

Microbiologie

Mutation et sélection adaptative

Les espèces bactériennes présentent des variations biochimiques. Certaines bactéries, à l'intérieur d'une même espèce, expriment une capacité propre à utiliser certaines molécules du milieu où elles se trouvent.

OBJECTIFS

Mettre en évidence l'utilisation différentielle du citrate par *Proteus vulgaris*, une entérobactérie non pathogène.

Illustrer les notions de mutation, de polymorphisme génique, de sélection par le milieu.

PRINCIPE

La dégradation d'une substance organique par une bactérie entraîne l'apparition de produits acides capables de faire virer un indicateur coloré approprié.

MATÉRIEL

Deux souches de *Proteus vulgaris*, l'une citrate positive, l'autre citrate négative.

Milieus au citrate de Sodium (deux par souche) :

- milieu au citrate de Simmons (CS) ne contenant que du citrate comme source de carbone ;
- milieu au citrate de Christensen (CCh) contenant en plus du citrate, des extraits de levure et du chlorhydrate de cystéine (sources de carbone capables de faire démarrer la culture en permettant l'élaboration des enzymes nécessaires à l'utilisation secondaire du citrate).

Anse ou pipette Pasteur.

Dispositif de stérilisation par la chaleur (bec Bunsen).

Bac d'eau de Javel.

Étuve à 37°C (la manipulation peut marcher à 20°C, température de la pièce).

Autoclave.

RÉALISATION

Préparation préliminaire

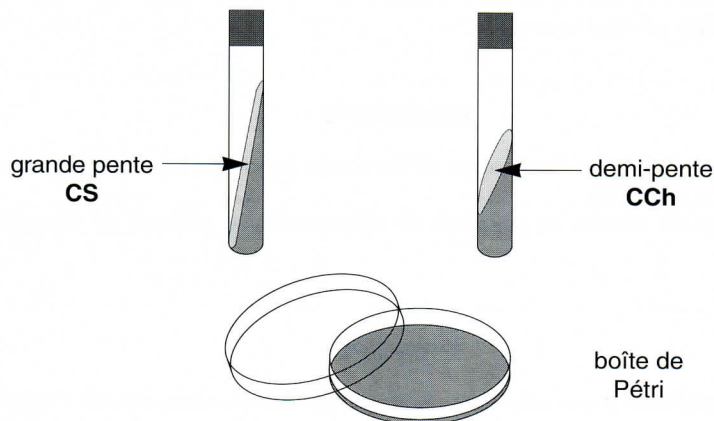
Pour chaque poste de travail prévoir :

- un premier portoir avec 2 milieux CS et 2 milieux CCh ;
- un second portoir avec une souche de *Proteus vulgaris* notée 1, une autre notée 2.

Ensemencement

Si le milieu se présente en tube, l'ensemencer stérilement par stries parallèles serrées jusqu'à 1cm du sommet.

Si le milieu a été confectionné en boîte de Pétri, ensemer de la même façon la surface de la gélose sans toucher les bords de la boîte.



On utilise des techniques de manipulation en conditions stériles déjà mises en œuvre avec les cultures *in vitro*.

Incubation

Elle se fait à 37°C pendant 48 heures. Conserver ensuite au réfrigérateur jusqu'à la lecture.

Lecture

Sur le milieu de Simmons : l'existence d'une pousse de la bactérie met en évidence son caractère *citrate* +. Eventuellement, on observe un bleuissement du milieu par alcalinisation sous l'action de l'activité bactérienne.

Sur milieu de Christensen : les bactéries *citrate de Christensen* + alcalinisent le milieu qui passe du jaune orangé à l'orange et au rouge.

EXPLOITATION

● Les bactéries ne poussant pas sur le milieu CS ne peuvent utiliser le citrate comme source de carbone. Elles sont *citrate* -. Celles qui alcalinisent le milieu CCh sont capables d'utiliser le citrate, elles sont *citrate Christensen* +.

● Trois types de résultats sont donc possibles :

- souche bactérienne citrate + sur Christensen et citrate - sur Simmons ;
- souche *citrate* + sur Simmons et donc *citrate* + sur Christensen
- souche *citrate* - sur Simmons et sur Christensen.

● On met aussi en évidence :

- un équipement enzymatique différent au sein d'un même espèce bactérienne ;
- une capacité d'adaptation différentielle au milieu, selon les souches (notion de

SOUCHES ET MILIEUX

● Pour les souches, on peut s'adresser à l'institut Pasteur de Paris :

- une souche de *Proteus vulgaris* est prévue pour l'enseignement : elle est *citrate -* en 48 heures, *citrate +* après 72 heures. Prix 150F.
- deux souches de *Proteus vulgaris* présentent un caractère citrate déterminé :
- l'une *citrate -*, code CIP 5860, prix : 300F,
- l'autre *citrate +*, code 54162, prix : 300F.

Ces souches se conservent un an et peuvent être repiquées en milieu neuf pendant une dizaine d'années.

● Milieux de culture.

Les milieux au citrate sont commercialisés prêts à l'emploi. Ce sont des milieux solides conditionnés en tube, coulés en grande pente. On peut aussi les réaliser à partir de milieux déshydratés (moins chers mais ceci demande plus de travail). S'adresser à Pasteur, Mérieux... (voir catalogues de bactériologie).

