

CORRIGE

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DES SCIENCES et TECHNIQUES
Année Universitaire 2007 - 2008 – 1^o session (Mai 2008)
LICENCE Sciences du Vivant 3^o année (L3 SV)
EXAMEN de TP de MICROBIOLOGIE (UE 6-2e et 6-3e) sur 20 points
Durée = 30 minutes - sans document –

1) Détermination de CMI et CMB vis à vis de la kanamycine(c=8mg/L et C= 16mg/L)

1-1) Préparation de la gamme et résultats pour une souche bactérienne.

tube	1	2	3 CMB	4 CMI	5	témoin
kanamycine 100 mg/L	400µL	300µL	200µL	100µL	50µL	0 ml
Mueller Hinton	600µL	700µL	800µL	900µL	950µL	1ml
Suspension bactérienne	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml
Aspect après 24 heures	limpide	limpide	limpide	limpide	trouble	trouble
UFC dans 25µL après 24H de culture sur TS	1	2	6	30		

Calculer la CMI de cette souche et l'exprimer en mg/L. (3 points)

CMI : tube 4 = 5 mg/L de kanamycine
(VF = 2 ml)

1-2) Comment peut-on qualifier cette souche bactérienne?
(1 point)

sensible

1-3) Préparation du dénombrement du Tube témoin : (1 points)

900 µl d'eau stérile sont distribués dans 6 tubes.

Combien de ml de tube témoin pur faut-il rajouter pour réaliser le tube 10⁻¹?

100 µL

1-4) Dénombrement du témoin. (3 points)

25 µL des dilutions 10⁻¹ à 10⁻⁶ sont ensemencés sur gélose TS.

Combien y aura-t-il de colonies pour 25 µL de chaque dilution après culture sachant que le tube témoin contient 3.10⁶ bactéries/ml ? Exprimer les 6 résultats en UFC dans un tableau.

Dilution du témoin	-1	-2	-3	-4	-5	-6	
UFC dans 25µL (nb de colonies)	7500	750	75	7,5	0	0	

1-5) Calculer la CMB de la souche en vous aidant du tableau du 1-1)
(3 points)

CMB : tube 3 = 10 mg/L de kanamycine (0,01 % de survivants correspond à dilution 10^{-4})

1-6) Comment peut-on qualifier l'action de cet antibiotique ?

(1 point)

CMB/CMI = 2 donc ATB bactéricide

2) Le milieu de Kligler-Hajna :

(4 points)

Expliquez, en vous basant sur le contenu détaillé de ce milieu, comment une bactérie glucose+ lactose-, H_2S^+ s'y développera et fera évoluer son contenu chimique et son aspect en 24 heures de culture.

Glucose 1g/L

Lactose 10g/L

peptone

Thiosulfate

Citrate de fer

Rouge de phénol

L'utilisation du glucose provoque une acidification dans l'ensemble du tube qui devient jaune.

Puis (Glucose 1g/L), le glucose étant rapidement consommé, la bactérie lactose – devra utiliser les peptones ce qui provoquera une alcalinisation commençant par la pente.

Si la bactérie produit H_2S , il se formera un précipité noir de sulfure de fer après réaction avec le citrate de fer.

3) Identification de bactéries :

(4 points)

Vers quelle orientation d'identification vous dirigez-vous pour :

- un coque Gram + catalase- ? Un test ?

Streptocoque, sérotypage, test de Lancefield

- un bacille Gram- oxydase+ ? Un test ?

Vibrio ou Pseudomonas, état frais et Gram

- un bacille Gram- immobile ? Un test ?

Entérobactérie ? Faire une culture sur TS, oxydase, autre.....

.

- un coque Gram+ mannitol + ? Un test ?

Streptocoque ou Staphylocoque ? Catalase

Citer la famille ou le genre et indiquer pour chaque souche un seul test complémentaire permettant de valider votre orientation. Choisir le test le mieux adapté pour chaque cas.