

CLARK ET LUBS

Ce milieu permet l'étude de la voie de fermentation du glucose.

Composition

en grammes par litre

peptone tryptique de viande	6
glucose	5
K ₂ HPO ₄	5
eau distillée	1 litre

pH = 7

Principe

Chez les bactéries AF, la fermentation du glucose conduit à la production :

- soit de nombreux acides par la voie des fermentations acides mixtes qui sont mis en évidence par le test RM (au rouge de méthyl),

Les acides produits par un micro-organisme sont des acides organiques plus ou moins forts (acide succinique, malique, oxalique, éthanoïque (acétique), butanoïque (butyrique), méthanoïque (formique) . . .) et du CO₂ acide faible et volatil

Le test du RM consiste à apprécier le pH du milieu après 48 heures de culture :

- soit le pH est supérieur à 7 : le test est dit négatif : il y a eu une faible alcalinisation ou une réalcalinisation.
- soit le pH est inférieur à 4,5 : le test est dit positif : il y a eu une forte acidification qui s'est maintenue.

Ce test est réalisable en 24 heures à la condition que le milieu de Clark et Lubs utilisé soit sous un faible volume, donc bien aéré et susceptible de bien libérer le CO₂ produit. Cela laisse supposer que :

- les bactéries RM + sont des bactéries produisant des acides organiques (éthanoïque...) par la voie des acides mixtes
- les bactéries RM - sont des bactéries produisant des acides organiques relativement faibles et plutôt du CO₂. par la voie butane-diolique (voir VP).

Cette distinction des deux voies peut justifier une règle parfois contestable mais fréquemment vérifiée: les bactéries VP + sont toujours RM -, les bactéries RM + sont VP -.

- soit d'acétoïne produit par fermentation butanediolique qui est mise en évidence par le test VP (Voges-Proskauer)

La fermentation butanediolique conduit à des quantités moins importantes d'acides organiques, une proportion non négligeable du pyruvate étant transformée en un produit neutre: l'acétoïne, en général réduite en butanediol.

La réaction de Voges Proskauer (VP) consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne.

Cette fermentation est pratiquée par les *Serratia*, les *Enterobacter* et les *Klebsiella*, mais aussi certains vibrions, quelques souches de *Proteus mirabilis*, certains streptocoques. . .

Elle acidifie moins le milieu que la précédente. Elle produit aussi des gaz (CO₂ et H₂).



Technique

Ensemencer largement.

Incuber 24 h à t°C optimale.

Prélever 2 fois 1 ml du milieu et les transvaser dans deux tubes à hémolyse

* test VP :

- ajouter 10 gouttes d'alpha naphthol et le même volume de soude concentrée (ou de potasse).
- incliner le tube pour permettre une bonne oxygénation.
- attendre quelques min à 1 heure.

* test RM :

- ajouter 2 à 3 gouttes de rouge de méthyl,
- la lecture est immédiate.

Lecture

Test VP



**Anneau rouge en surface
VP+**

**Anneau jaune en surface
VP -**

Test RM



**Milieu jaune
RM -**



**Milieu Rouge
RM +**