

Module S2M8

TP de Microbiologie

TP n°4 : La famille des
ENTEROBACTERIACEAE

Famille des *ENTEROBACTERIACEAE*

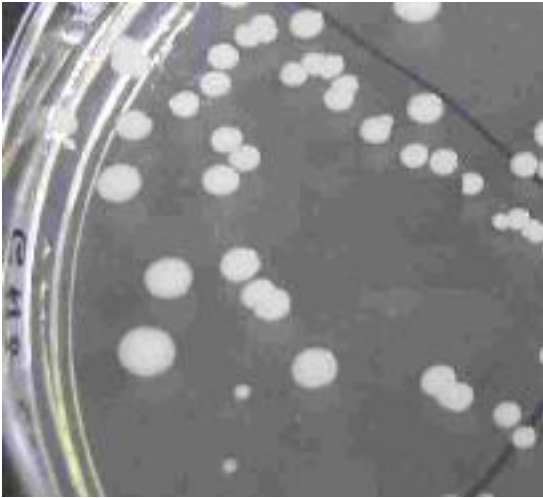
Définition :

- Bacille Gram -
- Oxydase négative
- Immobile ou mobile par une ciliature péritriche
- Culture sur les milieux ordinaires
- Type respiratoire aéro-anaérobie facultatif
- Fermentation du glucose avec ou sans gaz
- Réduction des nitrates en nitrites

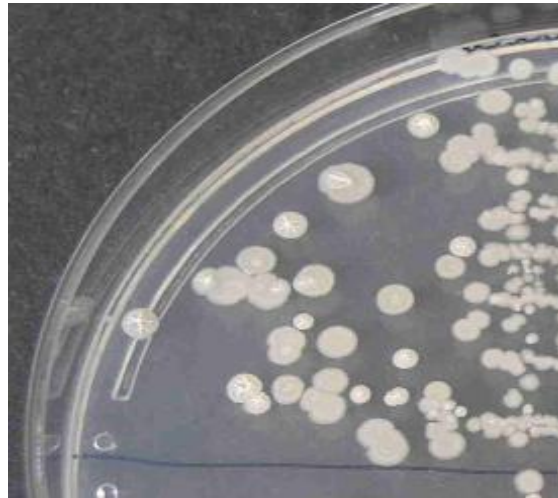
Morphologie des *ENTEROBACTERIACEAE*



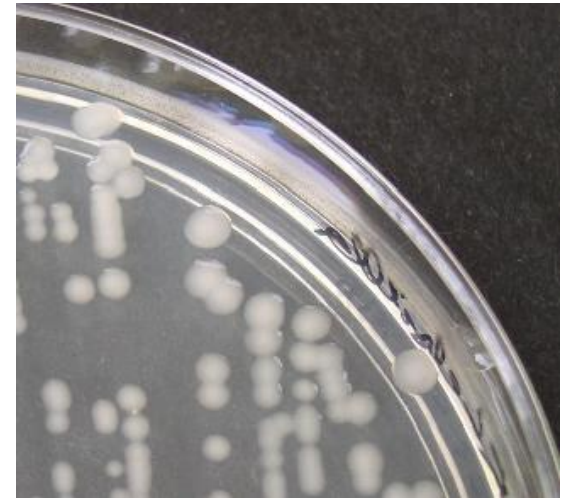
Macroscopie des *ENTEROBACTERIACEAE*



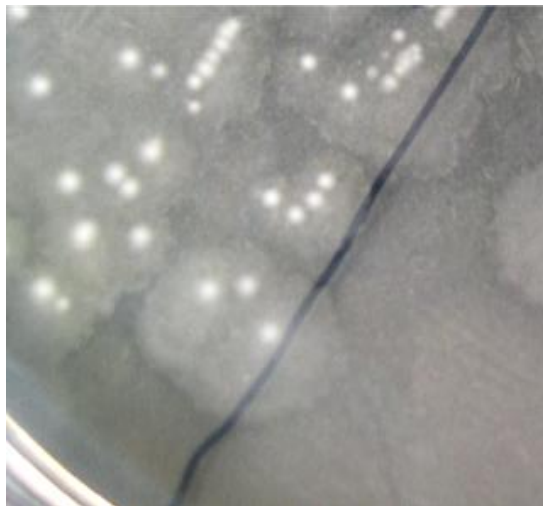
Colonies de Type S



Colonies de Type R



Colonies de Type M

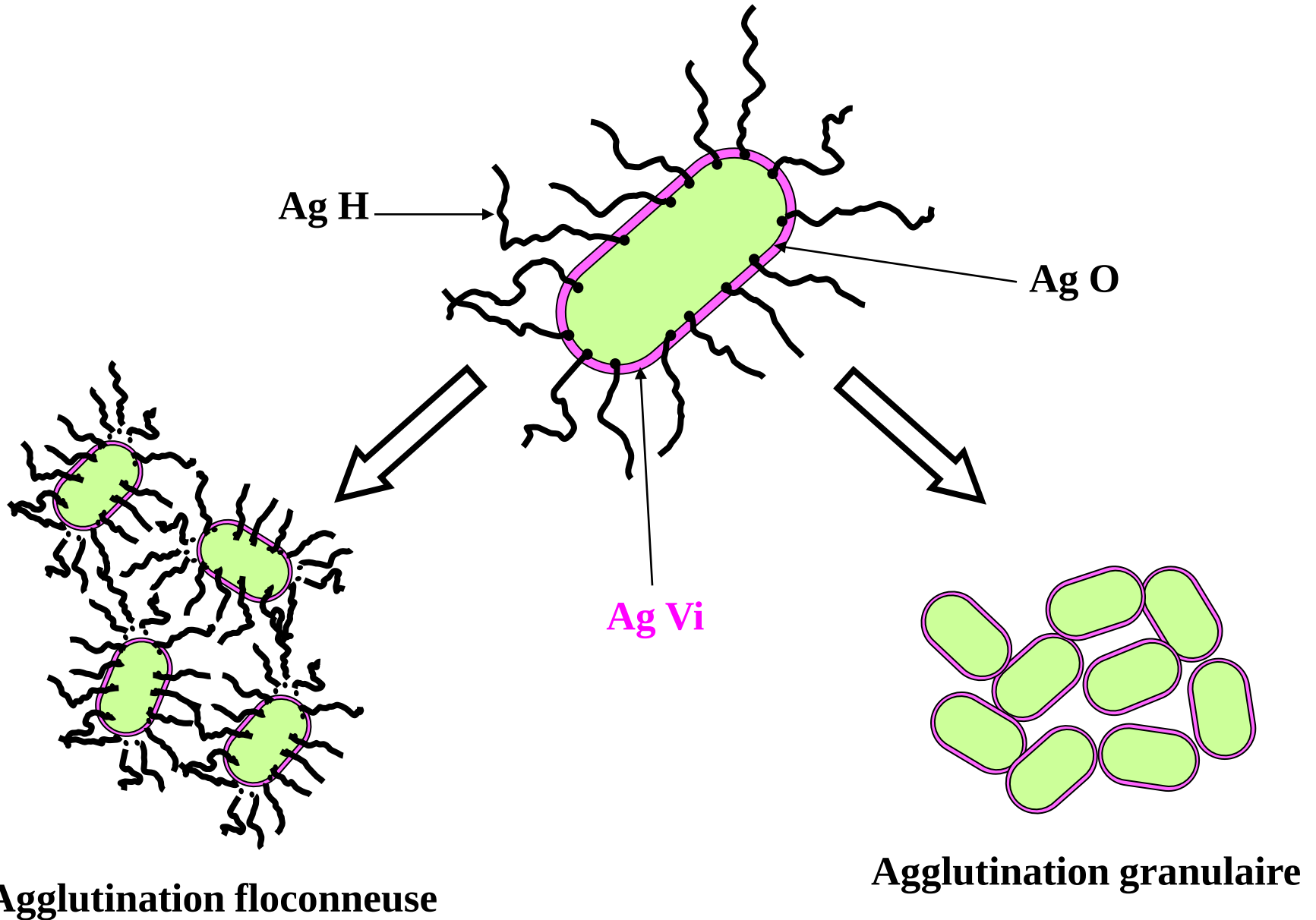


Swarming

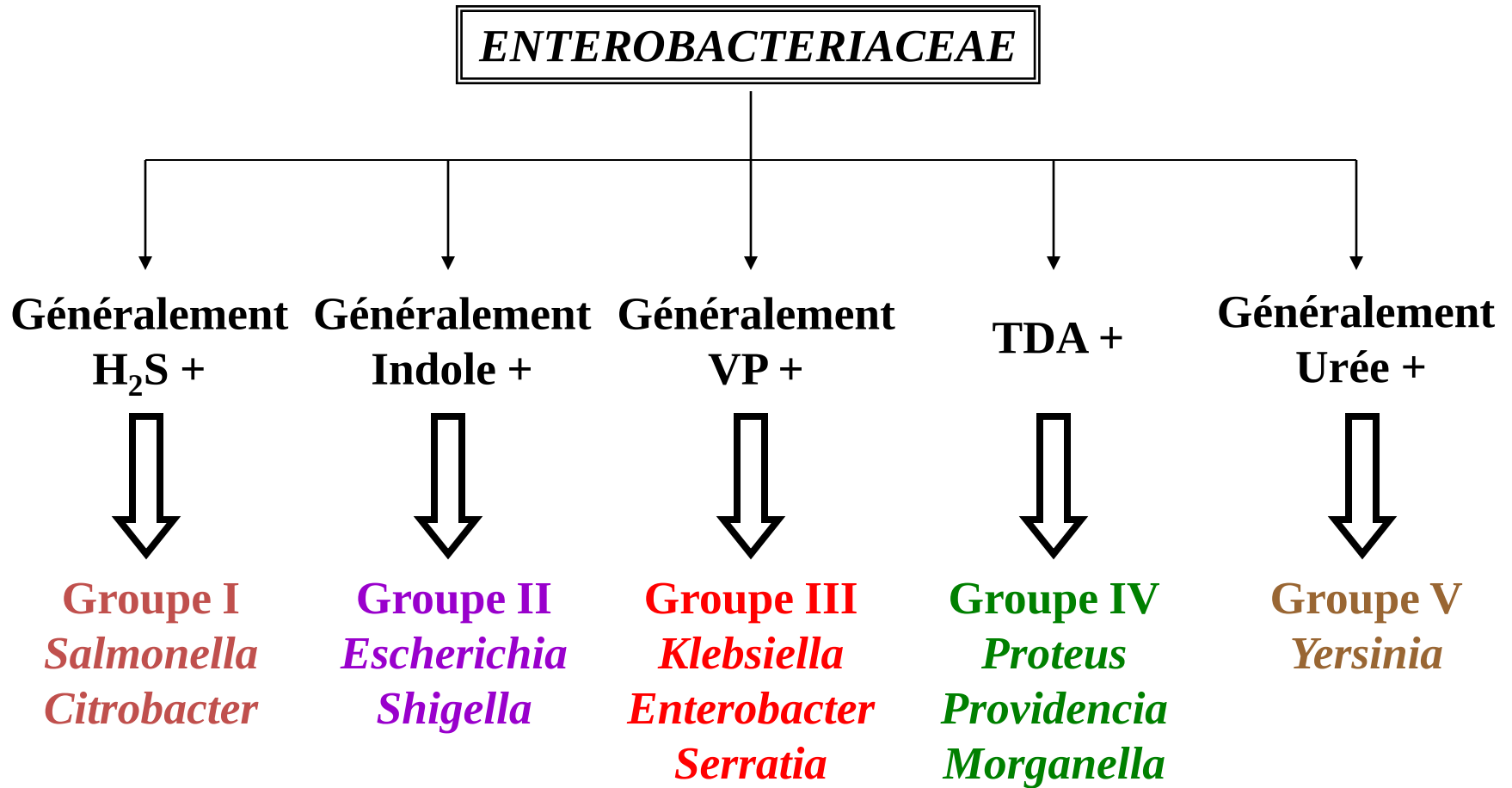


Colonies pigmentées

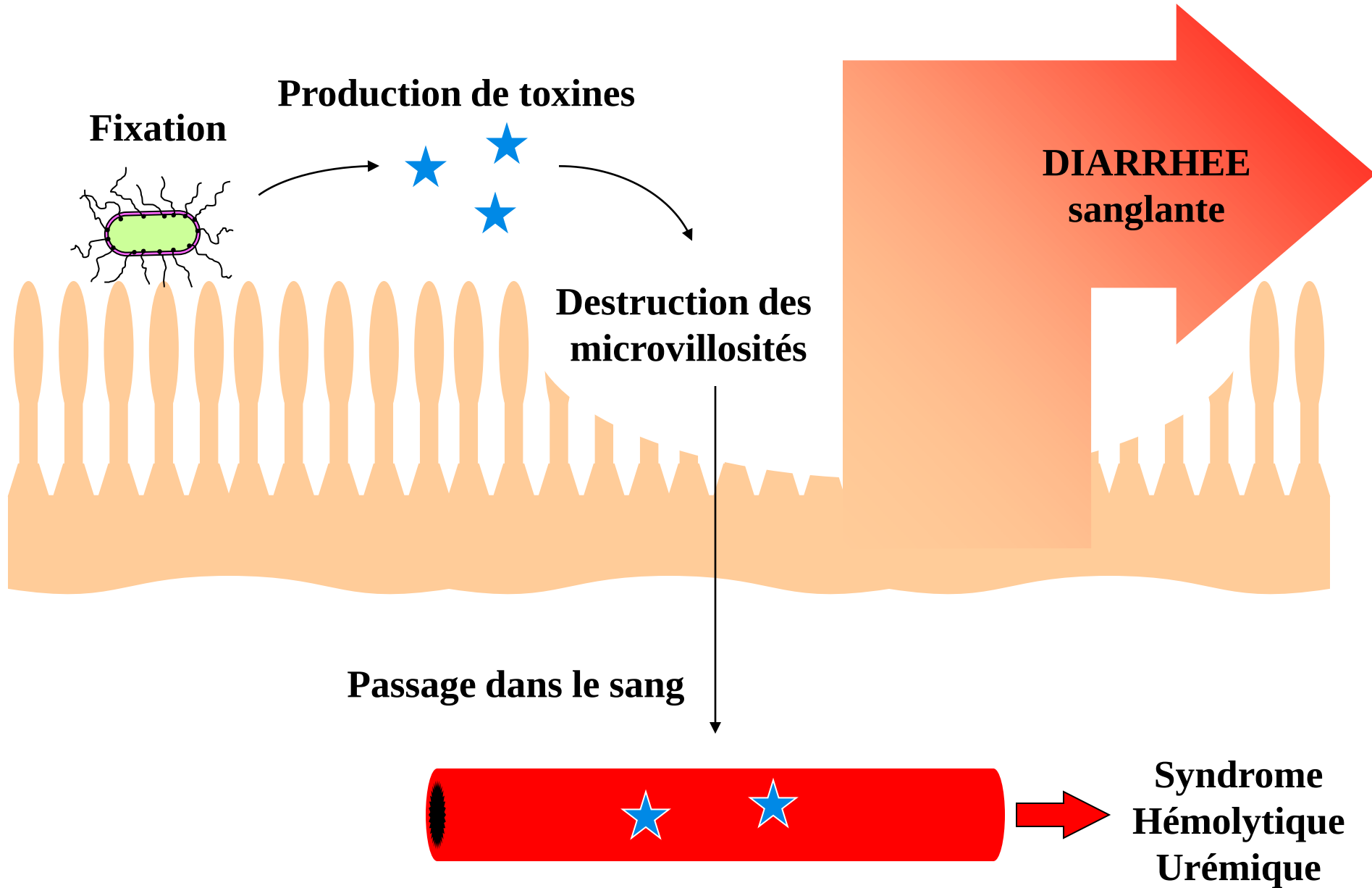
Les principaux antigènes des *ENTEROBACTERIACEAE*



Classification des *ENTEROBACTERIACEAE* par groupe



Mécanisme d'action des EHEC



Orientation vers la famille des *ENTEROBACTERIACEAE*

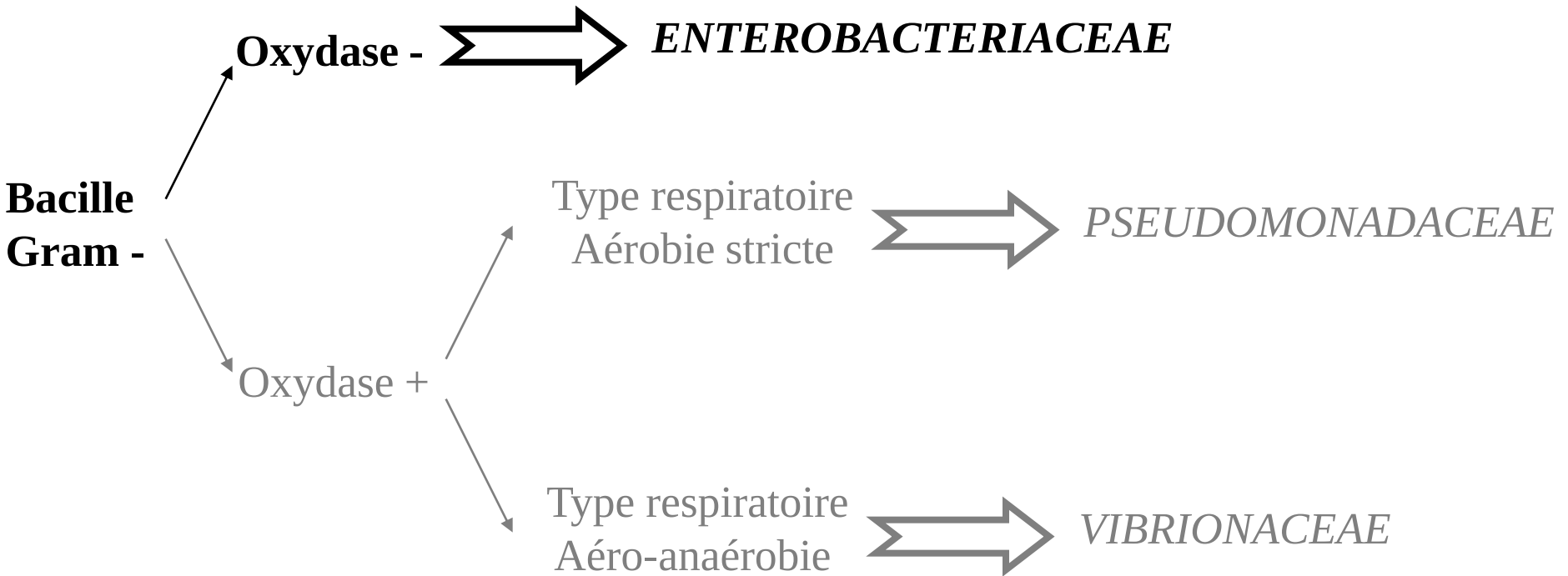


Tableau d'identification des *ENTEROBACTERIACEAE*

Genre	Espèce	Mobilité à 37 °C	Mobilité à 22 °C	Lactose	Gaz en glucose	H ₂ S	ONPG	Urée	Indole	TDA	LDC	ODC	ADH	Mannitol	RM	VP	Citrate Simmons	Gélatinase	Adonitol	Arabinose	Dulcitol	Melibiose	Raffinose	Rhamnose	Saccharose	Sorbitol	Thréalose	Xylose
<i>Citrobacter</i>	<i>amalonaticus</i>	+	+	d	+	-	+	[+]	+	-	-	+	[+]	+	+	-	[+]	-	-	+	-	-	-	+	[-]	+	+	+
<i>Citrobacter</i>	<i>diversus</i>	+	+	d	+	-	+	d	+	-	-	+	d	+	+	-	+	-	+	+	d	-	-	+	d	+	+	+
<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i>	+	+	d	+	[+]	+	d	-	-	-	[-]	d	+	+	-	+	-	-	+	d	d	d	+	d	+	+	+
<i>Edwardsiella</i>	<i>tarda</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter</i>	<i>aerogenes</i>	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter</i>	<i>agglomerans</i>	[+]	+	d	[-]	-	+	[-]	[-]	-	-	-	-	+	d	d	d	-	-	+	[-]	d	d	[+]	[+]	d	+	+
<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i>	+	+	+	+	-	+	d	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	[-]	+	[-]	d	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	d	[-]	+	+	-	-	-	-	+	d	[+]	d	[+]	d	+	+	+
<i>Escherichia</i>	<i>coli "inactive"</i>	-	-	[-]	-	-	d	-	[+]	-	d	[-]	-	+	+	-	-	-	-	[+]	d	d	[-]	d	[-]	[+]	+	d
<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	d	[+]	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+
<i>Klebsiella</i>	<i>oxytoca</i>	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	[-]	+	+	-	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae subsp. ozaenae</i>	-	-	d	d	-	[+]	-	-	-	d	-	-	+	+	-	d	-	+	+	-	+	+	d	[-]	d	+	+
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	[-]	+	+	-	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae subsp. rhinoscléromatis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	[+]	+	+	+
<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i>	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	d	d	+	-	-	-	-	-	-	[-]	-	+	+
<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>	+	+	-	[+]	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	[-]	+	-	-	-	-	-	-	+	-	d	+
<i>Providencia</i>	<i>alcalifaciens</i>	+	+	-	[+]	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	[-]	-	-	-
<i>Providencia</i>	<i>rettgeri</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	d	[-]	-	-	-
<i>Providencia</i>	<i>stuartii</i>	[+]	[+]	-	-	-	-	d	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	d	-	+	-
<i>Salmonella</i>	<i>bongori</i>	+	+	-	[+]	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	[+]	-	+	-	+	+	+
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis subsp. arizonae</i>	+	+	[-]	+	+	d	-	-	-	+	+	d	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis subsp. choleraesuis</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	d	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis subsp. diarizonae</i>	+	+	[+]	+	+	+	-	-	-	+	+	d	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis subsp. houtanae</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	d	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis subsp. indica</i>	+	+	[-]	+	+	d	-	-	-	+	+	d	+	+	-	[+]	-	-	+	d	[+]	-	+	-	-	+	+
<i>Salmonella</i>	<i>choleraesuis subsp. salamae</i>	+	+	-	+	+	[-]	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+
<i>Serratia</i>	<i>fonticola</i>	+	+	+	[+]	-	+	[-]	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	[+]	[-]	+	+	[+]
<i>Serratia</i>	<i>liquefaciens</i>	+	+	-	[+]	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	[+]	[+]	[-]	+	+	+	+
<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>	+	+	-	d	-	+	[-]	-	-	+	+	-	+	[-]	+	+	+	d	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>Serratia</i>	<i>odorifera biogroupe 1</i>	+	+	d	-	-	+	-	d	-	+	+	-	+	+	d	+	+	d	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Serratia</i>	<i>odorifera biogroupe 2</i>	+	+	+	[-]	-	+	-	d	-	+	-	-	+	d	+	+	+	d	+	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Shigella</i>	<i>dysenteriae</i>	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	d	-	d	d	-	-	d	[+]	-
<i>Shigella</i>	<i>flexneri et boydii</i>	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	d	-	d	d	-	-	d	[+]	-
<i>Shigella</i>	<i>sonnei</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	[-]	-	[+]	-	-	+	-
<i>Yersinia</i>	<i>enterocolitica</i>	-	+	-	-	-	+	[+]	d	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	d
<i>Yersinia</i>	<i>pestis</i>	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	+	[+]	-	-	-	-	+	-	[-]	-	-	-	d	+	+
<i>Yersinia</i>	<i>pseudotuberculosis</i>	-	+	-	-	-	d	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	d	-	d	[-]	d	-	-	+	+

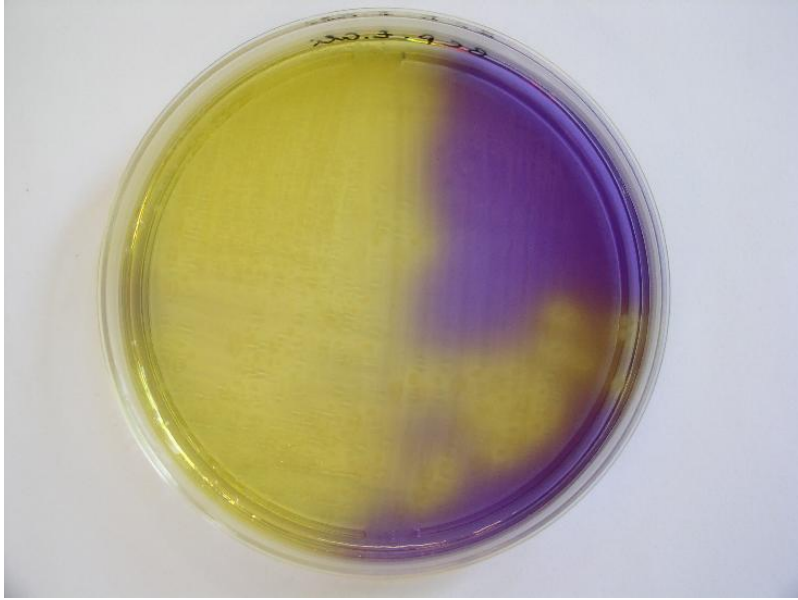
Bacille Gram –
Culture sur milieu ordinaire
Aéro-anaérobie
Oxydase –
Réduction des nitrates en nitrites
Fermentation du glucose



Milieux d'isolement des *ENTEROBACTERIACEAE* (1/5)

Milieu	Indicateur de réaction	Sucre	Virage de l'indicateur	Inhibiteurs	Détection de la production d'H ₂ S	Sérotypage possible
BCP	BCP	Lactose	+ : Jaune - : Violet	Non	Non	Oui
Mac Conkey	Rouge neutre	Lactose	+ : Rouge - : Incolore	Cristal violet Sels biliaires	Non	Possible
EMB	Eosine Bleu de méthylène	Lactose	+ : Violet - : Gris	Eosine Bleu de méthylène	Non	Oui
Desoxycholate lactose	Rouge neutre	Lactose	+ : Rouge - : Incolore	Citrate Désoxycholate	Non	Non
VRBL	Rouge neutre	Lactose	+ : Rouge - : Incolore	Cristal violet Sels biliaires	Non	Non
DCLS	Rouge neutre	Lactose Saccharose	+ : Rouge - : Incolore	Citrate Désoxycholate	Non	Non
Hektoen	Fuschine acide BBT	Lactose Saccharose Salicine	+ : Saumon - : Vert	Sels biliaires	Oui	Possible
SS	Rouge neutre	Lactose	+ : Rouge - : Incolore	Citrate Sels biliaires	Oui	Non

Milieux d'isolement des *ENTEROBACTERIACEAE* (2/5)



Milieu BCP
Souche lactose +

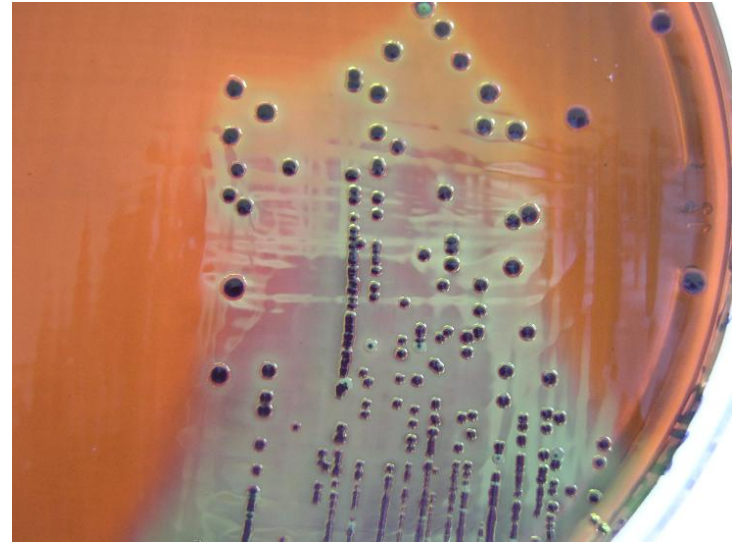
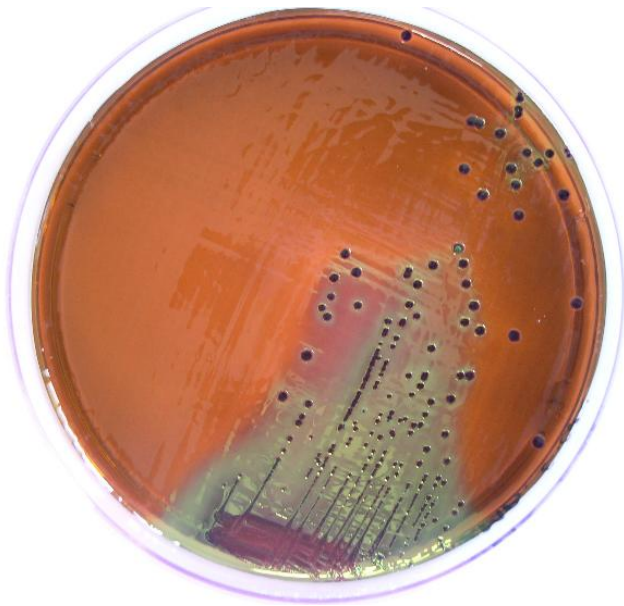


Milieu Mac Conkey
Souche lactose +



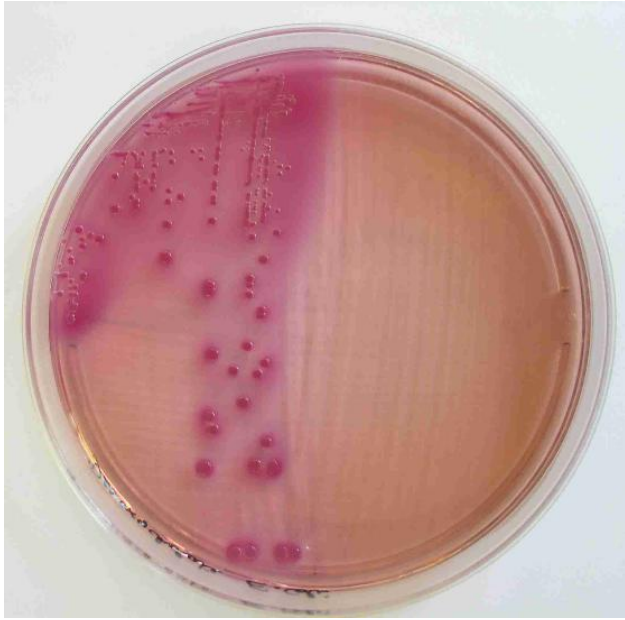
Milieu Mac Conkey
Souche lactose -

Milieux d'isolement des *ENTEROBACTERIACEAE* (3/5)

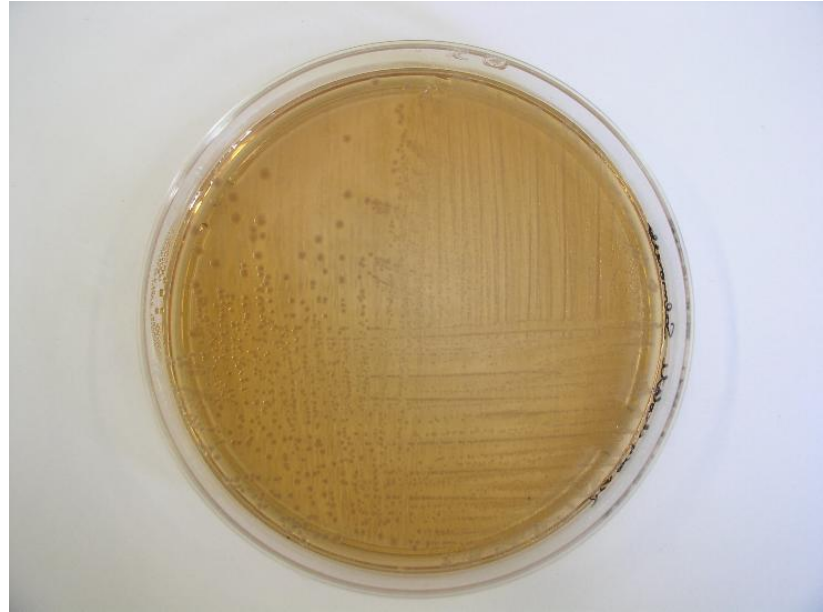


Escherichia coli sur EMB

Milieux d'isolement des *ENTEROBACTERIACEAE* (4/5)

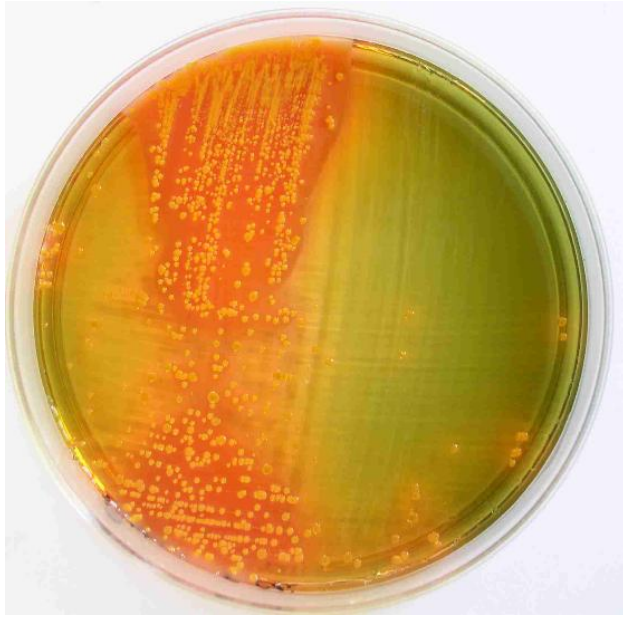


Milieu Désoxycholate
Souche lactose +

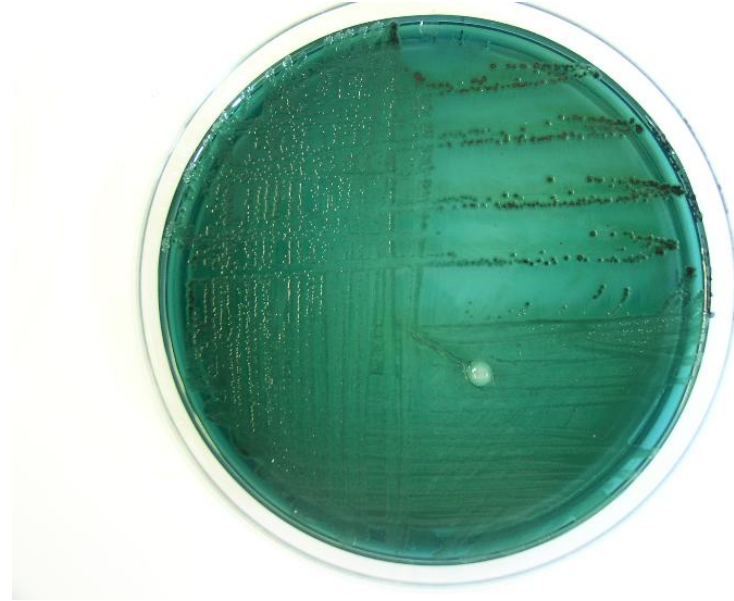


Milieu Désoxycholate
Souche lactose -

Milieux d'isolement des *ENTEROBACTERIACEAE* (5/5)

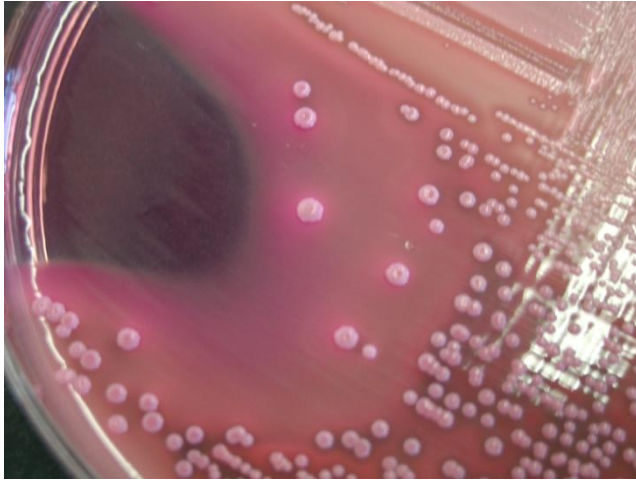


Milieu Hektoen
Souche sucre + et H₂S –

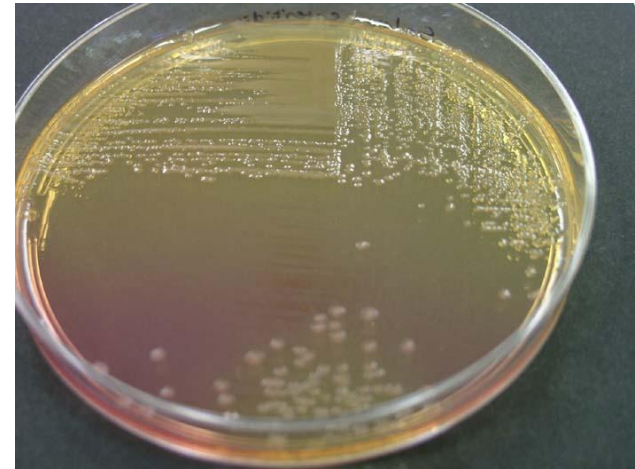


Milieu Hektoen
Souche Sucre – et H₂S +

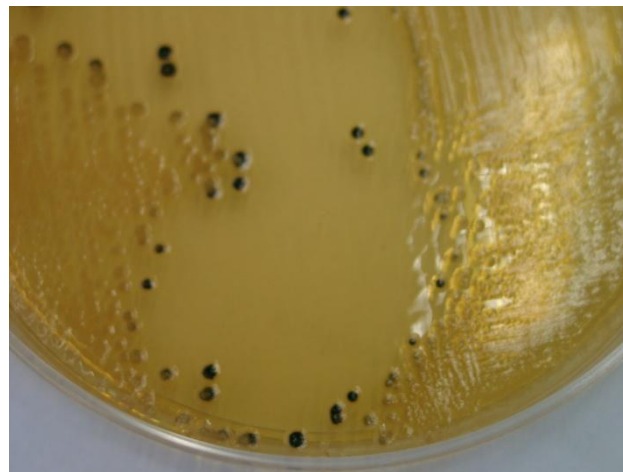
Milieux d'isolement des *ENTEROBACTERIACEAE* (6/5)



Milieu SS
Souche lactose +

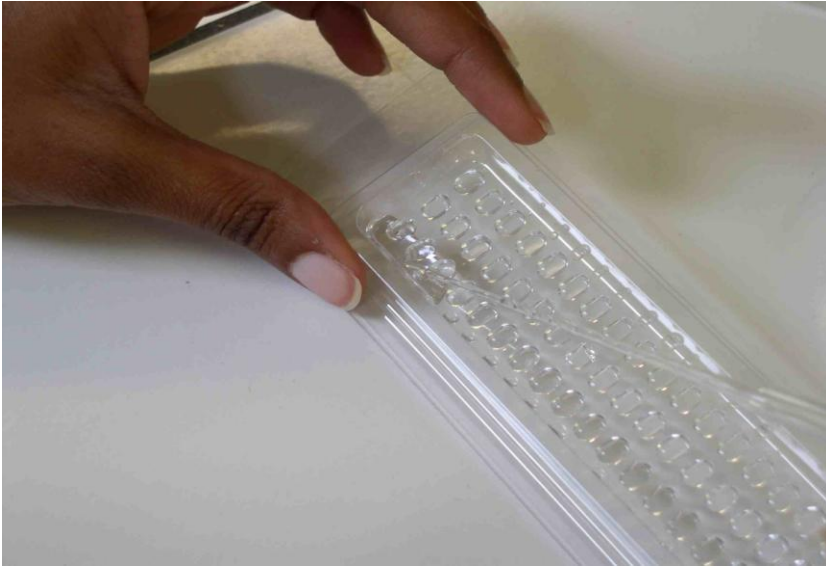


Milieu SS
Souche lactose -

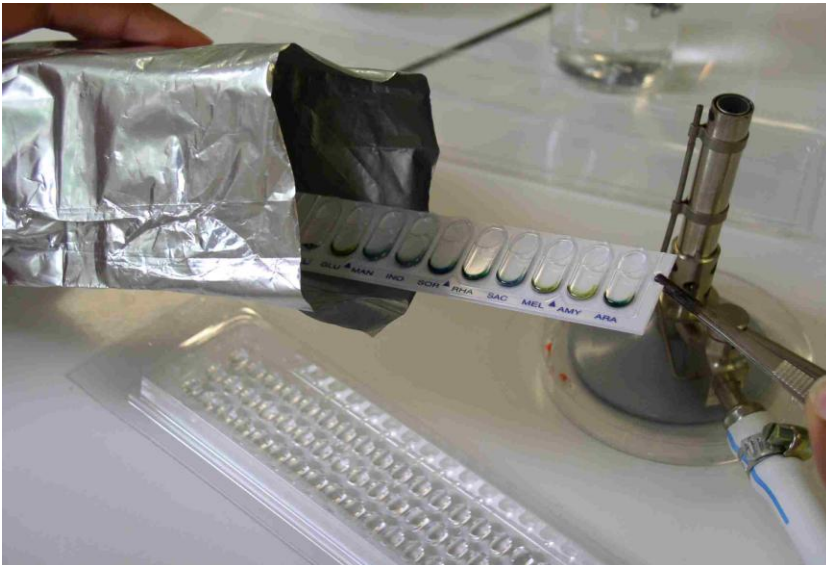


Milieu SS
Souche H₂S -

Galerie API 20 E (1/4)



1. Répartir environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles d'une boîte d'incubation



2. Sortir dans la zone de stérilité une galerie du sachet stérile

Galerie API 20 E (2/4)



3. Placer la galerie dans le fond de la boîte d'incubation



4. Remplir chaque tube de la dilution bactérienne en inclinant la galerie à 45 ° pour éviter la formation de bulles

Galerie API 20 E (3/4)



5. Compléter les cupules des tests encadrés par de la suspension bactérienne et celles des tests soulignés par de l'huile stérile.



6. Fermer la galerie et mettre à incuber 24 heures à 37 °C.

Tableau de lecture de la galerie API 20E

Tests	Substrats	Réaction / Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phényl-galactoside	β -galactosidase	Incolore	Jaune (1)
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge / Orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge / Orangé (2)
CIT	Citrate de sodium (3)	Utilisation du citrate	Vert pâle / Jaune	Bleu vert / Vert (4)
H₂S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore / Gris	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge / Orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Perchlorure de fer / Immédiat	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	Kovacs / 2 minutes	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 minutes	
			Incolore	Rosé / Rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non-diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation / Oxydation (5)	Bleu / Bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre	Cytochrome oxydase	Incolore	Violet
NO₃ - NO₂	Tube GLU	Production NO ₂	NIT 1 + NIT 2 / 2-3 minutes	
			Jaune	Rouge
		Production NO ₃	Zn	
			Rouge	Gris / Jaune
MOB	Etat Frais	Mobilité	Immobile	Mobile
MAC	Mac Conkey	Culture	Absence	Présence
OF	Hugh et Leifson	Fermentation sous huile	Vert	Jaune
		Oxydation à l'air	Vert	Jaune

Lecture de la galerie API 20E

api 20E

Test	Result	Test	Result
ONPG	+	IGEL	-
ADH	-	GLU	+
LDC	+	MAN	+
ODC	-	INO	+
CIT	+	SOR	+
H ₂ S	-	RHA	+
URE	+	SAC	+
TDA	-	MEL	+
IND	-	AMY	+
VP	+	ARA	+

api® 20E

Test	Result	Test	Result
ONPG	1	LVP	1
ADH	2	IGEL	2
LDC	4	GLU	4
ODC	1	MAN	1
CIT	2	INO	2
H ₂ S	4	SOR	4
URE	1	RHA	1
TDA	2	SAC	2
IND	4	MEL	4
VP	1	AMY	1
IGEL	2	ARA	2
GLU	4	OX	-
MAN	1	NO ₂	+
INO	2	N ₂	+
SOR	4	MOB	+
RHA	1	McC	+
SAC	2	OF-O	+
MEL	4	OF-F	+
AMY	1		
ARA	2		

Code n°: 5 215 773 (55)

Ident.

Se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code

Classification de Kauffman et White

	Ag O	Ag H (phase 1)	Ag H (phase 2)
Groupe O : 1, 2 (A) (0,23 %)			
Paratyphi A (37)	1, 2, 12	a	-
Groupe O : 4 (B) (51,8 %)			
Typhimurium (1)	1, 4, [5], 12	i	1, 2
Saintpaul (6)	1, 4, 12, 27	e,h	1, 2
Heidelberg (14)	1, 4, [5], 12	r	1, 2
Brandenburg	1, 4, 12	l, v	e, n, z15
Bredeney (12)	1, 4, 12, 27	l,v	1, 7
Agona (10)	1, 4, 12	f, g, s	-
Derby (13)	1, 4, [5], 12	f, g	-
Paratyphi B (17)	1, 4, [5], 12	b	1, 2
Schwartzengrund (25)	1, 4, 12, 27	d	1, 7
Wien (31)	1, 4, 12, 27	b	l, w
Coeln (27)	4, [5], 12	y	1, 2
Duisburg (49)	1, 4, 12, 27	d	e, n, z15
Abortusovis (40)	4, 12	c	1, 6
Stanley (42)	1, 4, [5], 12, 27	d	1, 2
Reading	1, 4, [5], 12	e,h	1, 5
San Diego	4, [5], 12	e,h	e, n, z15
Groupe O : 6, 7 - 6, 8 - 8 (C1 - C2 - C3) (20,3 %)			
Infantis (7)	6, 7	r	1, 5
Bovismobificans (4)	6, 8	r	1, 5
Hadar (23)	6, 8	z, 10	e, n, x
Newport (16)	6, 8	e, h	1, 2
Virchow (3)	6, 7	r	1, 2
Thompson (29)	6, 7	k	1, 5
Montévidéo (19)	6, 7	g, m, s	-
Manhattan (27)	6, 8	d	1, 5
Goldcoast (11)	6, 8	r	l, w
Braenderup (20)	6, 7	e, h	e, n, z15
Livingstone (22)	6, 7, 14	d	l, w
Mbandaka (28)	6, 7	z, 10	e, n, z15
Kottbus (35)	6, 8	e, h	1, 5
Ohio (32)	6, 7, 14	b	l, w
Muenchen (34)	6, 8	d	1, 2
Biockey (26)	6, 8	k	1, 5
Tennessee	6, 7, 14	z29	-
Isangi	6, 7	d	1, 5
Litchfield (44)	6, 8	l, v	1, 2
Rissen (51)	6, 7, 14	f, g	-
Kentucky	8, 20	i	z6
Emek	8, 20	g, m, s	-
Orianenburg	6, 7	m, t	-

	Ag O	Ag H (phase 1)	Ag H (phase 2)
Groupe O : 9 (D) (19 %)			
Panama (8)	1, 9, 12	l, v	1, 5
Dublin (5)	1, 9, 12, [Vi]	g, p	-
Entéritidis (2)	1, 9, 12	g, m	-
Typhi (9)	9, 12, [Vi]	d	-
Gallunarium (38)	1, 9, 12	-	-
Groupe O : 3, 10 - 1, 3, 15 - 3, 19 (E1 - E2 - E3) (6,2 %)			
Senftenberg (15)	1, 3, 19	g, s, t	-
London (21)	3, 10	l, v	1, 6
Anatum (18)	3, 10	e, h	1, 6
Give (33)	3, 10	l, v	1, 7
Muester (46)	3, 10	e, h	1, 5
Melagris (45)	3, 10	e, h	l, w
Uganda	3, 10	l, z13	1, 5
Lexington	3, 10	z10	1, 5
Orion (43)	3, 10	y	1, 5
Groupe O : 13, 22 - 13, 23 (G1 - G2) (1,2 %)			
Kedougou (30)	1, 13, 23	i	l, w
Worthington	1, 13, 23	z	l, w
Ibadan (39)	13, 22	b	1, 5
Havana (41)	1, 13, 23	f, g, s	-

Sérotypage des *Salmonella*

Identification biochimique du genre *Salmonella*

