

## Compte rendu TP n°2

### Objectifs :

- Mettre en évidence le type métabolique ainsi que la fermentation des différents sucres.
- Mise en évidence du métabolisme azoté.

### Protocole expérimental :

#### - L'ensemencement :

Quand il s'agit d'ensemencer un milieu liquide avec un milieu liquide, on utilise la pipette pasteur, on prélève quelques millilitres du milieu de départ que l'on dépose dans le milieu à ensemencer.

Quand il s'agit d'ensemencer un milieu solide avec un milieu solide, on utilise le fil droit ou l'oëse pour prélever les bactéries sur la gélose nutritive, puis effectuer un frottis ou une piqûre selon les besoins de l'expérience.

En général, les milieux solides à prélever sont sur boîte de pétri tandis que les milieux liquides restent dans un tube.

#### - L'incubation :

Elle dépend des conditions extérieures que l'on veut fournir à la bactérie, que ce soit favorable ou défavorable.

En effet, on peut chauffer ou refroidir le milieu à souhait dans le but d'étudier le développement de celles-ci dans le tube ou la boîte de Pétri tout en les mettant en milieu aérobie ou anaérobie.

Dans toutes les expériences de ce TP, les incubations se sont faites à 37°C pendant au moins 48h.

### Présentation des résultats :

	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>
Aspect des cultures sur le milieu de Hugh et Leifson ou MEVAG	H&L : orange partout	MEVAG : Jaune partout	H&L : jaune en surface et vert dans le culot
<b>Nitrate réductase</b>			
Après l'ajout du réactif de Griess	Jaune, aucun changement	Aucun changement de couleur	Changement de couleur = rose
Après l'ajout de Zinc	Coloration rose	Coloration grise	Aucune coloration

#### Fermentation des sucres sur *E.coli* :

Pour le maltose, on obtient un milieu jaune avec des bulles qui indique que l'on a une production de gaz.

Pour le lactose, le milieu de Kligler contient 2 phases : une rouge sur la pente et une jaune dans le culot. Lors du test à l'ONPG, on obtient un virage jaune.

#### Voie fermentaire utilisé par les entérobactéries :

	<i>E.coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
Couleur du mélange milieu CL + rouge de méhyl	Rouge clair avec émulsion, tout petits grains	Rouge avec des petits grains, aucune émulsion
Couleur du mélange milieu CL + réactifs VP <sub>1</sub> et VP <sub>2</sub>	Aucun changement de coloration → Jaune	Aucun changement de coloration → Jaune

Pour le citrate de sodium, *Salmonella arizonae* s'est développée sur la tranche avec des colonies mi-lisses, mi-rugueuses, la couleur de la tranche a viré au bleu.

La caséine est un constituant principale des protéines de lait. Sur les boîtes de Pétri, *Pseudomonas* et *Staphylococcus* ont éclairci le milieu autour des colonies qui relève de l'absence de lait donc de caséine.

Dégradation des acides aminés :

	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Hafnia alve</i>
<b>Milieu Lysine-Fer</b>		
Couleur du culot, L.D.C	Rose-rouge	Noir, violet
Couleur de la tranche	Marron-jaune	Violet
L.D.A	Début formation complexe	Aucun formation de complexe
H <sub>2</sub> S	Non	Oui
<b>Milieu urée-indole</b>		
Coloration du milieu avec perchlorure de fer	Rose	Orange
T.D.A Coloration après addition de réactif de James ou Kovacks	Marron Coloration	Aucun changement de coloration Coloration orange en surface

Interprétation :

Le glucose a été utilisé dans la plupart des expériences. Cependant, pour montrer d'autres voies métaboliques, le maltose et le lactose ont été utilisés.

*E.coli* est une bactérie de type AAF, ne possède pas nitrate-réductase, mais synthétise de  $\beta$ -galactosidase. De plus, la bactérie utilise la voie fermentaire mixte mais pas la voie butylène glycolique, comme *Enterobacter aerogenes*.

*Staphylococcus* est aussi du type AAF, est nitrate réductase + et fait la protéolyse de la caséine.

*Pseudomonas* est de type aérobie stricte, est nitrate-réductase + et « digère » aussi la caséine.

*Salmonella arizonae* utilise le citrate de sodium donc alcalinise son milieu.

*Proteus vulgaris* ne possède pas la L.D.C mais possède la T.D.A. Elle est indole +, triptophanase +, uréase + mais ne fait pas de réaction avec H<sub>2</sub>S.

*Hafnia alvei* possède L.D.C mais pas L.D.A et forme un complexe H<sub>2</sub>S. Elle est indole - et uréase -.

Critique des modes opératoires :

On a eu, sur les boîtes de pétri, un problème d'ensemencement de bactéries, c'est à dire, qu'il y avait des colonies indésirables ainsi que des moisissures dues, sans doute, à une mauvaise stérilisation du matériel (anse pasteur) ou un problème d'éloignement de la zone autour de la flamme. La croissance des bactéries s'est bien faite donc on a bien pu observer le développement des bactéries dans chaque tube. De ce fait, on peut donc considérer que l'incubation s'est faite assez longtemps et dans de bonnes conditions.

Conclusion :

En définitive, les bactéries transforment et assurent leur « alimentation » à travers des processus métaboliques oxydatifs ou fermentaires, afin de produire de l'ATP puis par la suite, de reconstituer des protéines et des sucres. On a pu donc définir chaque type métabolique assez facilement ainsi que leur capacité à se développer dans des milieux différents. On peut se demander s'il n'existe pas d'autres manières de mettre en valeur les voies métaboliques.