

## TP 3 : Recherche des enzymes respiratoires et du type respiratoire chez les bactéries

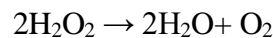
### I. Recherche des enzymes respiratoires

#### I.1. Recherche de la catalase

Le test de la catalase est réalisé pour détecter la présence de l'enzyme catalase, produite par des micro-organismes vivant dans des environnements oxygénés. Ils utilisent l'enzyme catalase pour neutraliser les effets bactéricides des formes toxiques des métabolites de l'oxygène tels que le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). La recherche de la catalase présente un intérêt taxonomique pour les bactéries à Gram +.

##### I.1.1. Principe

La catalase facilite la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en oxygène et en eau. Pour déterminer si un isolat bactérien particulier peut produire l'enzyme catalase, un petit inoculum de l'isolat bactérien est mélangé à une solution de peroxyde d'hydrogène (3 %). On observe la formation rapide de bulles d'oxygène.



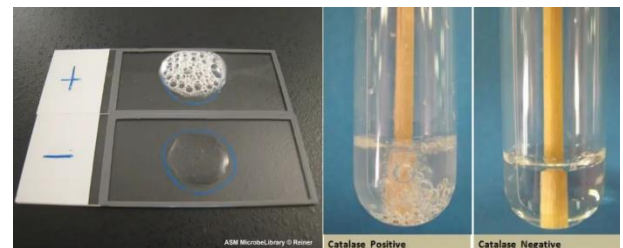
##### I.1.2. Technique

###### A. Test de la catalase sur lame

- Déposer une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3 % sur la lame et mélanger.
- Transférer une petite quantité de colonie bactérienne sur la surface d'une lame de verre propre et sèche à l'aide d'une anse de platine.
- Un résultat positif se manifeste par l'évolution rapide de l'oxygène (en 5 à 10 secondes), comme en témoigne la formation de bulles.
- Un résultat négatif se caractérise par l'absence de bulles ou seulement quelques bulles dispersées.
- Jetez votre lame dans le conteneur de déchets biologiques en verre approprié.

###### B. Test de la catalase en tube

- Ajouter 4 à 5 gouttes de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3 % dans un tube à essai.
- À l'aide d'une pipette Pasteur fermée, prélever une petite quantité de la colonie à partir d'une colonie bien isolée de 24 heures et la placer dans le tube à essai (Remarque : Faites attention de ne pas prélever d'agar, surtout si vous utilisez de l'agar sang).
- Placer le tube contre un fond sombre et observer la formation immédiate de bulles.



## II. Détermination du type respiratoire

Le type respiratoire des bactéries fait référence à la façon dont les bactéries obtiennent de l'énergie. C'est à dire c'est-à-dire définir son comportement vis-à-vis du dioxygène. Certaines bactéries ne peuvent vivre qu'en son absence, d'autres qu'en sa présence, d'autres encore sont indifférents.

### II.1. Principe

Le milieu typique utilisé pour déterminer le type respiratoire d'une bactérie est le milieu **viande foie**. La croissance de la plupart des bactéries anaérobies est favorisée par les substances nutritives apportées par la base viande-foie, et par le glucose utilisé comme source énergétique.





Composant	Quantité (g/L)	Rôle
Base viande foie	30	Apport de facteur de croissance
Glucose	2	Source de C et énergie
Agar	6	Gélifiant
pH	7,4	

### II.2. Technique

- Régénérer le milieu pendant 20 minutes au bain d'eau bouillant. Le laisser refroidir jusqu'à 44 - 47 °C.
- Plonger l'effilure d'une pipette Pasteur fermée et stérilisée par flambage dans la culture de la bactérie à étudier.
- Egoutter l'effilure, puis transporter l'inoculum dans le fond du tube, en remontant en spirale dans la gélose.
- Solidifier, puis mettre à l'étuve 24h à 37 °C.

### II.3. Lecture

Après 24 heures d'incubation à 37°C, on observe à quel niveau du tube il y a eu une croissance :

<b>Observation</b>	 Culture à la surface	 Culture partout sauf à la surface	 Culture dans tout le tube	 Culture qu'à un endroit précis du tube
<b>Interprétation</b>	Culture seulement en présence d'O <sub>2</sub>	Culture seulement en absence d'O <sub>2</sub>	Culture quelque soit la concentration en O <sub>2</sub>	Culture en présence d'une concentration d'O <sub>2</sub> < à celle de l'air
<b>Conclusion</b>	Type aérobie strict	Type anaérobie strict	Type aéro-anaérobie facultatif	Type microaérophile