

LE MILIEU DE HUGH ET LEIFSON

Ce milieu permet de **déterminer la voie d'attaque des glucides, comme par exemple le glucose.**

Principe

De l'étude du métabolisme énergétique il découle que un glucide peut être catabolisé par voie respiratoire ou par voie fermentative. Le milieu de Hugh et Leifson permet de distinguer entre les deux processus.

La dégradation d'un glucide s'accompagne généralement d'une acidification du milieu :

- lors des respirations le glucide est oxydé en CO_2 , par le dioxygène (ou un autre oxydant minéral);
- Lors des fermentations le glucide est oxydé en acides, alcools, qui sont libérés dans le milieu qu'ils acidifient sensiblement. Toutes les voies fermentaires ne sont cependant pas également acidifiantes.

Le milieu de Hugh et Leifson contient un indicateur de pH, *le bleu de bromothymol*, qui prend une couleur jaune en milieu acide.

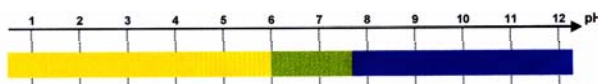


Composition

En grammes par litre d'eau distillée

Extrait de levures	1g
Peptone pancréatique de caséine	2g
NaCl	5g
K_2HPO_4	0,3g
Agar	3g
Bleu de bromothymol (solution aqueuse à 0,2g %)	15mL
Eau distillée (qsp)	1L

Indicateur Bleu de bromothymol



Technique

- **Régénérer le milieu** au bain-marie bouillant. Ramener à 45-50°C.
- **Ajouter aseptiquement le glucide étudié** (ici le glucose) pour obtenir une concentration finale de 1%.
- Agiter (l'agitation doit être douce pour éviter l'entrée d'air) et laisser le milieu se solidifier (en le passant sous l'eau froide par exemple).
- Ensemencer par piqûre centrale.
- Ne pas revisser à fond le bouchon.
- Mettre à l'étuve.

Lecture

Le milieu de Hugh et Leifson permet de distinguer trois catégories de bactéries :

- les bactéries fermentatives
- les bactéries oxydatives (qui oxydent le glucide par respiration aérobie)
- les bactéries inactives ou inertes

Calcul de la quantité de glucide à ajouter

Soit V le volume du milieu, vg le volume de la solution de glucide à ajouter, Cg la concentration de la solution de glucide, Cf la concentration finale de glucide.

On a : **n glucide dans le volume de solution prélevée = n glucide dans le volume final**

Les milieux de culture

$$\text{Soit : } C_g.vg = C_f.(V+vg)$$

On peut (la plupart du temps) négliger vg devant V : $C_g.vg = C_f.V$

$$\text{D'où : } vg = V.(C_f/C_g)$$

Exemple :

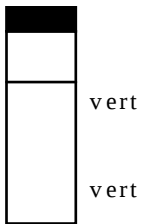
La solution de glucose est à 30%, soit 300 g.dm^{-3} . Le volume du milieu est de 20 cm^3 .

La concentration finale désirée en glucose est de 1%, soit 10 g.dm^{-3} .

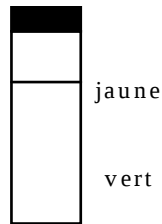
Le volume de glucose à ajouter est donc : $vg = 20.(10/300) = 0,66 \text{ cm}^3$.

Une goutte de pipette Pasteur calibrée fait environ $0,05 \text{ cm}^3$. Il faut donc 13 gouttes.

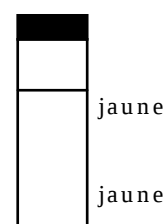
Résultats



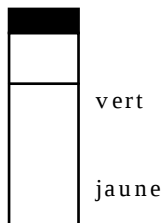
aspect initial



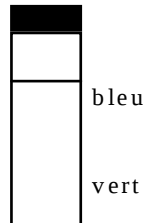
oxydation par respiration
aérobie du glucide
La souche est probablement
aérobie stricte
(vérifier le long de la piqure)



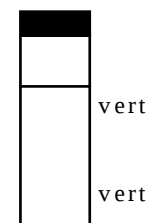
oxydation par respiration
aérobie ou fermentation
aérobie
La souche est aérobie ou anaérobie.



fermentation anaérobie
du glucide. La souche
est anaérobie stricte



alcalinisation en surface :
pas d'utilisation des glucides
mais des peptones. La souche
peut être aérobie stricte
(vérifier le long de la piqure)



vérifier la présence de
culture. Souches n'utilisant pas
le glucide et n'alcalinisant pas
à partir des peptones.