**Etude du métabolisme glucidique**

1. **Auxanogramme**

**Intérêt**

L’auxanogramme c’est l’étude d’une gamme de sucres dégradables par la bactérie (en milieu liquide). Son but est de déterminer la capacité de la bactérie à dégrader un sucre donné mis dans un milieu de base, et ce, en produisant de l'acide.

**Composition**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Composant** | **Quantité (g/L)** | **Rôle** |
| Peptone | 15 | Apport de facteur de croissance |
| Glucide à étudier (fructose, galactose, lactose et saccharose) | 10 | Source de C et énergie |
| NaCl | 5 | gélifiant |
| Rouge de phénol 1% | 5mL | Indicateur du pH |

**Technique**

A partir d'un bouillon de culture, ensemencer des tubes contenant différents sucres et un indicateur de pH.

**Lecture et interprétation**

* Réaction positive: pH acide, virage au jaune du rouge de phénol et donc la bactérie a dégradé le sucre présent dans le milieu et qualifiée GLUCIDE +.
* Réaction négative: pH alcalin, virage au rouge pourpre de l’indicateur de pH et donc la bactérie a utilisé la peptone du milieu et qualifiée de GLUCIDE - .
1. **Mise en évidence de la voie d’attaque des glucides**

Le métabolisme fermentatif, favorisé par l'anaérobiose, engendre de **nombreux** produits acides que l'on pourra détecter grâce à un indicateur de pH. Le métabolisme oxydatif ne donne naissance qu'à de petites quantités d'acides et uniquement lorsque seront présentes de bonnes conditions d'oxygénation. Un milieu de culture réponde à ces exigences: Milieu de **HUGH et LEIFSON**

**Composition de milieu** de **HUGH et LEIFSON**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Composant** | **Quantité (g/L)** | **Rôle** |
| Peptone pancréatique de caséine | 2 | Source de C et N |
| Extrait de levure | 1 | Source de C, N, minéraux et vitamine |
| NaCl | 5 | Equilibre ionique |
| Phosphate monopotassique | 0.3 | Source de P |
| Glucose | 10 | Source de carbone |
| Bleu de bromothymol | 0.03 | Indicateur de pH |
| Agar | 3 | gélifiant |
| Eau distillée | 1L | Milieu aqueux |

**Technique d’ensemencement**

* Régénérer le milieu au bain-marie bouillant (20 min à ébullition).
* Attendre le refroidissement jusqu'à ce qu'il se durcisse (à mettre sous un robinet d'eau froide pour gagner du temps par exemple)..
* Ensemencer les 2 tubes ( 1et 2) par **piqûre centrale** à l'aide d’une anse de platine chargé de bactérie à étudier.
* On ajoute de la vaseline dans le tube N°2, sur une hauteur de 1 cm environ
* Etuver à 37°C **en ne revissant pas à fond le bouchon**.
* Lire les résultats après 24h.

**Lecture et interprétation**

1. **Haut du Tube 1 jaune et le tube 2 vert** → il y a eu un changement de couleur (en jaune) dû à l'acidification dans le haut du tube 1uniquement : les bactéries ont besoin d'oxygène pour dégrader le glucose. Les bactéries sont oxydatives.
2. **Tubes 1 vert et Tube 2 jaune** → il y a eu virage de l'indicateur coloré à cause de la production d'acide dans tout le tube : les bactéries ont utilisé le glucose en présence et en absence d'oxygène. Les bactéries sont donc fermentatives.