

Recherche de catalase et fermentation des sucres

1. Recherche des enzymes respiratoires

a. Recherche de catalase

Intérêt

La recherche de la catalase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à Gram +.

Principe

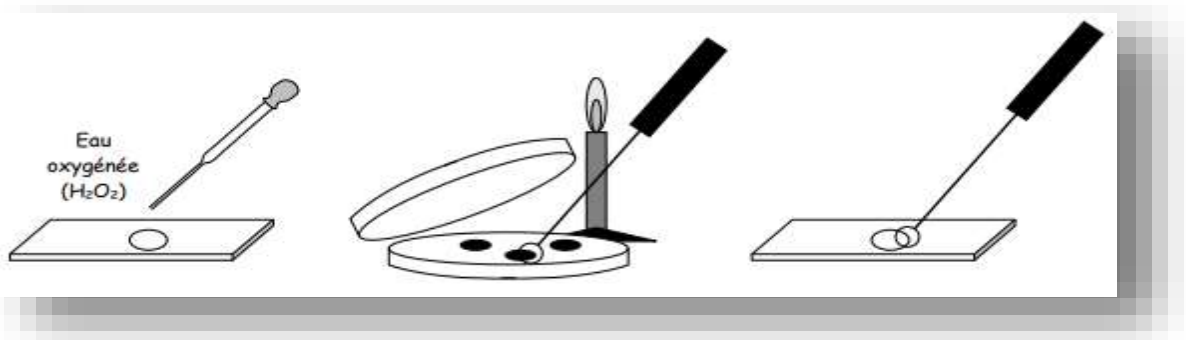
La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :



Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

Technique

- Déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Prélever une colonie à l'aide de l'anse
- Dissocier la colonie dans la goutte



Lecture

Bulles d'oxygène	Pas de bulle
La bactérie possède la catalase, elle est dite :	La bactérie ne possède pas la catalase, elle est dite :
Catalase +	Catalase -

2. Fermentation des sucres

Intérêt

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

Composition

Composant	Quantité (g/ 1L eau distillée)
Tryptone	14
Extrait de levure	3
Extrait de viande	3
Glucose	1
Lactose	10
Saccharose	10
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium	0.3
Citrate ferrique	0.3
Rouge de phénol	24
Agar	13.5

Technique d'ensemencement

- ✓ A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, ensemercer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 24 heures (capsules desserrées) de manière à favoriser les échanges gazeux.

Lecture

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). Une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncé. La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

A. Fermentation du glucose

Pour faciliter la détection des germes qui fermentent uniquement le glucose, la réaction acide (couleur jaune) est maintenue en profondeur dans le culot du tube.

- culot rouge : glucose non fermenté
- culot jaune : glucose fermenté

B. Fermentation du lactose et /ou du saccharose

Par contre, Les germes qui fermentent le lactose ou le saccharose font virer au jaune la pente du tube.

- pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés
- pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

C. Production de sulfure d'hydrogène

Cette production se manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique. La formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

D. La production de gaz (hydrogène, dioxyde de carbone)

Cette production résulte des fermentations sucrées se traduit ou bien par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose.