

Coloration au tétrazolium

Réf. LEV/COLO

Manipulation à réaliser lors de la seconde séance de TP (après l'interprétation des résultats de la manipulation « métabolisme de levures »).

PRINCIPE :

Elle permet de mettre en évidence la respiration d'une souche.

Lorsque la souche respire, le tétrazolium est utilisé par la cellule comme accepteur final d'électrons dans la chaîne respiratoire à la place de l'oxygène et est réduit en un composé rouge appelé FORMAZANE.

PREPARATION :

Le colorant se prépare au moment de l'emploi, de manière non stérile et en le protégeant de la lumière (papier d'aluminium) :

- Mélanger 500ml de tampon phosphate (18,9g (sachets 14a et 14b) dans 500ml d'eau) à 20°C à 500ml d'AGAR (sachet N°11) (12g dans 500ml) bouillant. La température est alors de 55°C.
- Ajouter 1g de GLUCOSE (sachet N°12) dissout auparavant dans 10ml d'eau
- Ajouter 0,8g de TETRAZOLIUM (sachet N°13) dissout dans 5ml d'eau.
-

MANIPULATION :

Après avoir bien mélangé, couler cette gélose sur les boîtes de pétri où les colonies ont poussé (les boîtes de votre choix). Laisser 1 heure à l'obscurité car le colorant est photosensible.

NB : Epaisseur de gélose à couler = 1mm.

INTERPRETATION :

Observer les colonies devenues rouges ; la coloration marche d'autant mieux que les cellules sont actives : sortir les boîtes du réfrigérateur la veille de la manipulation.