

M.E.V.A.G./Gélose**355-5544****DOMAINE D'APPLICATION**

Les bactéries peuvent utiliser les glucides par deux voies métaboliques différentes :

- **Une voie Fermentative** dans laquelle toutes les réactions peuvent avoir lieu en l'absence de l'oxygène de l'air ; il se forme des catabolites de dégradation en particulier acides, qui s'accumulent dans le milieu dont le pH baisse sensiblement.
- **Une voie Oxydative** dans laquelle l'oxygène de l'air est obligatoirement utilisé, et peu de catabolites acides sont formés. La recherche d'une acidité apparue par oxydation d'un glucide doit donc être faite dans un milieu peu tamponné, tel que le milieu MEVAG.

Le milieu MEVAG peut être utilisé à deux fins :

1. Détermination de la Voie d'Attaque du Glucose,
2. Etude des Glucides attaqués par les bactéries oxydatives.

PRESENTATION**Prêt à l'emploi**

8 ml x 25 tubes

code 355-5544**CONSERVATION/VALIDITE/LOT**

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

FORMULE THEORIQUE

Macération de viande (500 g/l)	50 ml
KCl	5 g
Agar	3 g
Rouge de phénol (solution aqueuse à 0,2 %)	10 ml
Eau distillée q.s.p.	1000 ml
pH (25 °C) final = 7,0 ± 0,2	

1. DETERMINATION DE LA VOIE D'ATTAQUE DU GLUCOSE (Epreuve de HUGH et LEIFSON)**PROTOCOLE**

- Faire fondre dans un bain d'eau bouillante le contenu de 2 tubes de MEVAG.
- Refroidir vers 44 - 47°C, et ajouter aseptique-

ment dans chaque tube quelques gouttes de solution aqueuse stérile de glucose pour obtenir une concentration finale de 1 %, (par exemple 7 gouttes d'une solution à 30 %).

- Mélanger et refroidir le milieu en plongeant le tube dans l'eau froide.

- Inoculer chaque tube par piqûre centrale avec un fil de platine chargé de semence prélevée dans une culture de 18 à 48 heures en milieu liquide, pour que l'inoculum soit d'abondance moyenne et réparti régulièrement le long de la piqûre.

Dans le cas de bactéries exigeant pour leur croissance la présence d'ascite ou de sérum, cet élément peut être ajouté à la concentration de 10 % dans le milieu liquéfié et refroidi vers 44 - 47 °C.

- Faire fondre dans un bain d'eau chauffée vers 80 °C de la vaseline stérile. Sur l'un des deux milieux MEVAG préalablement glucosé et ensemencé, verser aseptiquement une couche de 10 à 15 mm de vaseline fondue, et plonger aussitôt le tube dans l'eau froide pour refroidir la vaseline.

- Placer les deux tubes, dits « ouvert » (sans vaseline) et « fermé » (avec la couche de vaseline), à l'étuve à 37 °C en ne revissant pas à fond le bouchon.

- Lire les résultats après 24 heures de culture (ou davantage pour les bactéries oxydatives et pour certaines bactéries fermentatives à croissance lente).

LECTURE ET INTERPRETATION

L'épreuve de HUGH et LEIFSON permet de distinguer trois catégories de bactéries :

• Bactéries fermentatives

Acidification rapide et égale dans les 2 milieux qui deviennent jaunes en 24 heures sur toute la hauteur de la piqûre d'inoculation.

Dans le cas où il y a production de gaz, celui-ci est visible sous la couche de vaseline.

• Bactéries oxydatives

- Dans le tube fermé : peu ou pas de culture, et pas d'acidification (après plusieurs jours, même en l'absence de culture visible, la couleur du

M.E.V.A.G./Gélose

milieu peut virer vers des teintes orangées si la vaseline utilisée est acide).

- Dans le tube ouvert : acidification modérée et assez lente, débutant à la surface, en 24-48 heures ou parfois davantage. Jamais de gaz.

Remarque : *Certaines bactéries aérobies strictes (Neisseria, Flavobacterium) sont capables de cultiver faiblement sous la couche de vaseline ; dans ce cas on peut observer une acidification progressive dans les 2 tubes, débutant par la partie supérieure du milieu.*

• Bactéries inactives :

- Dans le tube fermé, peu ou pas de culture.
- Dans le tube ouvert, culture sans modification de pH (pas d'acidification) ou avec une alcalinisation plus ou moins forte en surface (virage au rouge-violet).

Exemple de résultats :

A : acide
alc : alcalinisation
NC : Non changé
G+ : production de gaz
G- : pas de production de gaz

	TUBE OUVERT	TUBE FERMÉ	
	pH	pH	gaz
Bactéries fermentatives • <i>Enterobacteriaceae</i> • <i>Vibrions</i> • <i>Aeromonas</i>	A A A	A A A	G+ou G G G+ou G-
Bactéries oxydatives ou inactives • <i>Pseudomonas</i> • <i>Acinetobacter, Moraxella</i> • <i>Moxarella lacunata</i> and <i>A.lwoffii</i> • <i>Neisseria</i>	A (ou NC) A (ou NC) NC ou alc A (ou NC)	NC NC NC NC	

2. ÉTUDE DES GLUCIDES ATTAQUES PAR LES BACTÉRIES OXYDATIVES

Les bactéries oxydant le glucose ont ainsi un métabolisme oxydatif pour tous les glucides qu'elles attaquent. Pour rechercher quels glucides sont attaqués par les bactéries oxydatives, l'épreuve de HUGH et LEIFSON effectuée pour chacun d'entre eux est inutile : il suffit d'étudier chaque glucide dans un seul tube de milieu MEVAG « ouvert ».

PROTOCOLE

Préparation et inoculation du milieu : suivre ce qui a été exposé ci-dessus pour le glucose.

Les glucides ayant un intérêt pour le diagnostic sont: galactose, fructose, L-arabinose, D-arabinose, xylose, lactose, saccharose,

maltose, etc.

LECTURE ET INTERPRETATION

Les milieux ensemencés doivent être placés, selon les cas, à 30 °C ou à 20-25 °C.

L'acidification débute toujours à la surface mais elle est souvent lente à apparaître; les cultures doivent être examinées au moins pendant 7 jours.

PRECAUTION D'EMPLOI

- Conserver les tubes de MEVAG bien bouchés, pour éviter leur lente acidification au contact de l'air. Au moment de l'emploi, dévisser la capsule pour permettre au CO₂ dissous de se dégager pendant le chauffage du milieu.

- Si, après incorporation des glucides (surtout avec arabinose et xylose), le pH était descendu trop bas (milieu orange clair ou même jaune), il faudrait ré-alcaliniser le milieu (couleur rouge franc) au moyen d'une solution stérile de soude à 4 %.

- Respecter les Bonnes pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 - 48H à 37 °C	
	Tube ouvert + Glc	Tube fermé +Glc + paraffine
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Acidification + gaz	Acidification + gaz
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Acidif. lente en surface	Couleur inchangée

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

M.E.V.A.G. / Glucides / Voie Fermentative / Voie Oxydative / Rouge de phénol / Milieu.