

IVD Diagnostic in vitro Pour utilisation professionnelle seulement



Milieu nutritif pour l'essai d'oxydation et de fermentation selon HUGH et LEIFSON (base)

Milieu OF (Base)

Art. N° 1.10282.0500
(500 g)

Milieu nutritif d'essai selon HUGH et LEIFSON (1953) pour la reconnaissance du métabolisme oxydatif et fermentaire des microorganismes pendant la gradation des glucides.

Il sert en particulier à différencier et classer les bactéries intestinales gram-négatives. WELCH et al. (1987) ont conçu un agar sélectif et d'identification pour *Pseudomonas* sur la base de ce milieu nutritif avec l'addition d'agar-agar, de lactose, de polymyxine B et de bacitracine.

Voir aussi les indications générales d'utilisation

Dangers et précautions voir www.merck-chemicals.com

Principes

Méthode microbiologique

Mode d'action

On ajoute au milieu selon le cas une quantité définie de glucide comme composé réactionnel dont la dégradation en acide est révélée par le virage au jaune de l'indicateur de pH, le bleu de bromothymol. On contrôle la dégradation aussi bien en présence d'air (dégradation oxydative mais aussi fermentaire possible) qu'en l'absence d'air (dégradation fermentaire seule).

Composition type g/litre

Peptone de caséine 2,0; extrait de levure 1,0; chlorure de sodium 5,0; phosphate dipotassique 0,2; bleu de bromothymol 0,08; agar-agar 2,5.

A ajouter: glucide 10,0.

Préparation et conservation

Art. N° 1.10282.0500 Milieu nutritif pour l'essai d'oxydation et de fermentation selon HUGH et LEIFSON (base) (500 g)

Utilisable jusqu'à la date de péremption, au sec et parfaitement fermé, entre +15 et +25°C. Protéger de la lumière. Après ouverture, le contenu peut être utilisé jusqu'à la date de péremption, au sec, le récipient bien refermé, entre +15 et +25°C.

Dissoudre 11 g/litre, autoclave (15 min. à 121°C), refroidir à environ 50°C et ajouter à 100 ml de milieu, 10 ml de solution aqueuse, stérilisée par filtration à 10% de D(+)-glucose, de saccharose ou d'un autre glucide et mélanger. Répartir ensuite stérilement par quantités de 5 ml en tubes qu'on laisse refroidir en position verticale.

Aussitôt après le refroidissement, recouvrir le milieu nutritif de la moitié des tubes avec une couche de 1 cm d'épaisseur d'huile de paraffine stérile.

pH: 7,1 ± 0,2 à 25°C

Le milieu nutritif préparé est limpide et de couleur vert bleu.

Emploi et interprétation

Ensemencer par piqûre descendant jusqu'au fond au moins 2 tubes (1 avec, 1 sans huile de paraffine) avec une culture pure, de préférence dans la phase logarithmique de croissance, de la souche à étudier. Incuber au moins 48 heures à la température optimale.

M Selon MOSSEL et MARTIN (1961), on peut réaliser cet essai avec 1 seul tube si l'on favorise la croissance des microorganismes même exigeants par addition d'extrait de levure et si l'on augmente la teneur en agar-agar de 1,5% et la hauteur du milieu à au moins 8 cm.

Une coloration jaune dans les deux tubes (ouvert et recouvert) traduit une dégradation oxydative du glucide ajouté. On constate ainsi que la dégradation oxydative se produit à la surface ou près de la surface du milieu nutritif, alors que la dégradation fermentaire se produit aussi bien à la surface que dans l'épaisseur du milieu. Dans le premier cas, on peut considérer la souche comme non mobile, et par contre comme mobile dans le second cas.

Métabolisme glucidique de quelques espèces importantes (HUGH et LEIFSON, 1953)

Microorganismes	Glucose		Lactose		Saccharose		Groupe
	aérobie	anaérobie	aérobie	anaérobie	aérobie	anaérobie	
Alcalig. faecalis	-	-	-	-	-	-	I Esp. Non oxydantes Esp. non fermentaires
Ps. aeruginosa	A	-	-	-	-	-	II Esp. Oxydantes Esp. Nonfermentaires
Bact. anitratum	A	-	A	-	-	-	
Agrobacterium tumefaciens	A	-	-	-	A	-	
Malleomyces pseudomallei	A	-	A	-	A	-	
Shig. Dysenteriae	A	A	-	-	-	-	IIIa Esp. Fermentaires (sans dég. gazeux)
Shig. Sonnei	A	A	A	A	-	-	
Vibrio comma	A	A	-	-	A	A	
S. enteritidis	AG	AG	-	-	-	-	IIIb Esp. Fermentaires (avec dég. gazeux)
E. coli	AG	AG	AG	AG	-	-	
Aerom. Liquefaciens	AG	AG	-	-	AG	AG	
Entero aerogenes	AG	AG	AG	AG	AG	AG	
Espèces non classifiées	A	A	A	-?	variable		IIIC Esp. Oxydantes Esp. fermentaires
Quelques bact. du paracolon	AG	AG	A	-?	variable		

Signification abréviations: -= réaction neutre ou alcaline, A = formation d'acide, AG = formation d'acide et dégagement gazeux.

Emploi de l'essai d'oxydation-fermentation pour le diagnostic de quelques bâtonnets gram-négatifs, aérobies obligatoires ou facultatifs intéressants en médecine (modifiés selon COSTIN 1967).

Dégr. du glucose	Oxydase	Type de la réaction	Microorganismes
Fermentaire	Négative	I	1. Enterobacteriaceae 2. Yersinia pestis 3. Yersinia malassezii (psedlotuberculosis) 4. Yersinia enterocolitica
	Positive	II	1. Aeromonas spp. 2. Vibrio cholerae 3. Vibrio spp. (NAG ou NVC) 4. Vibrio parahaemolyticus 5. Pasteurella multocida 6. Pasteurella haemolytica 7. Pasteurella pneumotropica 8. Actinobacillus lignieresii 9. Chromobacterium violaceum
Oxydative	Négative	III	1. Acinetobacter calcoaceticus (production d'acide) 2. Pseudomonas maltophilia
	Positive	IV	1. Pseudomonas aeruginosa 2. Pseudomonas stutzeri 3. Pseudomonas fluorescens (putida) 4. Pseudomonas mallei 5. Pseudomonas pseudomallei 6. Flavobacterium meningosepticum
Négative	Négative	V	1. Acinetobacter calcoaceticus (sans production d'acide) 2. Bordetella parapertussis

	Positive	VI	1. Alcaligenes faecalis (denitrificans) 2. Pseudomonas alcaligenes 3. Bordetella bronchiseptica 4. Espèces pseudomonas 5. Campylobacter (vibrio fetus) 6. Moraxella spp.
--	----------	----	---

Contrôle de qualité du milieu

Souches test	Croissance	Virage au jaune	
		Non recouvert (aérobiose)	Recouvert (anaérobiose)
Escherichia coli ATCC 25922	Bonne / très bonne	+	+
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Bonne / très bonne	+	+
Micrococcus luteus ATCC 9341	Bonne / très bonne	+	(-)
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Bonne / très bonne	+	-
Alcaligenes faecalis ATCC 19209	Bonne / très bonne	-	-
Pseudomonas alcaligenes ATCC 14909	Bonne / très bonne	-	-

Additifs et produits auxiliaires

Merck Art. n°	Produit	Contenu
1.07160.1000	Paraffine	1 litre
1.07651.1000	Saccharose	1 kg
1.07657.1000	Lactose monohydraté	1 kg
1.08342.1000	D(+)-glucose monohydraté	1 kg

Bibliographie

COSTIN, I.D.: An outline for the biochemical identification of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods of medical interest. - 5. Intern. Congr. f. Chemotherapie, Wien, B2/1; 73-76 (1967).

HUGH, R. a. LEIFSON, E.: The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. -1. Bact., 66; 24-26 (1953).

MOSSEL, D.A.A. et MARTIN, G.: Milieu simplifié permettant l'étude des divers modes d'actions des bactéries sur les hydrates de carbone. -Ann. Inst. Pasteur de Lille, 12; 225-226 (1961).

WELCH, D.F., MUSZYNSKI, M.J., RAI, C.H., MARCON, M.J., HRIBAR, MM., GILLIGAN, P.H., MATSEN, J.M., AHLIN, P.A., HILMAN, B.C. a. CHARTRAND, S.A.: Selective and differential medium for recovery of Pseudomonas cepacia from the respiratory tracts of patients with cystic fibrosis. - J. Clin. Microbiol., 25; 1730-1734 (1987).