

GW07: Biochemical Identification of Microorganisms (API System)

Before Starting Always determine:

- Cell shape: cocci or bacilli
- Gram stain: Gram (+) or Gram (-)

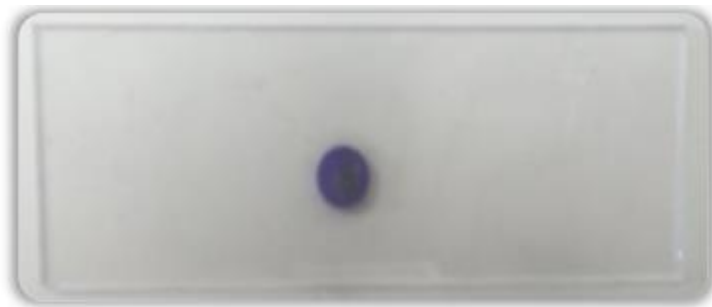
Then:

- Gram (-) bacilli → **oxidase test**
- Gram (+) cocci → **catalase test**

Oxidase and Catalase Tests (Simple Explanation)

The **oxidase test** shows if bacteria use oxygen in respiration using a specific enzyme. You place the colony on a disk.

- Purple color → bacteria use this enzyme (**positive**)
- No color → (**negative**)
- * Enterobacteria = oxidase (-)



Oxydase +

The **catalase test** shows if bacteria can protect themselves from toxic oxygen products. You add hydrogen peroxide.

- Bubbles → oxygen is released → (**positive**)
- No bubbles → (**negative**)
- Staphylococcus (+) | Streptococcus (-)



Catalase +

API System (What students must understand)

API is a **set of small biochemical tests in one strip**. Each small tube tests a bacterial activity (enzyme, sugar use, etc.). During incubation: Bacteria grow, They change the color of the tests This gives a **biochemical profile**

A strip with **20 small tubes (tests)**. Each tube contains a **specific substrate**. Color changes = bacterial activity

Example of tests inside:

- Sugar fermentation (GLU, MAN...)
- Enzymes (URE, GEL...)
- Metabolism (CIT, H₂S...)



Galerie API20E

Procedure

1. Prepare the strip (humid box)
2. Prepare bacterial suspension (0.5 McFarland)
3. Fill all tubes with bacteria

Some tubes need **no oxygen** → we add oil. This allows bacteria that grow without oxygen to react

4. Incubate:
 - **37°C for 18–24 h**

□ Reading Results

After incubation: Two types of reactions:

1. Direct color change

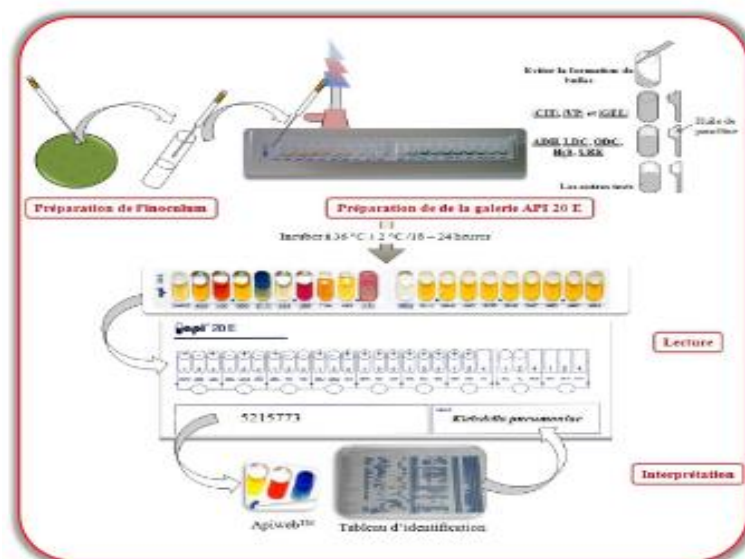
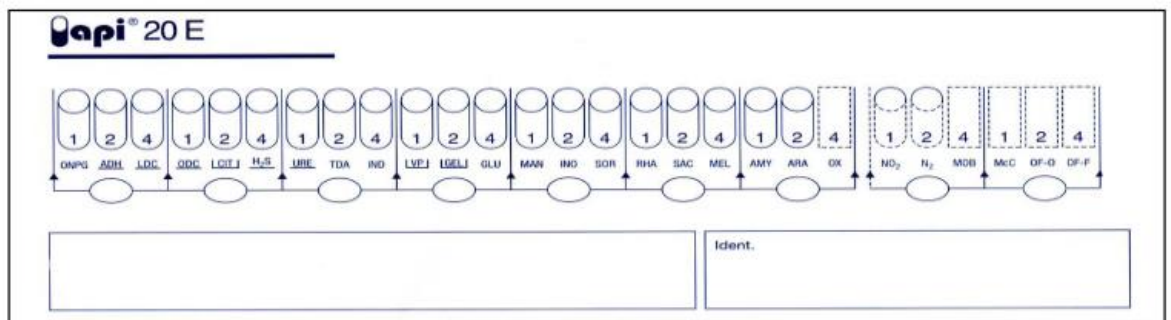
- Example: sugar fermentation → yellow color
- Means bacteria **use that sugar**

2. Hidden reaction (needs indicator)

- Some bacteria produce invisible products
- We add a chemical to **reveal the reaction**

Example:

- IND test → shows if bacteria break down tryptophan
- VP test → shows fermentation type





Profil Biochimique neutre (test à l'eau distillé stérile)



Profil biochimique de la souche *Escherichia coli*.



Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeruginosa*.



Profil biochimique de la souche *Aeromonas hydrophila gr. 1*



Profil biochimique de la souche *Shigella spp.*



Profil biochimique de la souche *Salmonella spp.*

Tests	Composants	QTE (mg/cup.)	Réactifs / Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- βDgalactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl- βDGalactopyranosidase)	incolore	jaune
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	jaune	rouge / orangé
LDC	L-lysine	1,9	Lysine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
ODC	L-ornithine	1,9	Ornithine DéCarboxylase	jaune	rouge / orangé
CIT	trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	vert pâle / jaune	bleu-vert / bleu
H ₂ S	sodium thiosulfate	0,075	production d'H ₂ S	incolore / grisâtre	dépôt noir / fin lacré
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge / orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DéAminase	TDA / immédiat	
				jaune	maroon- rougeâtre
IND	L-tryptophane	0,19	production d'INDole	JAMES / immédiat	
				incolore vert pâle / jaune	rose
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétone (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min	
				incolore / rose pâle	rose / rouge
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	non diffusion	diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation oxydation (GLUCose)	bleu / bleu-vert	jaune / jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation / oxydation (MANnitol)	bleu / bleu-vert	jaune
INO	inositol	1,9	fermentation / oxydation (INOsitol)	bleu / bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation / oxydation (SORbitol)	bleu / bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation / oxydation (RHAmmose)	bleu / bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation / oxydation (SACcharose)	bleu / bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation / oxydation (MELibiose)	bleu / bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation / oxydation (AMYgdaline)	bleu / bleu-vert	jaune
ARA	L-arabineose	1,9	fermentation / oxydation (ARAbineose)	bleu / bleu-vert	jaune