

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	Equilibre ionique
Rouge de phénol 1%	5mL	Indicateur du pH

Technique d'ensemencement

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 -.

2. 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 répond à ces exigences : Milieu de **HUGH et LEIFSON**

Composition de milieu Hugh 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

- A. 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.
- B. 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.