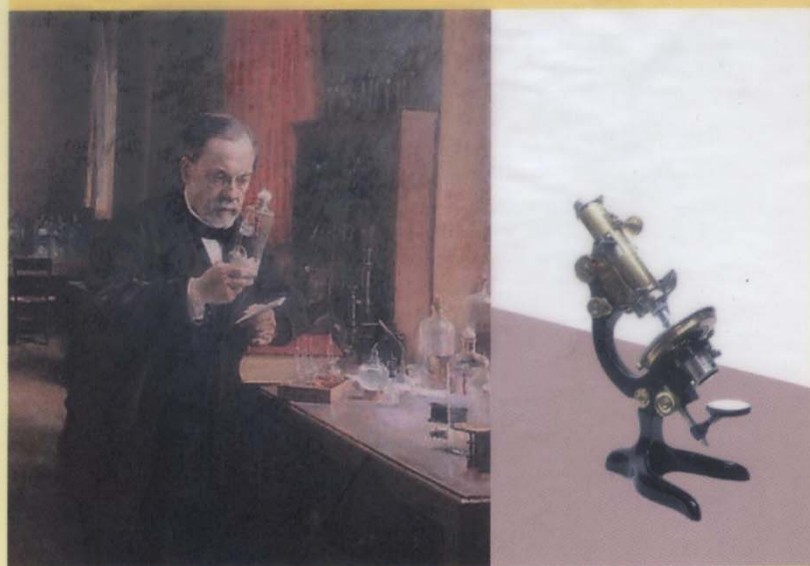


N.GUEZLANE-TEBIBEL B.KAHLOUCHE S.ATHMANI-GUEMOURI

MICROBIOLOGIE

TRAVAUX PRATIQUE



2^{ème} année TCB et LMD



OFFICE DES PUBLICATIONS UNIVERSITAIRES

TABLE DES MATIERES

TP 1 INTRODUCTION A LA MICROBIOLOGIE Méthodes d'études des micro-organismes

| | |
|---|----|
| I- Définition | 9 |
| II- Buts | 9 |
| III- Notion de culture pure | 10 |
| IV- Matériel utilisé en microbiologie | 11 |
| IV-1 Le bec Bünsen | 11 |
| IV-2 Les boîtes de Petri | 12 |
| IV-3 Les tubes à essai | 12 |
| IV-4 La pipette Pasteur | 12 |
| IV-5 L'anse à ensemercer | 13 |
| IV-6 La pince à coton | 13 |
| IV-7 La verrerie utilisée pour la préparation des milieux de culture | 14 |
| V- L'entretien du matériel | 14 |
| VI- Les techniques de stérilisation | 15 |
| VI-1 Les méthodes physiques | 16 |
| VI-1-1 La stérilisation par les radiations | 16 |
| VI-1-1-1 Les rayons solaires | 16 |
| VI-1-1-2 Les rayons ultraviolets | 16 |
| VI-1-1-3 Les rayons X et Gamma | 16 |
| VI-1-2 La stérilisation par la chaleur | 17 |
| VI-1-2-1 La chaleur non contrôlée | 17 |
| VI-1-2-2 La chaleur contrôlée | 17 |
| VI-1-3 La stérilisation à basse température ambiante | 21 |
| VI-1-3-1 La filtration | 21 |
| VI-2 Les méthodes chimiques | 23 |
| VI-2-1 La stérilisation par les agents chimiques | 23 |
| VII- Le matériel lourd | 26 |

TP 2 LE REGNE DES CHAMPIGNONS ou des EUMYCOTA
Identification du mycélium et des fructifications

| | |
|---|----|
| I- Les caractères généraux des champignons | 29 |
| II- La nutrition | 30 |
| III- L'appareil végétatif ou thalle | 30 |
| III- 1 Le thalle unicellulaire | 30 |
| III- 2 Le thalle pluricellulaire | 32 |
| IV- Les organes de reproduction : les spores | 34 |
| IV- 1 La reproduction asexuée | 34 |
| IV- 2 La reproduction sexuée | 36 |
| V- La paroi des mycètes | 39 |
| V-1- Structure et biosynthèse de la paroi cellulaire d' <i>A. fumigatus</i> | 39 |
| VI- Classification actuelle | 40 |
| VII – L'identification | 42 |
| VII- 1 Les levures | 42 |
| VII- 1-1 Examen macroscopique | 42 |
| VII- 1-2 Examen microscopique | 42 |
| VII- 2 Les champignons filamenteux | 43 |
| VII- 2-1 Examen macroscopique | 43 |
| VII- 2-2 Examen microscopique | 43 |

TP 3 LES MILIEUX DE CULTURE

| | |
|---|----|
| I- Définition | 51 |
| II- Les qualités exigibles d'un milieu de culture | 52 |
| II-1 La composition | 52 |
| II-2 Le pH | 54 |
| II-3 L'isotonie | 54 |
| II-4 Le rH ou potentiel d'oxydo-réduction | 55 |
| II-5 Le taux d'humidité | 56 |
| III- La classification des milieux de culture | 57 |
| III-1- Leur consistance | 57 |
| III-2- Leur composition | 58 |
| III-2-1- Les milieux complexes | 58 |

| | |
|--|----|
| III-2-2- Les milieux synthétiques ou définis | 59 |
| III-3- Leur utilisation | 59 |
| III-3-1- Des milieux usuels ou milieux de base | 59 |
| III-3-2- Des milieux d'isolement | 60 |
| III-3-2-1- Des milieux d'enrichissement | 60 |
| III-3-2-2- Des milieux sélectifs | 60 |
| III-3-2-3- Des milieux différentiels | 61 |
| III-3-2-4- Des milieux électifs | 61 |
| III-3-3- Des milieux d'identification | 61 |
| III-3-4- Des milieux de conservation | 61 |
| IV- Composition de certains milieux de culture | 61 |
| IV-1- Le bouillon nutritif | 61 |
| IV-2- La gélose nutritive | 62 |
| IV-3- La gélose MacConkey | 62 |
| IV-4- La gélose de Chapman | 62 |
| IV-5- La gélose VF | 62 |
| IV-6- Milieu synthétique liquide pour l'isolement d'Escherichia coli | 63 |
| IV-7- Milieu Sabouraud | 63 |
| V- Préparation d'un milieu de culture | 64 |

TP 4 LES TECHNIQUES D'ENSEMENCEMENT

| | |
|--|----|
| I- Introduction | 67 |
| II- Le coulage des milieux gélosés en boîtes de Petri | 68 |
| III- Les règles générales sur l'ensemencement | 68 |
| IV- Les techniques d'ensemencement | 69 |
| IV-1 Ensemencement par stries ou par épuisement sur gélose | 69 |
| IV-1-1 Sur milieu solidifié incliné en tubes à essai | 69 |
| IV-1-2 Sur milieu solidifié en boîtes de Petri | 70 |
| IV-1-2-1 Isolement par épuisement sur trois secteurs ou cadrans | 70 |
| IV-1-2-2 Isolement par épuisement sur quatre secteurs ou quadrants | 71 |
| IV-2 Ensemencement en nappe ou par étalement | 74 |
| IV-2-1 En tubes à essai | 74 |

| | |
|---|----|
| IV-2-2 En boîtes de Petri | 74 |
| IV-3 Ensemencement dans la masse | 74 |
| IV-4 Ensemencement en touches ou en spots | 74 |
| IV-5 Ensemencement par piqûre centrale profonde | 75 |
| IV-6 Ensemencement dans un milieu liquide | 75 |
| V- Les précautions d'asepsie | 75 |

TP 5 ETUDE MORPHOLOGIQUE DES COLONIES BACTERIENNES

| | |
|--|----|
| I – Introduction | 77 |
| II- Définition d'une colonie | 77 |
| II-1 Observation macroscopique des colonies bactériennes | 78 |
| II-2 Conditions d'examen | 78 |
| III- La croissance des colonies | 78 |
| IV- Description morphologique | 79 |
| V- Aspects morphocultureux | 81 |

TP 6 & 7 EXAMEN MICROSCOPIQUE DES BACTERIES APRES COLORATION SIMPLE ET COLORATION DOUBLE

| | |
|---|----|
| LA COLORATION SIMPLE | 86 |
| I- La coloration des bactéries vivantes : coloration vitale ou à l'état frais | 86 |
| I -1 - La préparation de l'étalement | 86 |
| I -2 - La coloration | 87 |
| II- La coloration des bactéries tuées | 88 |
| II- 1 - La préparation de l'étalement | 88 |
| II- 2 - La fixation | 89 |
| II- 3 - La coloration | 89 |
| LA COLORATION DOUBLE OU LA COLORATION DE GRAM | 90 |
| I- Les caractéristiques des bactéries | 90 |
| I- 1 - Les Gram-positives | 90 |
| I- 2 - Les Gram-négatives | 91 |
| II- Principe de la coloration de Gram | 93 |
| III- Mécanisme de la coloration de Gram | 93 |

| | |
|---|-----------|
| IV- Méthode de la coloration de Gram | 94 |
| IV-1- Les réactifs utilisés | 94 |
| IV-2- Technique | 94 |

TP 8 LA CROISSANCE BACTERIENNE

| | |
|---|------------|
| I- Définition | 99 |
| II - Coordonnées de la croissance | 99 |
| III - Les phases de la croissance | 100 |
| III-1 - La phase de latence | 100 |
| III-2 - La phase exponentielle | 100 |
| III-3 - La phase maximale stationnaire | 101 |
| III-4 - La phase de déclin | 102 |
| IV -Mesure de la croissance | 103 |
| IV- 1 - Mesure du nombre | 103 |
| IV- 1- 1 - Lecture au microscope | 103 |
| IV- 1- 2 - Dénombrement après culture : la méthode de dilution | 105 |
| IV- 1- 3 - Dénombrement après filtration | 105 |
| IV-2 - Mesure de la masse | 107 |
| IV-2- 1 - Détermination du poids sec | 107 |
| IV-2- 2 - Mesure du trouble | 107 |
| IV-3 - Mesure de l'activité | 109 |
| IV-3- 1- Mesure de la consommation de substrat | 109 |
| IV-3- 2- Mesure des variations physico-chimiques du milieu | 109 |
| IV-3- 3- Mesure des constituants cellulaires | 109 |
| V - Exercices d'application | 113 |

TP 9 LES ANTIBIOTIQUES : ETUDE IN VITRO, L'ANTIBIOGRAMME

| | |
|--|------------|
| I - Introduction | 115 |
| II - Définition des antibiotiques | 115 |
| III - Définition de l'antibiogramme | 116 |
| IV - Détermination de la CMI par la méthode des dilutions | 116 |
| IV - 1 En milieu liquide | 117 |

| | |
|--|------------|
| IV - 2 En milieu solide | 119 |
| V - La méthode de diffusion ou des disques en milieu solide | 120 |
| VI - Méthode du E-test | 127 |
| Annexe | 133 |