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 4: Règles spécifiques pour la préparation de produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche*

ISO 7218:1996, *Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques*

ISO 8261, *Lait et produits laitiers — Lignes directrices générales pour la préparation des échantillons pour essai, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

ISO/TS 11133-1, *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture — Partie 1: Guide général pour l'assurance de la qualité pour la préparation des milieux de culture en laboratoire*

ISO/TS 11133-2, *Microbiologie des aliments — Guide pour la préparation et la production des milieux de culture — Partie 2: Guide général pour les essais de performance des milieux de culture*

### 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

**3.1**  
**Shigella**  
micro-organismes formant des colonies correspondant à la description de ces espèces sur les milieux sélectifs solides utilisés, et présentant les caractéristiques biochimiques et sérologiques décrites lorsque les essais sont effectués selon la méthode décrite dans la présente Norme internationale

**3.2**  
**recherche de *Shigella* spp.**  
détermination de la présence ou de l'absence de ces micro-organismes dans une masse déterminée de produit, lorsque les essais sont effectués selon la méthode décrite dans la présente Norme internationale

### 4 Principe

#### 4.1 Généralités

La recherche des *Shigella* nécessite quatre étapes successives (voir Annexe A).

#### 4.2 Enrichissement en milieu sélectif liquide

Ensemencement de la prise d'essai dans un bouillon *Shigella* contenant 0,5 µg/ml de novobiocine et incubation en anaérobiose à (41,5 ± 1) °C pendant 16 h à 20 h.

#### 4.3 Isolement et identification des colonies

À partir de la culture d'enrichissement, ensemencement de trois milieux sélectifs différents: une gélose MacConkey ayant un faible pouvoir sélectif, une gélose XLD ayant un pouvoir de sélection moyen et une gélose entérique Hektoen ayant un fort pouvoir de sélection. Incubation des trois milieux à 37 °C pendant 20 h à 24 h.

#### 4.4 Confirmation biochimique et sérologique

Sélection de colonies caractéristiques et de colonies suspectes à partir de ces trois géloses sélectives, purification de ces colonies sur gélose nutritive et caractérisation biochimique ainsi que sérologique à l'aide des essais décrits dans la présente Norme internationale.

### 5 Milieux de culture, réactifs et antisérums

Pour les pratiques courantes de laboratoire, voir l'ISO 7218, l'ISO/TS 11133-1 et l'ISO/TS 11133-2 pour la préparation, la production et les performances des milieux de culture.

Sauf spécification contraire, utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou de l'eau déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

Pour la description de tous les milieux, les réactifs et les antisérums, voir l'Annexe B.

Les milieux déshydratés disponibles dans le commerce devraient donner des résultats plus homogènes que les milieux préparés en laboratoire à partir de leurs composants. Suivre exactement les instructions du



fabricant; en effet, de petites variations dans la préparation peuvent modifier significativement les performances des milieux sélectifs. Le chauffage excessif des géloses sélectives dont l'utilisation est spécifiée dans la présente Norme internationale par chauffage en autoclave, stockage puis réchauffage peut entraîner une perte de sélectivité.

## 6 Appareillage et verrerie

L'utilisation de matériels à usage unique est une alternative acceptable à l'utilisation de verrerie réutilisable si ce matériel répond aux exigences spécifiées.

Matériel courant de laboratoire de microbiologie (voir ISO 7218) et, notamment, ce qui suit.

### 6.1 Appareil de stérilisation en chaleur sèche (four) et en chaleur humide (autoclave)

Voir ISO 7218.

**6.2 Enceinte de séchage** ou **four**, ventilé(e) par convection et réglable entre 37 °C et 55 °C.

**6.3 Étuves**, réglable sur  $(37 \pm 1)$  °C et sur  $(41,5 \pm 1)$  °C.

**6.4 Jarres permettant de créer une atmosphère modifiée** ou **incubateur anaérobie**, et appareillage associé pour atteindre des conditions anaérobies, avec une teneur en  $O_2 < 1\%$  et en  $CO_2$  de 9 % à 13 %. Voir ISO 7218.

**6.5 Bains d'eau**, l'un réglable à  $(47 \pm 3)$  °C pour refroidir les milieux fondus avant de les répartir en boîtes de Petri, l'autre réglable à  $(50 \pm 1)$  °C (voir B.6.3.2 et B.10.2.2).

**6.6 Homogénéisateur péristaltique** ou **rotatif**.

Voir ISO 7218. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004>

**6.7 Aiguilles** et **anses à ensemercer**, en platine iridié ou en nickel-chrome, de 3 mm de diamètre approximativement, ou aiguilles et anses en plastiques jetables répondant aux exigences spécifiées.

**6.8 pHmètre**, réglable à  $\pm 0,1$  unité de pH à 25 °C.

**6.9 Fioles** et **flacons avec bouchons**, de capacité appropriée, pour la préparation et la conservation de bouillons d'enrichissement et de géloses.

**6.10 Éprouvettes graduées**.

**6.11 Tubes**, de 18 mm de diamètre et de 160 mm de hauteur (avec bouchons ou capuchons vissés), ou **flacons de culture**, de 30 ml et de 10 ml de capacité, avec capuchons vissés métalliques non toxiques ou capuchons en plastique jetables.

**6.12 Boîtes de Petri**, de 90 mm à 100 mm de diamètre et de 140 mm de diamètre.

**6.13 Lamelles** ou **plaques en verre**, appropriées aux essais d'agglutination.

## 7 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ni modifié lors du transport et de la conservation.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode indiquée dans la présente Norme internationale. Voir la Norme internationale spécifique à l'échantillonnage du produit concerné. S'il n'existe pas de Norme internationale spécifique, il est recommandé que les parties concernées se mettent d'accord à ce sujet.

## 8 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon soumis à essai conformément à la partie appropriée de l'ISO 6887 et/ou à l'ISO 8261.

Il est recommandé de commencer l'analyse des échantillons aussitôt que possible, car la durée de survie des *Shigella* est faible.

## 9 Mode opératoire (voir schéma en Annexe A)

### 9.1 Prise d'essai

Voir la partie appropriée de l'ISO 6887 et/ou l'ISO 8261, qui couvrent les modes opératoires pour les différents types de produits.

### 9.2 Enrichissement

En général, ajouter  $x$  g ou  $x$  ml de prise d'essai à  $9x$  ml de bouillon *Shigella* contenant  $0,5 \mu\text{g/ml}$  de novobiocine (B.1.2) afin d'obtenir une dilution de 1 à 10 de l'échantillon. Homogénéiser la prise d'essai dans le bouillon à l'aide d'un homogénéisateur péristaltique ou rotatif (6.6). Ajuster le pH de manière aseptique pour qu'il soit égal à  $7,0 \pm 0,2$ , si nécessaire.

Incuber le bouillon *Shigella* dans des conditions anaérobies (6.4), les bouchons (ou matériel permettant un effet équivalent) étant mis en place de façon à permettre l'échange de gaz sans contamination, à l'étuve (6.3) à  $(41,5 \pm 1) ^\circ\text{C}$  pendant 16 h à 20 h.

### 9.3 Isolement et choix des colonies pour la confirmation

**9.3.1** À l'aide des cultures obtenues en 9.2, mélanger manuellement et délicatement le contenu et laisser les particules les plus grosses se déposer.

Pour obtenir des colonies bien isolées, ensemer à l'aide d'une anse (6.7) la surface des géloses sélectives suivantes: gélose de MacConkey (B.2.1) ayant une faible sélectivité, gélose XLD (B.2.2) ayant une sélectivité modérée et gélose entérique Hektoen (B.2.3) ayant une sélectivité supérieure.

**9.3.2** Incuber (6.3) les plaques à  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  pendant 20 h à 24 h.

**9.3.3** L'apparence des différentes espèces de *Shigella* peut varier sur une même gélose sélective. Pour la description des colonies de *Shigella* sur les différentes géloses sélectives utilisées, voir l'Annexe C.

Les *Shigella* spp. peuvent constituer une proportion minoritaire de la flore microbienne totale lors de la contamination d'un échantillon alimentaire ou après enrichissement. Dans ces circonstances, il se peut que l'ensemencement direct en stries sur une boîte en gélose sélective à partir du bouillon d'enrichissement ne permette pas la recherche des colonies de *Shigella*. Dans un tel cas, par exemple lors de l'étude d'aliments responsables d'une infection d'origine alimentaire, il peut donc être nécessaire pour faciliter la recherche de considérer l'ensemencement soit de deux boîtes de Petri (6.12) de 90 mm, soit d'une grande boîte de Petri (140 mm).

Les colonies de certaines souches d'*Enterobacteriaceae* sont morphologiquement très similaires à celles des *Shigella*. Toute colonie caractéristique ou suspecte doit être confirmée (voir 9.4) comme étant une colonie de *Shigella*. De même, dans certaines circonstances, par exemple dans le cas d'aliments impliqués dans une infection d'origine alimentaire, il peut être approprié de considérer plus de cinq colonies provenant d'une boîte

de Petri pour augmenter la fiabilité du résultat d'essai «absence de *Shigella*» dans les échantillons alimentaires soumis à essai.

Marquer toute colonie caractéristique ou suspecte trouvée sur chaque boîte.

Si aucune colonie caractéristique n'apparaît et que la croissance d'autres micro-organismes est faible (en particulier sur les géloses les plus sélectives) incuber les plaques pendant 24 h supplémentaires. Procéder à une nouvelle recherche des colonies typiques de *Shigella*.

Mettre en œuvre le mode opératoire de confirmation décrit en 9.4.

## 9.4 Confirmation des colonies

### 9.4.1 Généralités

Il est possible d'utiliser des méthodes d'identification (actuellement disponibles dans le commerce) validées par l'utilisateur pour l'identification des différentes espèces de *Shigella*. Suivre scrupuleusement les instructions du fabricant.

Pour confirmation, repiquer cinq colonies à partir de chaque boîte de milieu sélectif (voir 9.3) marquées comme étant caractéristiques ou suspectes.

Si, sur l'une des boîtes, il se trouve moins de cinq colonies caractéristiques ou suspectes, utiliser toutes les colonies marquées pour confirmation.

Utiliser des cultures pures pour la confirmation biochimique et sérologique.

### 9.4.2 Purification des colonies

Ensemencer en stries les colonies sélectionnées sur la surface des boîtes de gélose nutritive (B.3) de façon à obtenir des colonies bien isolées.

Incuber (6.3) ces boîtes à  $(37 \pm 1)$  °C pendant 18 h à 24 h.

Si les cultures sur la gélose nutritive ne sont pas pures, repiquer la colonie suspecte sur une boîte supplémentaire de gélose nutritive et l'incuber à  $(37 \pm 1)$  °C pendant 18 h à 24 h pour obtenir une culture pure.

*Shigella sonnei* est susceptible de donner deux types de colonies sur la même plaque de gélose: une colonie en forme de dôme rond et lisse (phase 1) et une colonie de forme plate et irrégulière avec une surface matte (phase 2).

NOTE Il est possible de soumettre en premier à essai la colonie la plus caractéristique de chaque plaque de gélose sélective. Si le résultat de l'essai est positif, il n'est pas nécessaire de soumettre à essai les autres colonies. Si le résultat est négatif, soumettre à essai les autres colonies sélectionnées jusqu'à obtenir pour chacune un résultat négatif ou obtenir un résultat positif.

### 9.4.3 Confirmation biochimique

#### 9.4.3.1 Généralités

À l'aide d'une aiguille (6.7), ensemencer respectivement les milieux spécifiés en 9.4.3.2 à 9.4.3.9 avec chacune des cultures sélectionnées en 9.4.1 et noter les résultats.

#### 9.4.3.2 Gélose triple sucres-fer (pente TSI) (B.4)

Ensemencer le culot à l'aide d'une aiguille et ensemencer en stries la pente de gélose.

Incuber (6.3) à  $(37 \pm 1)$  °C pendant  $(24 \pm 3)$  h.

Interpréter les changements survenant dans le milieu de la façon suivante:

Aire de la pente	Apparence	Interprétation
<b>Culot</b>	Jaune	Glucose fermenté: positif
	Rouge ou inchangée	Glucose non fermenté: négatif
	Noir	Formation d'hydrogène sulfuré: positif
	Bulles ou craquelures	Formation de gaz
<b>Pente</b>	Jaune	Lactose et/ou sucrose utilisés: positif
	Rouge ou inchangée	Lactose et sucrose non utilisés: négatif

Les cultures typiques de *Shigella* sont caractérisées par un culot jaune (formation acide) et l'absence de bulles de gaz. La couleur de la pente ne change pas (lactose ou sucrose non utilisés) et il n'y a aucune production d'hydrogène sulfuré (voir Tableau 1).

**9.4.3.3 Gélose nutritive semi-solide pour essais de mobilité (B.5)**

Ensemencer la gélose nutritive semi-solide avec une colonie à l'aide d'une aiguille (6.7)

Incuber (6.3) ces tubes à (37 ± 1) °C pendant 18 h à 24 h.

Examiner la piqûre d'ensemencement pour vérifier si la culture se développe en s'étalant. Les micro-organismes immobiles se développent le long de la piqûre tandis que les souches mobiles se développent en se diffusant à partir de la piqûre d'ensemencement.

Toutes les espèces de *Shigella* sont immobiles. [ISO 21567:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004)  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/efd6159a-08f5-4524-b24d-5fd7a9e8b1ad/iso-21567-2004>

**9.4.3.4 Gélose à l'urée (B.6)**

Ensemencer en stries la surface de la gélose.

Incuber (6.3) à (37 ± 1) °C pendant (24 ± 3) h en procédant à des examens par intervalles.

Si l'urée est hydrolysée, une couleur rose à cerise foncé se développe du fait de la présence d'ammoniac suite à la décomposition de l'urée, tandis que la couleur de l'indicateur de pH change. Aucun changement de couleur de la gélose n'est constaté en cas de réaction négative.

Les *Shigella* spp. n'hydrolysent pas l'urée.

**9.4.3.5 Milieu de décarboxylation de la L-lysine (B.7)**

Ensemencer au-dessous de la surface du bouillon.

Incuber (6.3) à (37 ± 1) °C pendant (24 ± 3) h.

Un trouble et une couleur violette se développant après l'incubation indiquent une réaction positive. Une couleur jaune indique un résultat négatif.

Les *Shigella* spp. ne décarboxylent pas la lysine.

NOTE L'utilisation d'une couche de paraffine pour recouvrir les tubes peut permettre d'obtenir de meilleures conditions d'anaérobiose.