

### Principe

Milieu de culture semi-solide pour la différenciation des bactéries en fonction de leur mobilité et de leur capacité à fermenter le mannitol et à réduire les nitrates.

### Formule \* en g/L

Peptone.....	20.00
Potassium nitrate.....	1.00
D-Mannitol.....	2.00
Rouge phénol.....	0.04
Agar.....	4.00

pH final 7.4 ± 0.2 à 25 °C

\*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

### Préparation

Suspendre 27,04 g de poudre dans 1 L d'eau distillée et porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Répartir dans des récipients (tubes) appropriés et stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 121 °C.

### Description

L'utilisation de milieux semi-solides pour vérifier la motilité des bactéries a été proposée et démontrée par Tittsler et Sandholzer en 1936 et en 1949 Roland et Bourbon ont suggéré l'ajout de mannitol à un milieu semi-solide pour l'identification des Enterobacteriaceae mais des bulles de gaz de fermentation du mannitol entravaient la motilité. Ce problème a été résolu par Le Minor en 1967 avec l'ajout d'une petite quantité de nitrate de potassium dans le milieu, ce qui inhibe la production du gaz de fermentation tout en permettant de vérifier la réduction des nitrates.

Ce milieu de mobilité des fluides, de mannitol et de nitrates, lorsqu'il est utilisé avec la gélose Fer Trois Sucres, permet une différenciation rapide entre les entérobactéries lactose-négatives et les bacilles gram-négatifs non fermentants à partir d'échantillons cliniques.

### Utilisation

Le milieu est ensemencé en enfonçant l'aiguille d'ensemencement au fond du tube et incubé à 36 ± 1 ° C pendant 20 à 24 heures.

Après incubation, le test de nitrate est réalisé en déposant 4 à 6 gouttes d'acide sulfanilique à la surface du milieu de culture, suivi d'une quantité égale d' $\alpha$ -naphthylamine. L'apparition d'un anneau rouge vif indique un test positif de réduction du nitrate en nitrite. Si la couleur n'apparaît pas, un peu de poudre de zinc doit être ajoutée. Si la couleur rouge apparaît alors, cela indique qu'il y a des nitrates sans réduction et, au contraire, si la couleur rouge continue sans apparaître, il y a réduction totale du nitrate en azote.

Le changement de couleur du milieu du rouge au jaune indique la fermentation du mannitol.

Interprétation des changements après incubation du milieu:

- La motilité est observée par la nébulosité du milieu de la ligne d'inoculum.
- Clair, transparent et rouge: milieu non ensemencé.
- Turbidité limitée à la ligne de piqûre: micro-organisme immobile.
- Turbidité limitée à la couche superficielle: micro-organisme immobile et aérobic incapable d'utiliser le nitrate comme accepteur d'électrons.
- Turbidité avec légère intensification de la couleur rouge d'origine du milieu: Non-fermentation du mannitol.
- Turbidité qui diffuse latéralement la ligne de piqûre avec plus ou moins de profusion: Organisme mobile (degré d'étalement, indicatif, motilité lente à très active).
- Turbidité avec jaunissement général du milieu sauf la surface qui reste rouge intense: fermentation au mannitol.
- Turbidité avec légère intensification de la couleur rouge d'origine du milieu, avec apparition de bulles de gaz piégées le long de la ligne de puits et, parfois, rupture du milieu de culture: Non-fermentation du mannitol avec réduction progressive des nitrates en nitrites et enfin ly à l'azote gazeux.

### Contrôle qualité

**Température d'incubation:** 36 °C ± 1

**Temps d'incubation:** 18 h ± 2

**Inoculum:**

#### Micro-organismes

*Escherichia coli* ATCC® 25922  
*Proteus mirabilis* ATCC® 25933  
*Klebsiella pneumoniae* ATCC® 13883

#### Croissance

Bonne  
 Bonne  
 Bonne

#### Remarques

Mot. (+) Man. (+) Nit. (+)  
 Mot. (+) Man. (-) Nit. (+)  
 Mot. (-) Man. (+) Nit. (+)

---

### Références

- BHAT, P. & R.M. MYERS (1962) Standard methods and procedures used in bacteriology laboratory of the Vallore Christian Medical College Hospital for isolation and identification of organisms belonging to the family Enterobacteriaceae. Indian J. Med. Res. 50:559-566
- BHAT, P., S. SHANTHAKUMARI & H. ISAAC (1971) Mannitol-motility Medium in Routine Diagnostic Enteric Bacteriology. Indian J. Med. Res. 3:377-381
- D'AMATO, R.F. & K.M. TOMFOHRDE (1981) Influence of media on temperature-dependent motility test for *Yersinia enterocolitica*. J. Clin. Microbiol 3-11714(3):347-348
- GARD, S. (1938) Das Schwärmphänomen in der Salmonella-Gruppe und seine praktische Ausnützung. Z. Hyg. Infektionskr. 20:615-619
- LE MINOR, L. (1967) Le Diagnostic de Laboratoire des Enterobacteries. 3rd ed. Editions de la Tourelle. 94 Saint-Mande. Paris.
- MacFADDIN, J.F. (2000) Biochemical Tests for the Identification of Medical Bacteria. 3rd edition. Williams & Wilkins. New York.
- PICKETT, M.J. (1980) Non fermentative Gram-negative Bacilli: A syllabus for detection and identification. Scientific Developments Press. Los Angeles.
- ROLAND, P. & D. BOURBON (1949) Technique d'identification rapide des Enterobacteriacées. Ann. Inst. Pasteur 76:346-350
- TITSLER, R.P. & L.A. SANDHOLZER (1939). The use of semi-solid agar for the detection of bacterial motility. J. Bact. 31:575-580.

### Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).