

LE MILIEU HUGH ET LEIFSON

Recherche de la voie d'attaque du glucose

1. Intérêt

Ce milieu permet de déterminer la **voie d'attaque du glucose** utilisé comme source d'énergie par la plupart des bactéries.

Pour synthétiser de l'énergie, les bactéries peuvent attaquer par :

- **voie oxydative** : le glucose est utilisé uniquement en présence de dioxygène (faible libération d'acides).
- **voie fermentative** : le glucose est utilisé en absence de dioxygène et en présence de dioxygène ou seulement en absence de dioxygène (forte libération d'acides).

2. Composition

Composant	Quantité (g/L)	Rôle
Base nutritive avec peu de peptones	2,0	Apport de facteurs de croissance Source de carbone et d'azote
Bleu de bromothymol	0,03	Indicateur de pH
NaCl	5	Source de minéraux et maintien de l'isotonie
K ₂ HPO ₄	0,3	
Agar	2,5	gélifiant
pH	7,1	

ATTENTION : ajout de **glucose stérile à 1 %** avant l'ensemencement

3. Principe

Pour étudier la voie d'attaque d'un glucide, on utilise des milieux contenant **un seul glucide** et un **indicateur de pH**.

La **voie d'attaque du glucose** est étudiée grâce à :

- la présence du **glucose comme seul glucide** et du **BBT** comme indicateur de pH. L'utilisation du glucose se traduit par une acidification du milieu révélée par le virage du bleu de bromothymol à sa teinte acide (jaune).
- l'étape de **régénération** qui permet de créer un gradient de dioxygène.

4. Technique d'ensemencement

- Régénérer le tube 20 minutes à 100°C.
- Additionner stérilement le glucose pour une concentration finale de 1%
- Solidifier le milieu en le plaçant dans un bain d'eau froide
- Ensemencer par **une piqûre centrale** à l'aide du fil droit.
- Incuber 24h à 37°C, **bouchon dévissé**.

5. Lecture

Après 24 heures d'incubation à 37°C :

- on vérifie qu'il a eu culture
- on interprète le virage de l'indicateur coloré.

observation				
interprétation	Acidification du milieu révélée par l'indicateur de pH uniquement en présence de dioxygène : <i>attaque du glucose uniquement en présence de dioxygène</i>	Acidification du milieu révélée par l'indicateur de pH uniquement en absence de dioxygène : <i>attaque du glucose uniquement en absence de dioxygène</i>	Acidification du milieu révélée par l'indicateur de pH en présence et en absence de dioxygène : <i>attaque du glucose en présence ou absence de dioxygène</i>	Alcalinisation du milieu révélée par l'indicateur de pH en présence de dioxygène : <i>pas d'attaque du glucose, mais attaque des peptones comme source de carbone et d'énergie</i>
conclusion	Bactéries dégradant le glucose par VOIE OXYDATIVE	Bactéries dégradant le glucose par VOIE FERMENTATIVE	Bactéries dégradant le glucose par VOIE FERMENTATIVE (voie oxydative non exclue)	Bactéries INERTE VIS-A-VIS DU GLUCOSE