**Etude du Fermentation microbienne du glucose**

**Intérêt**

Ce milieu permet d’étudier deux voies de fermentation microbienne du glucose : la voie du butanediol (Butylène glycolique) et la voie des acides mixtes. L’étude de ces voies permet de différencier les bactéries de la famille des Enterobacteriaceae.

**Principe**

Le milieu de Clark et Lubs permet de différencier les Enterobacteriaceae avec les réactions au rouge de méthyle et de Voges-Proskauer. Le rouge de méthyle différencie le processus de fermentation, il est jaune au-dessus d’un pH de 6,3 et rouge en dessous de 4,2. La production d’acetyl méthyl carbinol ou acétoïne se révèle par l’apparition d’une coloration rouge en surface du milieu.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Composant** | **Quantité (g/L)** | **Rôle** |
| Peptone | 7 | Source d’azote et carbne |
| Glucuse | 5 | Lecture d’une caractère biochimique |
| Phosphate dipotassique | 5 | Source minérale |
| Eau distillée | 1L pH 7.5 |  |

**Technique**

1. **Réaction au rouge de méthyle**

* Après incubation, transvaser 2 ml du milieu Clark et Lubs dans un autre tube à hémolyse stérile1
* Ajouter 1 à 2 gouttes d’une solution à 0,5% de rouge de méthyl dans l’alcool à 60°.
* Agiter fortement et attendre 15 minutes

1. **Réaction de Voges-Proskauer**

* Après incubation, transvaser 1 ml du milieu dans un autre tube hémolyse stérile 2
* Ajouter 0,5 ml d’une solution α-naphtol à 6% dans l’alcool à 90°
* Ajouter 0,5 ml d’une solution d’aqueuse de soude à 16%.
* Agiter fortement et attendre 15 minutes.

**Lecture et interprétation**

1. **Réaction au rouge de méthyle :**

* Une coloration rouge du milieu, correspondant à un pH inférieur à 4,2, est considérée comme positive RM+.
* Une coloration jaune du milieu, correspondant à un pH supérieur à 6,3, est considérée comme négative RM-.

1. **Réaction de Voges-Proskauer**

* L’apparition d’une coloration rouge ou rose, indiquant la production d’ acetylméthylcarbinol ou acétoïne , est considérée comme positive VP+.
* L’absence d’une coloration, indiquant l’absence d’ acetylméthylcarbinol ou acétoïne , est considérée comme négative VP-.