

PROGRAMME des TP de MICROBIOLOGIE de L2 SV2

CHAQUE ETUDIANT DOIT SE MUNIR D'UNE **BLOUSE EN COTON** ET D'UN **MARQUEUR A ENCRE INDELEBILE**.

Ces 2 séances de TP ont pour but de vous familiariser avec les premières étapes de l'identification de micro-organismes par leur culture, leur étude macroscopique et leur étude microscopique.

SEANCE 1

1) Transvasement stérile (travail individuel)

- **Matériel :**
 - 1 tube à essai avec 10 mL de bouillon Trypticase Soja (TS) stérile.
 - 2 tubes à hémolyse vides et stériles.
- **Manipulation**
 - transvaser Avec une pipette Pasteur, 1 à 2 mL de bouillon TS dans chaque tube à hémolyse.
 - Incuber 24 H à 37°C le tube à essai et 1 des 2 tubes à hémolyse.
 - L'autre tube à hémolyse servira au 2)

2) Souche à identifier (travail individuel)

- **Matériel :**
 - 1 isolement bactérien sur gélose TS en boîte de Petri. Noter son n°.
 - 1 gélose TS et 1 bouillon TS en tube à hémolyse préparé en 1)
- **Manipulation :**
 - Ensemencer le bouillon TS avec 1 colonie prélevée à l'anse de platine. Bien dissocier la colonie.
 - Faire 1 ré-isolement en quadrant sur la gélose TS à partir du bouillon TS que vous venez d'ensemencer.
 - Incuber 24 H à 37°C le bouillon TS et la gélose TS.
 - La suite de l'étude de cette souche se fera en séance 2.

3) Souches connues distribuées en bouillon (travail par binôme)

- **Matériel :** 2 cultures bactériennes en bouillon TS en tubes à hémolyse :
 - 1 culture d'un coque Gram⁺ : *Staphylococcus aureus* ou *Streptococcus agalactiae*
 - 1 culture d'un bacille Gram⁻ : *Enterobacter cloacae* ou *Pseudomonas aeruginosa*
- **Manipulation :**
 - état frais (voir fiche technique) : observer la mobilité, le type de groupement (et la forme) des bactéries.
 - coloration de Gram (voir fiche technique) : observer la couleur, la forme et le type de groupement.

SEANCE 2

1) Transvasement stérile (lecture)

Observer les bouillons avant et après agitation. Ils doivent être limpides.

2) Souche à identifier (suite)

- Étude macroscopique des colonies obtenues sur votre ré-isolement (voir fiche technique) :
- Un isolement réussi comporte au moins 10 colonies isolées et aucun contaminant.
- prélever et dissocier une colonie dans une goutte d'eau en observant son aspect.

Pour vous aider, plusieurs isolements comportant des colonies typiques sont en démonstration.

- Aspect du bouillon après culture : observer avant et après agitation.
- Coloration de Gram à partir du bouillon et/ou à partir d'une colonie (voir fiche technique).

4) Lames colorées sous microscope (travail individuel)

Une dizaine de préparations microscopiques montrent différents types de bactéries (B. sporulées, B. capsulées, B. spirales, mélanges de coques, bacilles, Gram+ et Gram- etc...) et des colorations spéciales.

- Observez toutes les lames puis dessinez en 4 au choix avec soin. N'oubliez pas les légendes!

COMPTE-RENDU : Il est individuel et à rendre en fin de séance 2. Il se fait uniquement sur la feuille pré-remplie. N'oubliez pas les n° ou noms de vos tubes et boîtes et les légendes (échelle, grossissement, etc).