

LE TEST ONPG

1. Intérêt

Ce test est réalisé lors de l'identification de très nombreuses bactéries (Gram + et Gram -). La β -galactosidase est une enzyme qui intervient dans le **métabolisme du lactose**.

L'utilisation du lactose par la bactérie requiert deux enzymes :

- la **lactose perméase** qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie
- la **β -galactosidase** qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.

La recherche de la β -galactosidase ne présente d'intérêt **que pour les bactéries lactose -**. En effet, **toutes les bactéries lactose + sont β -galactosidase +**. La recherche de l'enzyme est donc inutile.

2. Principe

La β -galactosidase est une **enzyme inductible** : elle n'est synthétisée par la bactérie que lorsque celle-ci est en présence de son substrat.

⇒ La recherche de la β -galactosidase ne peut donc se faire que sur un **milieu contenant du lactose** (exemple : le milieu Kligler Hajna).

On utilise un **substrat synthétique** : l'ortho-nitro-phényl-galactoside (= ONPG) incolore, de structure proche du lactose et **capable de pénétrer dans la bactérie sans perméase**.

⇒ Si la bactérie possède la β -galactosidase, on obtient du galactose et de l'ortho-nitro-phénol (= ONP) de couleur **jaune**.

La réaction est la suivante :

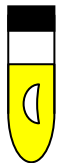
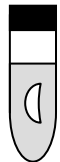
ONPG	$\xrightarrow{\beta\text{-gal}}$	ONP + galactose
substrat incolore		produit jaune

3. Ensemencement

ATTENTION : Ce test doit être effectué à partir d'une souche lactose - cultivée dans un milieu contenant du lactose.

- Faire une **suspension dense** en eau stérile (tube à hémolyse)
- Déposer un $\frac{1}{2}$ disque d'ONPG
- Placer au bain-marie à 37°C
- Lire après 30 minutes

4. Lecture

Observation	Interprétation	Conclusion
 Coloration jaune	La bactérie a hydrolysée l'ONPG en ONP (produit coloré jaune)	La bactérie possède la β -galactosidase elle est dite ONPG +
 Incolore	Il n'y a pas d'ONP dans le milieu, la bactérie n'a pas hydrolysé l'ONPG	La bactérie ne possède pas la β -galactosidase elle est dite ONPG -