

LE MILIEU HAJNA-KLIGER

1. Intérêt

Ce milieu d'identification permet de mettre en évidence :

- la fermentation du **glucose** avec ou sans production de **gaz**
- la dégradation du **lactose**
- la production de **H₂S**

Il permet aussi la recherche de la **β-galactosidase** en 2^{ème} jour.

2. Composition

Composant	Quantité (g/L)	Rôle
Extrait de viande de bœuf, de levures, peptones	15	Apport de facteur de croissance, source d'N, de C.
Chlorure de sodium	5	Maintien de l'isotonie
Thiosulfate de sodium	0,3	Lecture d'un caractère biochimique
Citrate ferrique	0,2	
Lactose	10	Lecture d'un caractère biochimique
Glucose	1	Lecture d'un caractère biochimique
Rouge de phénol	0,0024	Indicateur de pH
Agar	11	gélifiant
pH	7,1	

3. Principe

- **Mise en évidence de la dégradation du glucose et du lactose**

Ce milieu contient deux glucides, le **glucose** et le **lactose** présents à des concentrations différentes : [glucose] < [lactose]

⇒ *le glucose est toujours utilisé en premier par la bactérie, jusqu'à épuisement car le glucose inhibe les enzymes nécessaires à l'utilisation du lactose.*

On distingue deux zones dans le milieu :

- **dans le culot**, en anaérobiose, le glucose, en faible concentration, est dégradé par la bactérie par **voie fermentative**. Sa dégradation entraîne la **formation de produits acides**. L'**acidification** au niveau du culot est révélée par le virage de l'indicateur coloré (le rouge de phénol) à sa teinte acide (jaune).

Il y a éventuellement production de gaz (H₂ ou CO₂) plus ou moins abondants formant des bulles ou décollant la gélose.

- **sur la pente**, en aérobie, le glucose est dégradé par **voie oxydative**. L'acidification produite sera donc faible, d'autant que la quantité de glucose présente est faible.

Deux cas peuvent alors se présenter :

- **la bactérie ne peut pas dégrader le lactose** : lorsque le glucose est épuisé, elle dégrade alors les **peptones** entraînant la formation de produits basiques. L'**alcalinisation** est révélée par le virage de l'indicateur coloré (le rouge de phénol) à sa teinte basique (rouge).
- **la bactérie peut utiliser le lactose** : après épuisement du glucose, elle dégrade le lactose, entraînant ainsi la **formation de produits acides** en grande quantité. Dans ce cas, l'indicateur de pH reste à **sa teinte acide** au niveau de la pente.

Remarque : une bactérie glucose - est forcément lactose -.

➤ Mise en évidence de la production de H₂S

La présence de **thiosulfate de sodium** dans le milieu et de **fer III** permet également d'apprécier la capacité des bactéries à produire de l'H₂S à partir du thiosulfate.

⇒ le H₂S forme un précipité noir avec le Fer III.

4. Technique d'ensemencement

- A partir d'une suspension bactérienne, ensemencer à l'aide d'une pipette Pasteur fermée:
 - la **pente** par stries serrées
 - le **culot** par piqûre centrale
- Incuber 24 heures à 37°C, **bouchon dévissé**



5. Lecture et interprétations

Zone du tube	Caractère recherché	Observation	Interprétation	Conclusion
Culot (anaérobiose)	Glucose	 Culot jaune	Acidification du culot	Le glucose a été utilisé par voie fermentative. La bactérie est dite glucose +
		 Culot couleur inchangée	Absence d'acidification	Le glucose n'a pas été utilisé. La bactérie est dite glucose -
Pente (aérobiose)	Lactose	 Pente rouge	Absence d'acidification (la bactérie utilise les peptones avec alcalinisation du milieu)	Le lactose n'a pas été utilisé. La bactérie est dite lactose -
		 Pente jaune	Acidification de la pente	Le lactose a été utilisé. La bactérie est dite lactose +
Culot ou jonction pente culot	Production de gaz	Présence de bulles	Production de gaz	La bactérie produit du gaz en fermentant le glucose, elle est dite gaz +
		Absence de bulle	Pas de production de gaz	La bactérie est dite gaz -
	Production d'H ₂ S	Présence d'un précipité noir	La bactérie a réduit le thiosulfate de sodium en H ₂ S qui a formé un précipité noir avec le fer III	La bactérie est dite H₂S +
		Absence de précipité noir	La bactérie n'a pas réduit le thiosulfate de sodium en H ₂ S	La bactérie est dite H₂S -