

Compte rendu TP n°3

Objectif :

Mise en évidence des enzymes du métabolisme des lipides.
Identifier les bactéries par la présence d'enzymes toxiques ou par galeries API.

Protocoles :

Quand il s'agit d'ensemencer un milieu solide vers un autre milieu solide stérile, on utilise l'oëse pour prélever les bactéries sur la gélose nutritive et effectuer des stries sur une boîte de Pétri vide.
Lorsqu'il s'agit d'ensemencer vers un milieu liquide, on prélève une colonie sur le milieu solide puis on ensemence en agitant le milieu liquide.
Pour ensemencer les galeries API, on prélève, avec un coton-tige, une colonie isolée, puis on réalise une suspension avec de l'eau distillée stérile puis on homogénéise le nouveau milieu. Ensuite, il faut remplir l'ensemble des tubes avec une pipette pasteur. Dans certains milieux, on ajoutera de la paraffine pour créer un milieu anaérobie.

Présentation des résultats :

| | <i>Staphylococcus epidermis</i> | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | <i>Serratia marcescens</i> |
|--|--|--------------------------------|--|
| Estérase : aspect du milieu de Sierra | Lisse, pas de précipitation | Précipitation, lisse | Précipitation, bactéries rouges plutôt rugueux |
| Lipase : aspect du milieu à la tributyrine | Aucun changement de couleur, blanc, lisse, | Jaune / blanc, lisse | Marron jaune |

| | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Staphylococcus epidermis</i> |
|---|---|---------------------------------|
| Aspect des colonies sur le milieu de Baird Parker | Éclaircissement avec un liseré moins opaque | Liseré opaque |
| Coagulation du plasma de lapin | Coagulation | Aucune coagulation |
| Aspect du mélange suspension de latex + suspension bactérienne | Précipité | Aucun précipité |
| Aspect de la gélose à l'ADN après addition de bleu de toluidine | Bleu | Bleu |

Nous avons les boîtes de pétri 1 et A.
Sur la galerie API 20E, on trouve la valeur 7304112 par la somme des termes et cette valeur correspond à *Halfnia alvei* avec 91.6% de chance.

Sur la galerie API Staph, on trouve la valeur 67061513, cette valeur correspond à *Staphylococcus epidermis* à 90.7 % de chance.

Interprétation :

Staphylococcus epidermis est estérase négative, elle n'hydrolyse pas les esters en acide gras et alcool, contrairement à *Pseudomonas fluorescens* et *Serratia marcescens* qui sont estérase positives. *Staphylococcus epidermis* est lipase négative alors que *Pseudomonas fluorescens* et *Serratia marcescens* sont lipase positives, c'est-à-dire qu'elles hydrolysent les trois liaisons ester de la tributyrine.

Grâce au milieu de Baird Parker, on voit que *Staphylococcus aureus* est lipoprotéinase négative et lécithinase négative tandis que *Staphylococcus epidermidis* est lécithinase positive, ce qui entraîne une hydrolyse des liaisons ester ou ester phosphoriques de la lécithine du jaune d'oeuf. De plus, la bactérie est lipoprotéinase positive, c'est-à-dire qu'elle hydrolyse la lipoprotéine du jaune d'oeuf.

Au contact du plasma de lapin, *Staphylococcus aureus* produit de la coagulase alors que *Staphylococcus epidermidis* n'en produit pas.

On se rend aussi compte que *Staphylococcus aureus* a un récepteur du fibrinogène tandis que *Staphylococcus epidermidis* n'en possède pas. Enfin, aucune des deux bactéries ne contient de l'ADNase.

Critique du mode opératoire :

Pour l'expérience sur le milieu de Baird Parker, il était difficile de différencier l'éclaircissement autour de la strie et la précipitation des acides gras.

Pour les observations sur les boîtes de pétri, les contaminations peuvent altérer la visualisation de la précipitation et ainsi fausser le jugement et l'appréciation.

Le *Staphylococcus aureus*, en présence de bleu de toluidine, est resté bleu, ce qui témoigne d'une absence d'ADNase alors qu'il devrait virer au violet.

Lors des expériences sur les galeries API, on avait parfois une coloration verte alors qu'on devait avoir une couleur jaune ou bleue. Dans ce cas-là, il aurait fallu attendre plus longtemps pour que le pH continue de varier et de diminuer.

Conclusion :

Nous avons pu, pour certaines bactéries, mettre en évidence la présence d'estérase, de lipase, de lécithinase et de lipoprotéinase afin d'intégrer les lipides à leur métabolisme. Ensuite, nous avons pu identifier le *Staphylococcus aureus* par la présence de coagulase, de coagulase liée et d'ADNase. Enfin, nous avons pu identifier des bactéries grâce à la méthode des galeries API.