

Galerie API20E

La galerie API20E est la première galerie miniaturisée d'identification biochimique de bactéries. Elle est apparue dans les années 1970 avec la guerre du Vietnam car les soldats blessés étaient souvent atteints par des Entérobactéries habituellement non pathogènes et qu'il fallait donc identifier.

Elle remplace les galeries traditionnelles en tubes, apportant un nombre plus important de caractères et donc une meilleure identification, une standardisation, une approche différente de la méthode d'identification avec une approche probabiliste.

1. Composition de la galerie

Les tubes

Ils sont conçus de façon à permettre deux zones, une zone aérobie (cupule) et une zone anaérobie (tube proprement dit), la zone aérobie permettant le remplissage.

Le milieu de culture est contenu dans le microtube sous forme déshydratée. Sa réhydratation est assurée par l'inoculum.

Deux types de remplissage sont possibles :

- Ne remplir que le tube proprement dit (le fond). On peut alors « fermer » le tube par addition de vaseline stérile dans la cupule ou non.
- Remplir tube et cupule

Le schéma suivant montre ces possibilités.



Composition de la galerie

La composition exacte de la galerie est du domaine du secret industriel. La composition donnée est donc approximative ! Les tubes ADH, LDC et ODC contiennent peut-être du glucose. Ils sont à pH acide au départ ce qui peut laisser penser que le glucose est inutile.

Nom du Micro-tube	caractère recherché	substrat(s) présent(s) dans le microtube	révélateurs présents	réactif(s) à rajouter éventuellement	aspect caractère +	aspect caractère -
ONPG	β -galactosidase	ONPG, β -thiogalactosidase			Jaune	inclore
ADH LDC ODC	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Peptone de levure Pyridoxal phosphate Acide aminé correspondant Glucose ??? Rouge de phénol pH initial acide	Rouge de phénol	-	rouge (orange pour LDC en 24 h)	jaune à orangé (sauf LDC 24 h)
CIT	Utilisation du citrate comme seule source de carbone	Citrate de sodium Bleu de Bromothymol (BBT)	Bleu de Bromothymol (BBT)	-	bleu en surface	vert-jaune
H ₂ S	Production d'H ₂ S à partir de thiosulfate	peptone thiosulfate de sodium fer III	fer III	-	précipité noir	pas de précipité noir

URÉ	Uréase	Urée Rouge de phénol	Rouge de phénol	-	rouge	jaune
TDA	Tryptophane désaminase	Tryptophane		chlorure de fer III	marron	jaune
IND	Production d'indole	Tryptophane		James ou Kovacs	rouge	jaune
VP	Production de butan-dione, 3-hydroxybutanone ou 2,3-dihydroxybutane	peptone pyruvate	napht-1-ol KOH	napht-1-ol KOH	rose	incoloré
GÉL	Gélatinase	gélatine agglomérée avec du carbone	carbone		noir	pas de diffusion du carbone noir
GLU MAN INO SOR RHA SAC MÉL AMY ARA	Utilisation des glucides ou dérivés correspondants (glucose, mannitol, inositol, sorbitol, rhamnose, saccharose, mélibiose, amygdaline, arabinose)	peptone glucide correspondant Bleu de Bromothymol (BBT) Dans le tube Glucose sont ajoutés des nitrates)	Bleu de Bromothymol (BBT)	-	jaune	bleu
NO ₂	Réduction des nitrates en nitrites dans la cupule GLU	utilisation du tube Glu	-	1-naphtylamine et acide sulfanilique	rouge	jaune
N ₂	Réduction des nitrates en diazote dans la cupule GLU	utilisation du tube Glu après lecture NO ₂		Si NO ₂ – alors poudre de zinc	jaune	rouge

Des tests complémentaires peuvent être réalisés. (voir tableau ci-après)

Ils sont utilisés pour l'identification mais réalisés par d'autres techniques (disque oxydase, état frais...

Les tests « OF.O et OF.F » ne nécessitent pas de milieu : il suffit de bien observer un tube positif.

De même, le type respiratoire (gélose VF) n'est pas nécessaire car une bactérie fermentative cultivant en aérobiose est aéro-aérobie.

Le Gram peut être utile pour vérifier que l'on a un bacille Gram négatif...

tests complémentaires

OX test oxydase

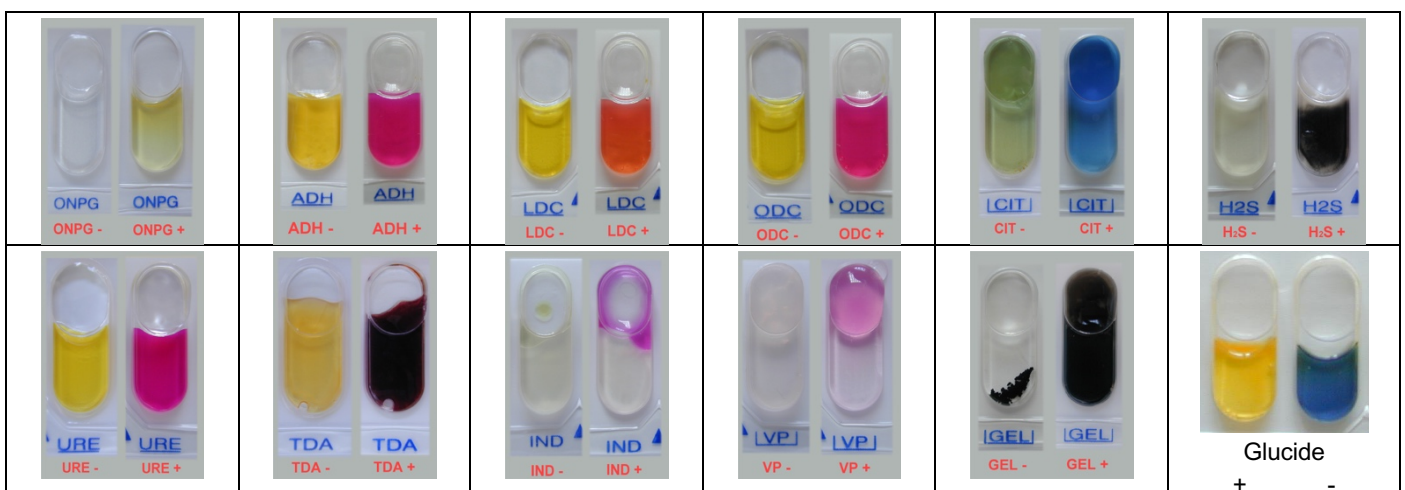
Mob mobilité

McC culture sur Mac Conkey

OF.O oxydation aérobie du glucose

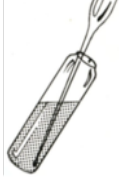
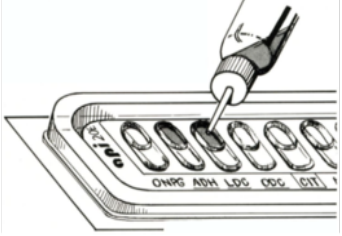
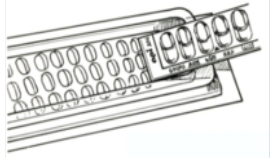

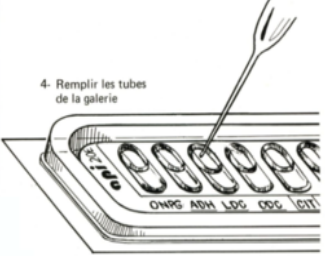
OF.F fermentation anaérobie du glucose

Pascal FRAPERIE a réalisé la photographie des résultats présentée ci-dessous :



2. Utilisation de la galerie

Ensemencement de la galerie

1. Préparer la boîte d'incubation en plaçant de l'eau au fond.	4. Placer la colonie dans 5 mL d'eau physiologique ou dans le milieu API.	6. Remplir les cupules de vaseline pour les caractères soulignés.
2. Sortir la galerie et la mettre dans la boîte		
	5. Remplir les tubes de la galerie (le tube seul sauf pour les caractères encadrés : tube et cupule)	7. Incuber la galerie à la température préconisée (36 ± 1 °C en général)
3. Prélever une colonie sur boîte. 	4. Remplir les tubes de la galerie 	


Galerie API20E mode d'ensemencement

L'aspect de la galerie après ensemencement est le suivant :


Photo de la galerie API20E juste après l'ensemencement

Remarquer les couleurs liées aux indicateurs de pH.

Lecture après incubation

1. Lire les réactions spontanées.	3. Noter l'ensemble des résultats. En déduire le profil numérique
2. Ajouter les réactifs nécessaires (attendre 10 min pour lire VP)	4. Utiliser le catalogue API, le logiciel fourni par bioMérieux ou le logiciel en ligne : https://lab.upbm.org/identifieur/
	


Galerie API20E lecture

3. Problèmes et explications de lecture


Attention :

- Bien que conçue pour les Entérobactéries, la galerie API20E peut être utilisée pour des bacilles Gram – oxydase + comme les *Pseudomonas*, *Aeromonas* ou *Vibrio*... Il ne faut donc pas interpréter sans oublier que ces bactéries ont pu être utilisées. Une galerie API20NE serait évidemment préférable pour leur identification.
- Une galerie aux caractères spontanés tous négatifs est louche : elle peut être stérile (mal ensemencée ou sans culture de façon mystérieuse...). En absence d'au moins un caractère positif, la lecture est déconseillée. Vérifier la culture sur la gélose de réisolement.


Décarboxylases et dihydrolase

<p>La photographie montre clairement que si le tube est entièrement rempli il est rouge (alcalin). Il en est de même en absence de vaseline.</p> <p>En effet, l'acidité initiale (contrairement au milieu classique) disparaît par le départ du dioxyde de carbone volatil et qui n'est donc plus confiné dans le tube par la vaseline.</p>	
---	--

Uréase délicate

<p>Le tube Uréase ci-contre, ensemencé avec une <i>Klebsiella oxytoca</i>, montre un liseré rouge dans la zone aérobie, car la vaseline n'a pas été placée correctement : là encore, l'acide volatil laisse une alcalinisation...</p> <p>Le résultat est donc négatif pour l'uréase. Ce n'est pas le résultat attendu pour ce taxon.</p>	
--	---

Gaz et glucides ou dérivés

<p>Les tubes de glucides ou dérivés peuvent présenter des bulles de gaz. Il faut veiller à ce qu'elles ne soient pas présentes avant l'ensemencement.</p> <p>Ces gaz ne sont pas présents si le glucide ou dérivé n'est pas fermenté.</p> <p>Ils ne sont pas présents dans le tube GLU car les nitrates inhibent l'hydrogène lyase, enzyme qui produit dihydrogène et dioxyde de carbone.</p>	
---	---

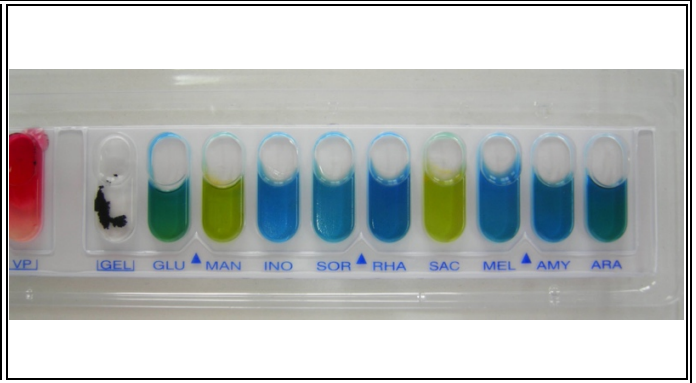
Changement des caractères après addition de réactifs

<p>Après addition des réactifs dans le tube GLU, et en particulier si le couvercle est remis sur la galerie, les tubes MAN, INO... deviennent jaunes en surface.</p> <p>C'est évidemment lié aux réactifs ! Un gaz acide diffuse par l'atmosphère. La diffusion progressive se voit nettement avec le gradient de couleur jaune.</p>	
--	--

Couleur vert pâle pour les glucides

Quand une galerie présente des tubes positifs de glucides vert pâle, il faut se douter du problème : durée insuffisante de culture, mais aussi risque d'avoir une bactérie Gram + dans la galerie au lieu d'un Gram -. C'est le cas ci-contre avec une galerie ensemencée avec un *Staphylococcus aureus*.

Le cas le plus intéressant rencontré a été un mélange de deux bactéries. À partir d'un prélèvement urinaire, une galerie ensemencée avec une colonie a donné comme résultat *Proteus mirabilis* mais avec des glucides positifs de couleur verdâtre. L'examen de la boîte de réisolement montre clairement la contamination par des *Enterococcus*... Comme *Proteus mirabilis* n'attaque aucun des glucides, *Enterococcus* a pu se développer facilement. Pas de photo malheureusement.



Aspect particulier d'un tube de glucose

Un tube de glucose peut parfois montrer un aspect surprenant.

Il est manifestement clair que la bactérie (*E. coli*) utilise le mélibiose, mais, en surface, on constate une très légère alcalinisation. Hypothèses possibles : le mélibiose n'est pas oxydé par la bactérie mais seulement fermenté, le mélibiose est très rapidement épuisé et, en aérobiose la bactérie alcalinise par respiration des peptones.



Citrate

Le tube Citrate contient du "[Citrate de Simmons](#)", le citrate étant la seule source de carbone, sous forme liquide.

L'utilisation du citrate en aérobiose provoque une alcalinisation qui ne peut être visible en anaérobiose (dans le tube) car le dioxyde de carbone produit est piégé et l'indicateur de pH ne vire pas. Il faut donc conclure positivement si la cupule est bleue, même si le tube est vert.



Articles connexes (wikipedia)

- [galerie API](#)
- [Decarboxylases](#)

Voir aussi

Liens externes

- Site de la société Biomérieux [archive]
- Identification d'entérobactéries avec une galerie API [archive] lien mort
- Histoire d'API, article de l'Opéron 82 [archive]
- Pour identifier un taxon utiliser l'outil UPBM [archive]
- ¹ Dictionnaire de biologie technique

Auteur

Jean-Noël JOFFIN avec des photographies de Pascal FRAPERIE
Tous droits réservés