

T.P. N°01

ETUDE DU METABOLISME GLUCIDIQUE (FERMENTATION DES SUCRES PAR LES BACTERIES)

1. Auxanogramme

Etude d'une gamme de sucres dégradables par la bactérie (en milieu liquide). En pratique on utilise un milieu de base fournissant tous les micronutriments nécessaires à son développement à l'exception de tout substrat carboné, celui-ci est rajouté sous une forme biochimique bien définie.

But

Déterminer la capacité de la bactérie à dégrader un sucre donné mis dans un milieu de base, et ce, en produisant de l'acide.

Technique

- A partir d'un bouillon de culture,ensemencer des tubes contenant différents sucres (glucose, saccharose et fructose) et un indicateur de pH.

Le milieu utilisé contient :

- Peptone 15g
- NaCl 5g
- Glucide à étudier avec une concentration finale de 1% (glucose, saccharose et fructose)
- Indicateur de pH (1%) le rouge de phénol 5ml

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. Opérer le plus possible en **aérobiose**

Utiliser des milieux:

- Peu peptonés (pour restreindre le métabolisme protéique)
- Peu tamponnés
- Gélosés (pour limiter la diffusion des composés acides).

Deux milieux répondent à ces exigences:

- Milieu de **HUGH et LEIFSON (HL)**
- Milieu **MEVAG** (Milieu d'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides).

Technique

- Régénérer le milieu au bain-marie bouillant (20 min à ébullition).
- Attendre le refroidissement.
- Ensemencer par **piqûre centrale** à l'aide d'une pipette Pasteur ou d'un fil droit chargé de culture à étudier.
- Etuver à 37°C **en ne revissant pas à fond le bouchon.**
- Lire les résultats après 24h de culture ou plus, pour les bactéries oxydatives ou fermentatives à croissance lente.