

**MASTER 1 ICMV année 2010-2011**  
**TRAVAUX PRATIQUES UE2-3 Pathologies Infectieuses**

3 séances de 4 heures de Bactériologie

➤ **J1**

**1) Infections digestives** (coproculture)

1 bouillon par binôme : D1 à D10

- Gram, état frais, isolement sur gélose Drigalski, gélose Hektoen et gélose TS

**2) Infections respiratoires**

Analyse d'un prélèvement de **gorge** en bouillon : G1 à G10

1 bouillon par binôme

- Gram, état frais, isolement sur gélose chocolat, gélose au sang et gélose TS  
dès le début de séance, culture sous CO<sub>2</sub>

**3) Recherche de Mycobactéries**

Recherche de mycobactéries dans **deux prélèvements** pathologiques d'**expectoration** (E1 à E10) et de **gorge** (G1 à G10).

- Colorations de Kinyoun et de Gram  
- Dessin et compte-rendu.

➤ **J2**

**1) Infections digestives**

Lecture des milieux Hektoen et Drigalski et identification de 2 souches :

- Choisir 1 colonie lactose- H<sub>2</sub>S<sup>+</sup> et l'ensemencer sur :

2 milieux Kligler-Hajna, 1 urée-indole, 1 mannitol-mobilité

- Ensemencer 1 autre type de colonie (lac<sup>+</sup> ou -) sur :

1 Kligler-Hajna, 1 urée-indole, 1 mannitol-mobilité

**2) Infections respiratoires**

Identification des bactéries du mélange :

Lecture des isollements sur gélose au sang et gélose chocolat.

Gram, oxydase, catalase, type d'hémolyse.

Dessin et compte-rendu.

**3) Quizz** : 10 questions portant sur les bactéries digestives et respiratoires (connaître les cours correspondants) et les techniques de base en travaux pratiques

➤ **J3**

**1) Infections digestives**

**Lecture des milieux**

Kligler-Hajna, urée-indole, mannitol-mobilité : identification de l'espèce.

**Sérotypage des Salmonelles :**

**Tableau de Kauffmann-White** : apporter le tableau donné en cours

a) Détermination de l'Ag O : rechercher une agglutination granulaire.

- émulsionner une colonie provenant du Kligler sur une lame avec 1 goutte de sérum polyvalent OMA ; idem avec OMB.

OMA : groupes ABDEL

OMB : groupes CFGH

- **en fonction des résultats obtenus avec les sérums polyvalents**, émulsionner avec 1 goutte des sérums monovalents O4,5, O9, O3,10,15 et/ou O6,7,8.

b) Détermination des antigènes H  
Tester les sérums Hi, Hg, m, Hb, Hc et/ou Hd en fonction des résultats de l'Ag O :  
Prélever les bactéries dans l'eau de condensation du tube Kligler. On recherche une agglutination floconneuse et rapide.

b) Recherche de l'antigène Vi si nécessaire : en fonction des résultats de l'AgO et de l'Ag H.

## 2) Examen pratique individuel

A partir d'une souche sur boîte.

Seront notés : Gram, EF, orientation, c.à.d. la demande justifiée de tests complémentaires nécessitant 24 H pour leur lecture.

Les résultats de ces tests seront donnés.

## 3) compte-rendu

### 3-1) principes de rédaction

a) Pas de je ni nous : présence de...., la souche est .....

b) Soigner la présentation : dégager l'essentiel, organiser les résultats souche par souche et non pas jour par jour, respecter majuscules, minuscules, orthographe.

c) Dessiner les résultats des colorations.

### 3-2) coproculture

a) Résultats de l'état frais et du Gram

b) Principe de lecture des milieux sélectifs :

Composition gélose Hektoen :

Peptone, levure, NaCl, thiosulfate de sodium, sels biliaires, citrate de fer ammoniacal, salicine, lactose, saccharose, fuschine acide, bleu de bromothymol, agar.

NB : Le test oxydase n'est pas valable sur le milieu Hektoen.

Composition gélose Drigalski :

Peptone, extrait de viande, extrait de levure, désoxycholate de sodium, lactose, cristal violet, bleu de bromothymol, agar.

Les vibriens halophiles poussent sur Hektoen mais pas sur Drigalski. Les vibriens halotolérants (*V. cholerae* et *V. mimicus*) poussent sur tous les milieux.

c) Aspect des différentes colonies isolées, résultat des tests biochimiques et du sérotypage, résultats des identifications.

### 3-3) prélèvement de gorge

Donner tous les résultats macro et microscopiques

NB : la gélose chocolat est plus riche en facteur V (NAD) que la gélose au sang.

### 3-4) recherche de mycobactéries

Détails et conclusions pour les 2 prélèvements.

### 3-5) examen : détails et conclusion.

## 4) Note finale de TP/TD

Elle tient compte des notes de compte-rendu, de la note de Quizz, de la note de l'examen pratique, de la note d'exposé et de la note de l'examen théorique de TP qui aura lieu en même temps que l'examen final.

# FICHES TECHNIQUES

## 1) Coloration de Kinyoun

- **principe**

La fuschine colore toutes les bactéries.

L'acide sulfurique agit comme décolorant : les mycobactéries ont la propriété de ne pas se décolorer.

Le bleu de méthylène est un colorant de contraste.

Kinyoun : fuschine + phénol + alcool

Gabett : bleu de méthylène + acide sulfurique + alcool

- **Mode opératoire :**

-réaliser un étalement en couche mince (2 gouttes de bouillon)

-laisser sécher

-fixer à l'éthanol : recouvrir la lame d'alcool et attendre 10 à 15 minutes jusqu'à évaporation complète.

-recouvrir l'étalement avec la solution de Kinyoun, laisser en contact 5 minutes

-rincer doucement à l'eau pendant 30 secondes.

-recouvrir avec la solution de Gabett

-laisser en contact 6 mn. Rincer doucement à l'eau

-sécher

## 2) Les coques Gram+

### 2-1) famille des MICROCOCCACEAE

Espèces	catalase	oxydase	Type respiratoire	Coagulase libre	mannitol	DNase
<i>Micrococcus spp</i>	+	+(ou -)	AS	-	-	+ ou -
<i>S. aureus</i>	+	-	AAF	+	+	+
<i>S. saprophyticus</i>	+	-	AAF	-	+	-
<i>S. epidermidis</i>	+	-	AAF	-	-	- ou(+)

### 2-2) famille des STREPTOCOCCACEAE

**Genres :** *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus*,...

Type respiratoire : AAF, anaérobie préférentiel, croissance favorisée par CO<sub>2</sub>

espèces	Catalase	Capsule	Oxydase	Hémolyse	Groupe de Lancefield	Aspect macroscopique
<i>S. pyogenes</i>	-	-	-	β	A	Petites colonies S Translucides
<i>S. agalactiae</i>	-	-	-	β	B	
<i>S. equi</i>	-	-	-	β, γ	C	
<i>E. faecalis</i>	-	-	-	γ	D	
<i>S. sanguis</i>	-	-	-	α, γ	non groupable/H	
<i>L. lactis</i>	-	-	-	γ	N	
<i>S. salivarius</i>	-	-	-	α, γ	non groupable/K	
<i>S. pneumoniae</i>	-	+	-	α	non groupable/C	Idem + ombiliquée après 48 H

### 3) les bacilles Gram-

Pour les caractères biochimiques des bacilles Gram -, consulter et apporter les poly de L3 et de TP d'UE2 (interactions hôte/micro organismes) du M1, savoir le TD métabolisme de L3.

	Oxydase	Catalase	Type Respiratoire	Ciliature	Culture Sur TS	Aspect au Gram
<b>Famille des Entérobactéries</b>	-	+ (ou -)	AAF	Péritriche ou immobile	+	Polymorphe Coloration Bipolaire
<i>Pseudomonas</i>	+ (-)	+	AS	Pôlaire	+	
<i>Vibrio</i>	+	+	AAF	Pôlaire	+	Incurvé
<i>Aeromonas</i>	+	+	AAF	Péritriche	+	
<i>Acinetobacter</i>	-	+	AS	Immobile	+	Coccobacille par 2
<i>Campylobacter</i>	+	+ ou -	MA	Pôlaire	-	Spiralé
<i>Alcaligenes</i>	+	+	AS	Péritriche	+	
<i>Flavobacterium</i>	+	+	AS	Immobile	+	
<i>Brucella</i>	+	+	AS	Immobile	-	coccobacille
<i>Bordetella</i>	+ (ou -)	+	AS	Immobile	-	Petit bacille
<i>Francisella</i>	+	+ faible	AS	Immobile	-	Petit bacille
<i>Pasteurella</i>	+ ou -	+ (ou -)	AAF	Immobile	+	Petit bacille
<i>Haemophilus</i>	+ faible et lente	+ ou (-)	AAF	Immobile	-	Petit bacille fin polymorphe

#### Caractères des vibrions

	ONPG	Mannitol	Saccharose	Croissance sur TS
<i>V. cholerae</i>	+	+	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	+	-	-
<i>V. mimicus</i>	+	+	-	+

espèce	mobilité	Exigence en Facteur X (hémine)	Exigence en facteur V (NAD)	Hémolyse sur sang frais et/ou chocolat
<i>H. influenzae</i>	-	+	+	-
<i>H. aphrophilus</i>	-	+	-	-
<i>H. haemolyticus</i>	-	+	+	+
<i>H. parainfluenzae</i>	-	-	+	-
<i>Pasteurella multocida</i>	-	-	-	-

### 4) Les coques Gram – aérobies stricts

Espèces	catalase	oxydase	Culture sur Milieu ordinaire	Hémolyse	Capsule	Glucose
<i>Neisseria meningitidis</i>	+	+	-	-	+	+
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	+	+	-	-	+	+
<i>Branhamella catarrhalis</i> Gram variable !	+	+	+	-	-	-