

TP2 : Les bactéries en forme de cocci a Gram positif : Coloration de Gram, Test physiologiques différentiels entre Streptocoques et Staphylocoques, Test présumptifs et confirmatifs de pathogénicité, Test de la staphylocoagulase.

1. La coloration de Gram

La **coloration de Gram** (mise au point par Christian Gram) est une **coloration de base** en bactériologie. C'est une "coloration double", qui permet de différencier les bactéries:

- D'après leur forme

D'après leur affinité pour les colorants

2. Test catalase

La catalase: permet de différencier les staphylocoques (catalase +) des streptocoques (catalase-).

3. Test de la staphylocoagulase

✓ **Préparation du plasma de lapin**

Réhydrater le plasma de lapin à l'aide du volume correspondant de solvant (10 ml) Ce volume doit être mesuré très exactement, car il assure, outre la réhydratation, la dilution optimale du plasma. NB : La remise en suspension du lyophilisat peut être facilitée par une légère agitation, en évitant toutefois la formation de mousse.

✓ **Protocole**

Ensemencer à partir d'une culture pure de la souche à étudier le bouillon spécial pour épreuve de la coagulase. Incuber la culture à 37°C pendant 18 h. Mélanger dans un tube à hémolyse stérile 0,5 ml de plasma réhydraté et 0,5 ml de la culture en bouillon de la souche à étudier. Porter le mélange à l'étuve à 37°C et incuber pendant 24 heures.

✓ **Lecture et interprétation**

Les souches de *S. aureus* provoquent la coagulation du plasma le plus souvent au cours des 3 premières heures ($> 1/2$ h et < 24 h). La prise en masse du plasma est généralement totale à tel point qu'il est possible de retourner le tube.

Dans certains cas, la coagulation est plus légère et plus tardive, mais la réaction doit être considérée comme positive si le phénomène intervient avant la 24ème heure.



Figure : test de staphylocoagulase