# Module B 245

## Microbiologie

## Travaux dirigés

## =

## Initiation aux séances

## De

## Travaux pratiques.

# T.D N°1 : Les milieux de culture.

un milieu de culture ⇒ croissance bactérienne

aliments nécessaires à la croissance bactérienne

conditions physico- chimiques favorables

la grande diversité des bactéries

la variabilité des techniques utilisées

numération, isolement, identification

⇒ une grande diversité des milieux de culture.

# I /Classification des milieux de culture :

## I.1) Classification en fonction de leur composition

### a) Milieux naturels :

préparés

**extraits de produits naturels** → viande, lait, légumes

**composition riche**

**complexe**

**mal définie**

**développement de presque toutes les bactéries.**

utilisés généralement pour **les espèces exigeantes**.

**Exp : Bouillon nutritif et gélose nutritive.**

## b) Milieux synthétiques :

préparés

**composés simples** → sucres, sels minéraux

**composition exactement définie**

**étudier les propriétés métaboliques des bactéries.**

Exp : milieux pour culture d'***E.coli*** ⇒ **La recherche**

## c) Milieux semi-synthétiques :

**milieux synthétiques additionnés d'un produit naturel.**

# I.2) Classification en fonction de leur utilisation :

## a) Milieux usuels :

= milieu de base

⇓

emploi général

⇓

**culture de nombreux germes.**

**Exp: Bouillon nutritif et gélose nutritive**.(TP1)

# b) Milieux spéciaux d'isolement bactérien.

## ➡ Milieux d'enrichissement :

dérivent

**milieux naturels** — **milieux synthétiques**

**+**

**produits biologiques sang, sérum, foie, lait,** etc

isoler les bactéries en quantité très faible dans le milieu à analyser

**organismes pathogènes dans le sang**

**septicémie**

isoler les germes exigeants

le pneumocoque

**Exp: gélose au sang**

# ➡ Milieux différentiels ou d'orientation :

constituants de ces milieux et aux indicateurs de PH

mise en évidence des caractères biochimiques des bactéries

**identification des différentes espèces ou les germes voisins.**

**EMB = milieu à l'éosine et au bleu de méthylène (TP2)**

**+ lactose ➡ dégradation du lactose ➡ PH ➡ bleu de méthylène vire au violet**

**colonies violettes**

**Isolement des différentes espèces appartenant à la même famille**

**F/*Enterobacteriaceae***

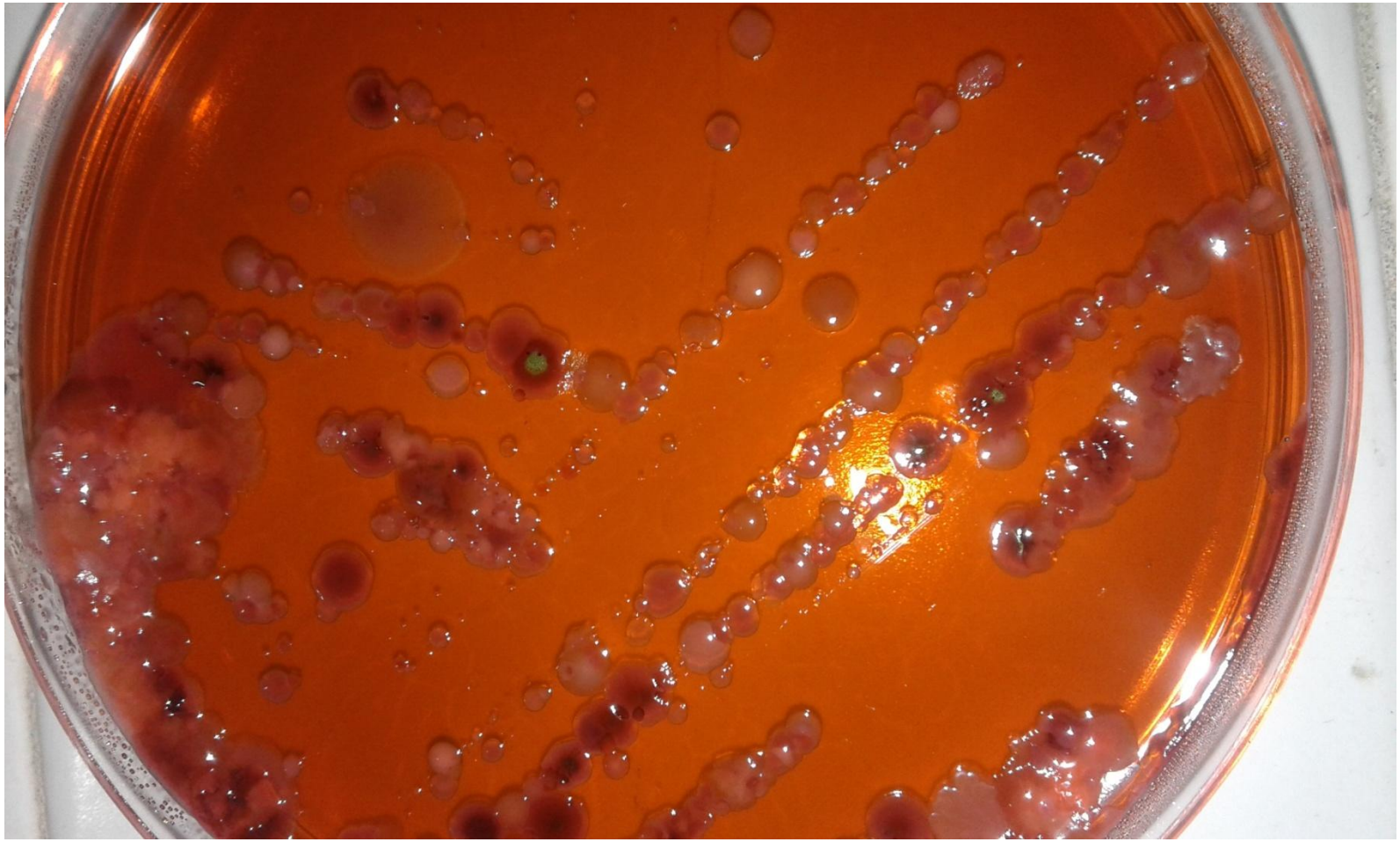
| **E.coli** | **Enterobacter aerogène** | **sp incorporent l'éosine** |
|---|---|---|
| **Violet +** | **violet +** | **rose ou rose violacée** |
| **reflet vert métallique** | **centre foncé** | **faiblement lactose+**? |
| Petites colonies plates | grandes ou moyennes | |
| | colonies muqueuses | |

# Milieu différentiel: EMB

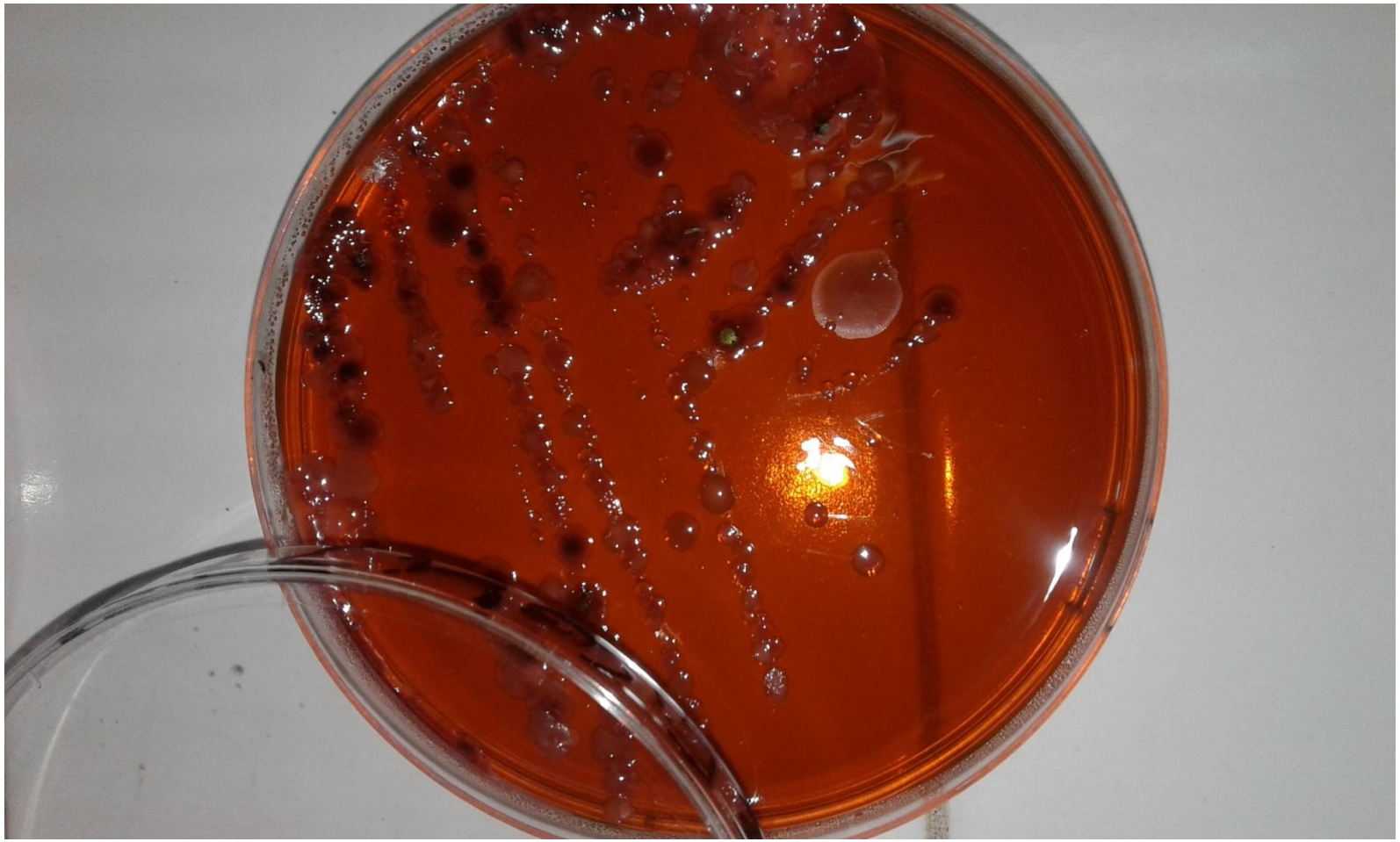
## (TP2,FST Errachidia)



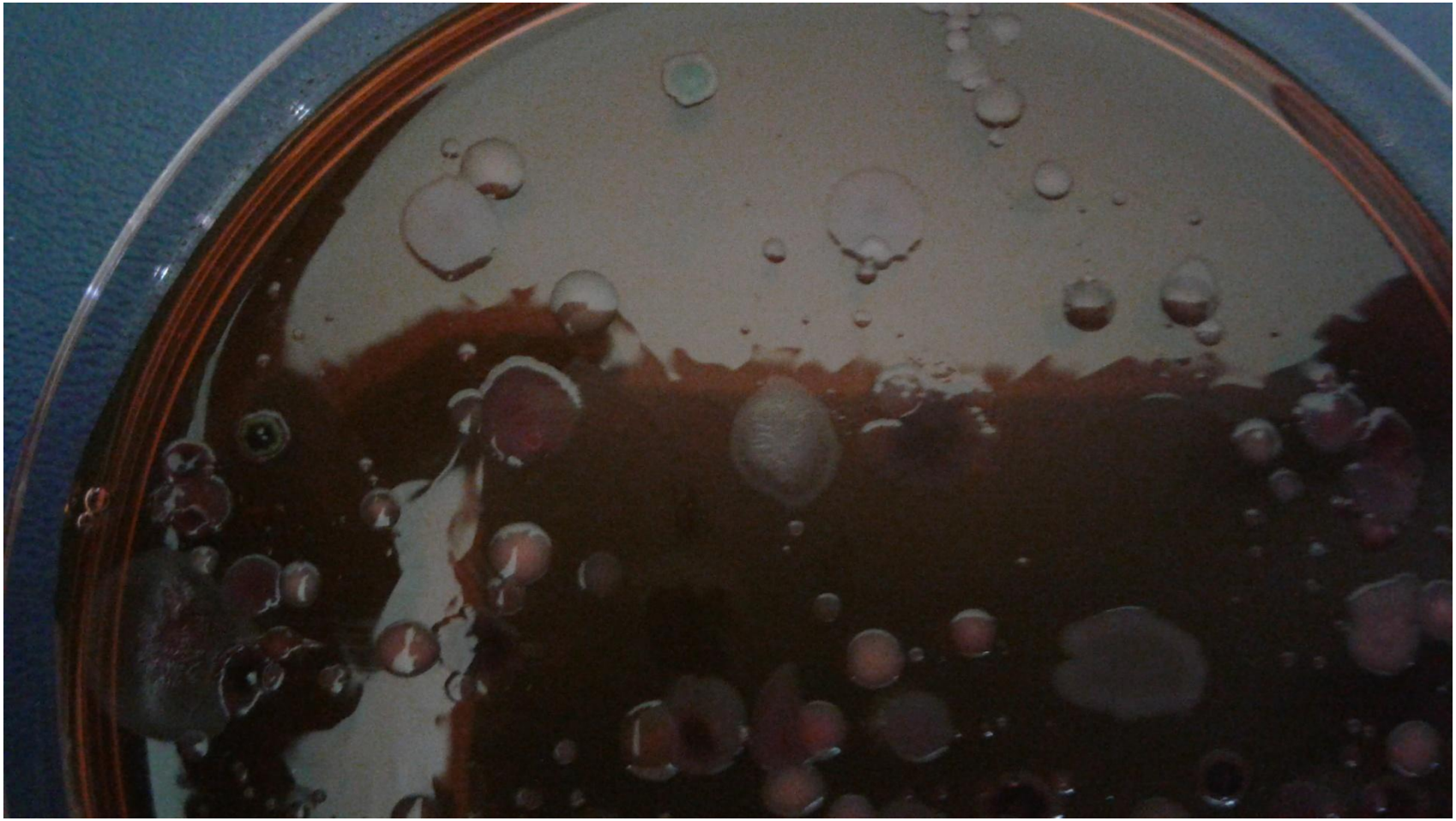
# Mili eu différentiel: EMB (TP2 ,FST Errachidia)

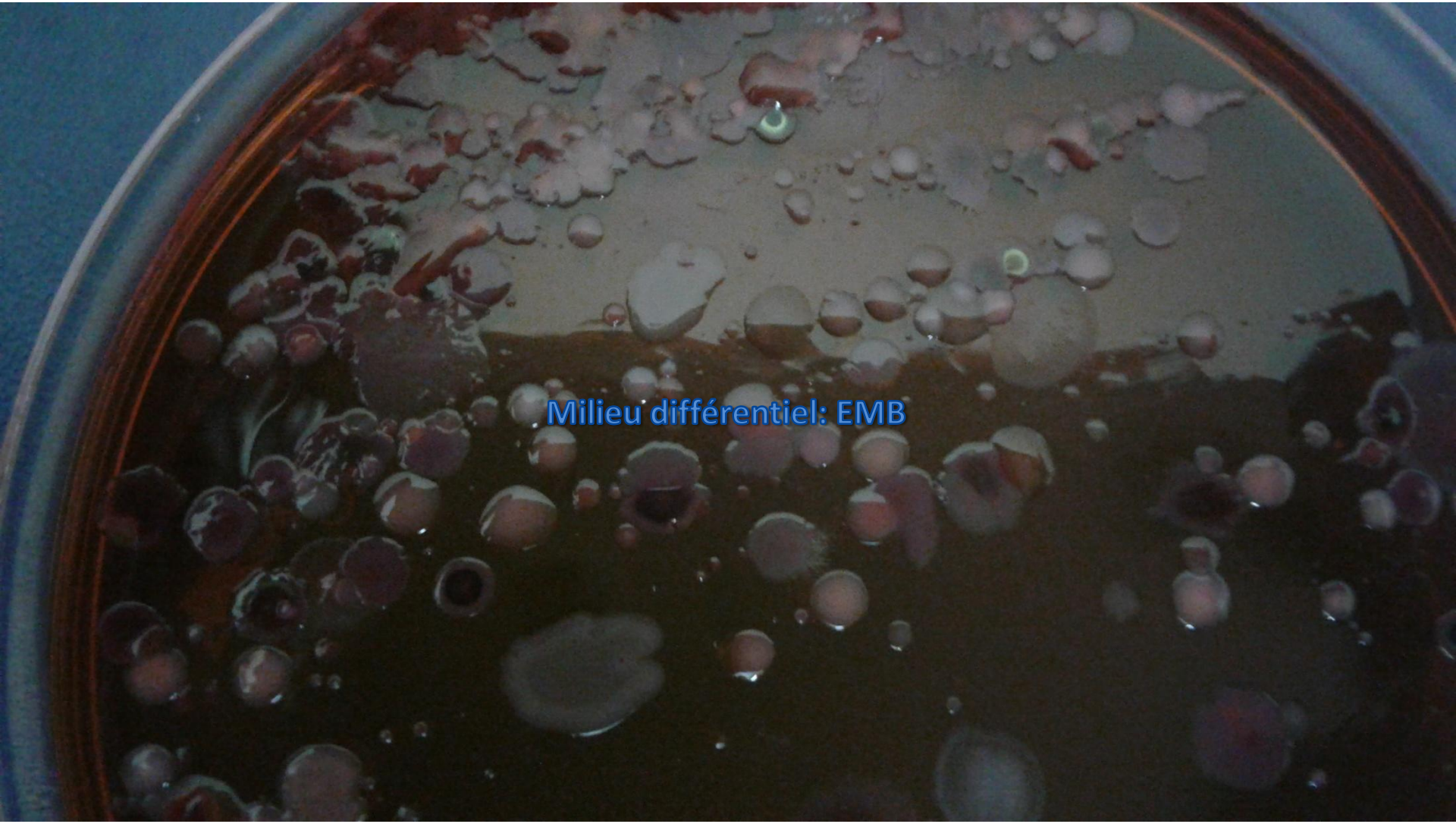


# Milieu différentiel: EMB (TP2)

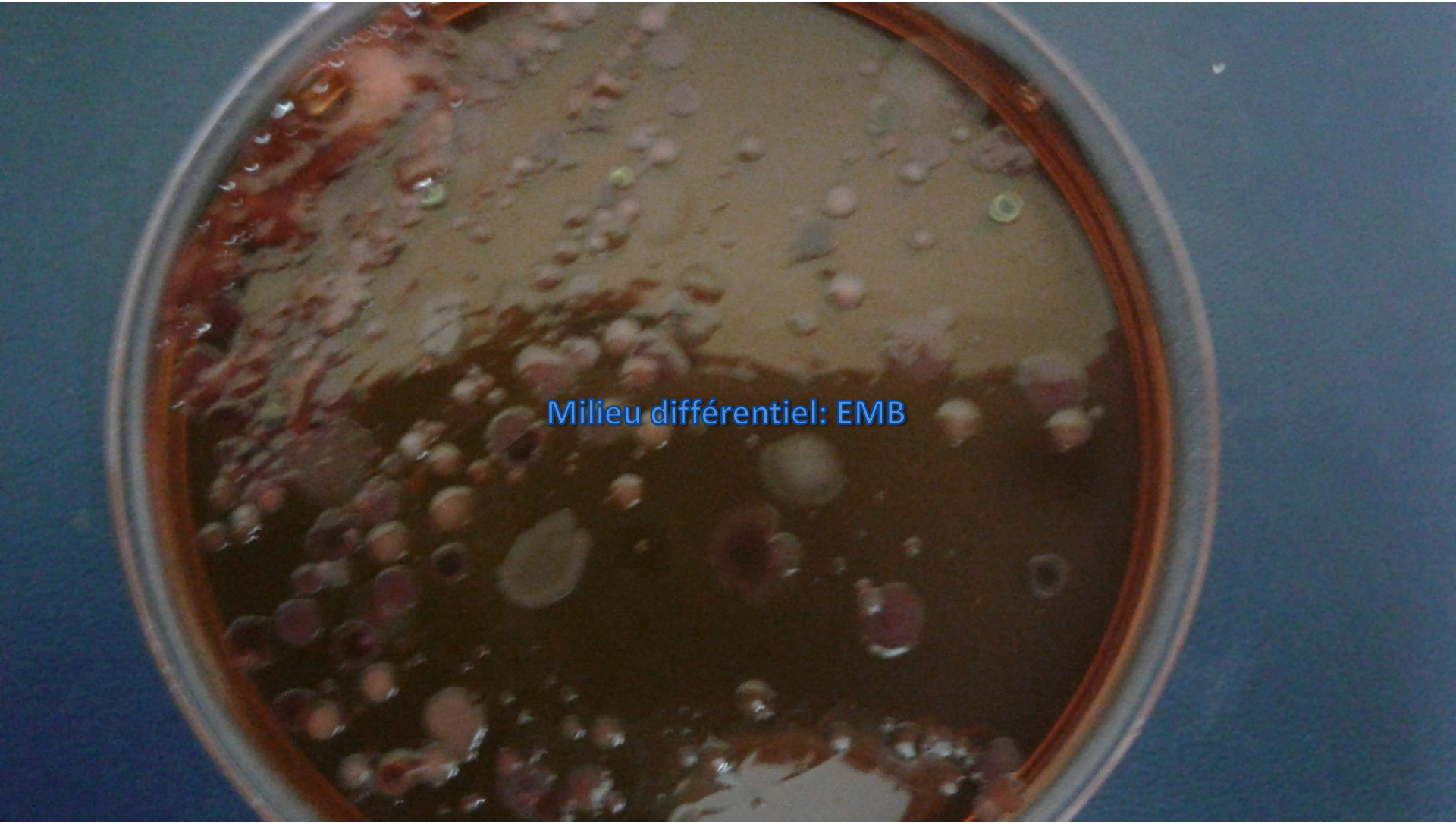


# Milieu différentiel: EMB (TP2)




Milieu différentiel: EMB


Milieu différentiel: EMB


Milieu différentiel: EMB

# → Milieux sélectifs :

↓

**les facteurs physicochimiques**

[sel ou autre substance], T°, pression osmotique, PH

↓

**croissance d'une espèce bactérienne ou d'un groupe d'espèces + inhibition des autres bactéries**

**milieu Chapman** ⟺ [ sel ] =75 g/l(TP2)

↓

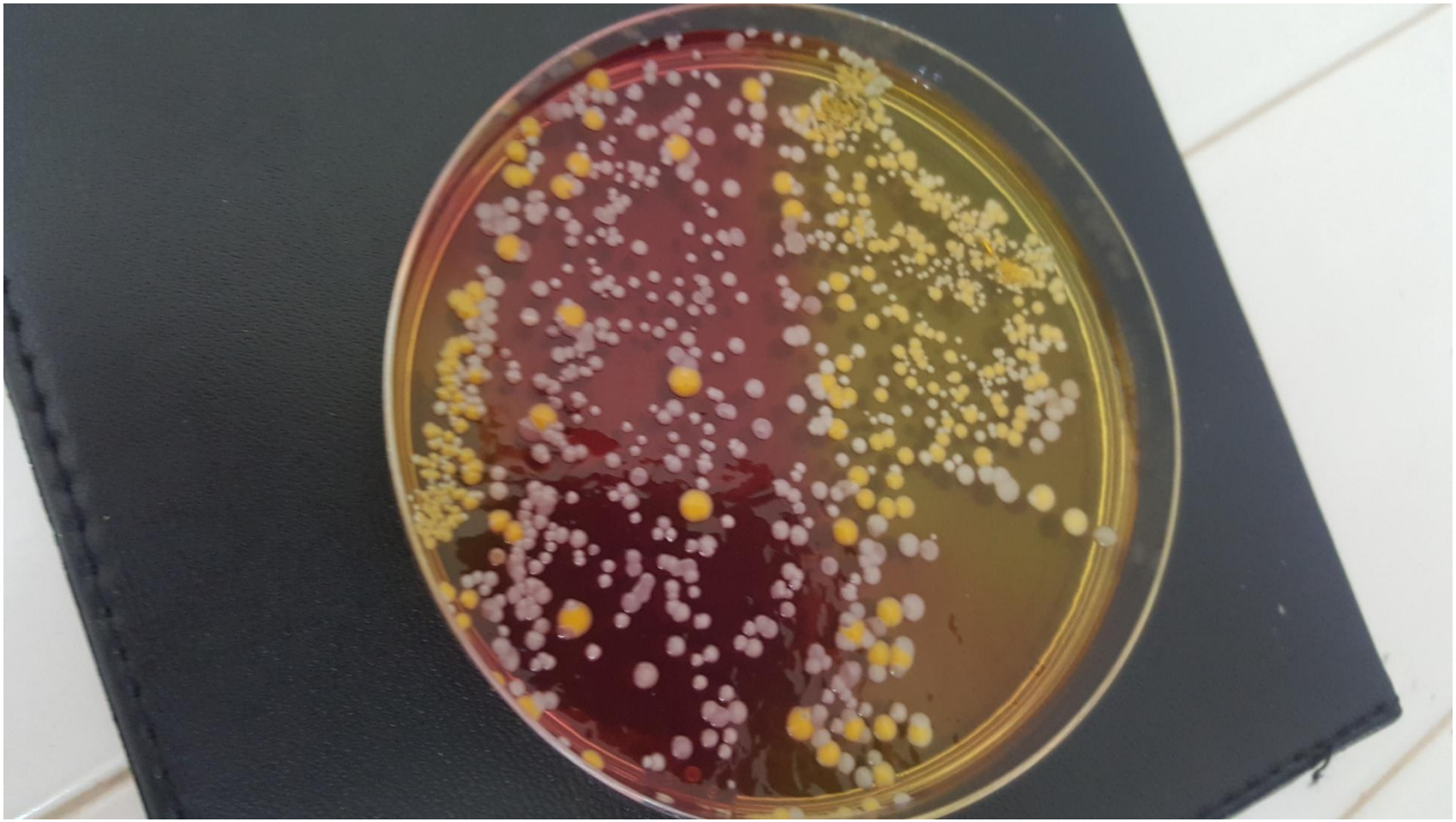
PO ↗ → seul ***Staphylococcus*** peut la tolérer

↓

**Isolement de *Staphylococcus* + inhibition des autres bactéries**

**Sélection de staphylococcus**

# Milieux sélectifs :Staphylocoques St.aureus , St.epidermis (TP2,FST,Errachidia)



# Staphylococcus epidermis (TP2)



# ➡ Milieux électifs :

**culture abondante et rapide de certaines bactéries**
**+ inhibition des autres bactéries ou culture lente**

**milieu à l'extrait de malt et au chloramphénicol. (TP2)**

croissance abondante des Levures ✚ inhibition des autres germes

**sélection des Levures avec abondance**

# Milieux électifs : Les Levures ,(TP 2 FST,Errachidia)



# Milieux mixtes (TP2)

## Sélectifs et différentiels ou « d'orientation »

**Chapman**

**[ sel ] = 75 g/l** → **sélection des Staphylocoques**

***St aureus*** → **+ Pigment jaune** → **colonies jaunes**

**mannitol** → **différenciation**

- ***St aureus*** → **dégradation du mannitol** → **auréole jaune**
- ***St epidermis*** → **pas de dégradation du mannitol** → **rose**

**milieu de culture jaune**

**Chapman oriente vers St aureus pathogène → milieu d'orientation**

**colonies jaunes ou blanches entourées d'une auréole jaune**

**ou milieu de culture complètement jaune**

# c) Milieux d'identification :

**Mise en évidence des caractères biochimiques par des réactions caractéristiques.**

⇓

**identification** des bactéries. ⇒ **classification**

→ **eau peptonée (milieu sans sucre)** ⇒ **étude de l'assimilation des sucres.**

⇓

+ un sucre donné
+ d'indicateur coloré → rouge de phénol

⇓

ensemencement

⇓

incubation pendant 24 h ⇒ utilisation du sucre par la bactérie

⇓

acidification.

⇓

virage au jaune de l'indicateur coloré

⇒ réaction Positive

# d/ Milieu de conservation:

**conserver les bactéries**

**Etat de vie ralentie**

**+ conserver les propriétés de la bactérie**

**milieu pauvre** **+** **conditions peu favorables**

milieu solide → température ambiante

milieu liquide → congélateur

obscurité

température basse +4°c

# d/ Milieu pour antibiogramme :

Le milieu doit avoir une composition rigoureusement définie

⇓

reproduction fidèle des résultats

ne pas inhiber l'activité antibiotique

⇓

➡ le cas des milieux contenant du sang ou du sérum

➡ le glucose ↘ celle de la streptomycine

ne pas augmenter A.ATB

⇓

le glucose ↗ celle de la pénicilline

⇓ PH très précis → neutre

Le milieu recommandé par l'OMS est le milieu **Mueller- Hinton**

# II) Préparation des milieux de culture:

## II.1) Préparation des milieux naturels :

**la macération de viandes** — **les peptones.**

### a/Macération de viande

**muscle paré** → débarrassé de tendons, vaisseaux, graisse

↓

finement haché + l'eau (500 g pour un litre)

↓

laisse séjourner quelques heures.

↓

ébullition en chauffant lentement et en agitant

↓

la viande blanchâtre.

↓

**filtration**

solution = **la macération**

- utiliser immédiatement
- conserver pendant quelques jours à l'état liquide
- plus longtemps sous forme d'extrait sec après évaporation.

Ces extraits = **macération** ⇨

- **des glucides**
- **des sels minéraux**
- **des vitamines.**

# b/ Les peptones

**des substrats protéiques**
viande, poisson, caséine, sang etc

**extraits protéolytiques**

**les peptones**
**=**
**polypeptides et acides aminés**

variation en fonction
- du substrat,
- de la nature et
- de l'intensité de l'hydrolyse par **les extraits protéolytiques**

**=**
- **La pepsine → peptone pepsique.**
- **La trypsine → peptone trypsique.**
- **Extrait de pancréas → peptone pancréatique.**

# Quelques milieux usuels

## Bouillon nutritif

→ **milieu liquide**

Extrait de viande : 5g
Peptone pancréatique : 15g
Na cl : 5g
Eau distillée Q.S.P : 1L

## La gélose nutritive

→ **Milieu solide**

**même composition que le bouillon nutritif + agar ( 1 à 4%).**

= **polysaccharide non dégradable** extrait de certaines algues

solide à une T°< 40 °c

**milieu de culture solide sans changer ses propriétés**

## L'eau peptonée

→ **bouillon nutritif sans extrait de viande**

Peptone :15g.
Na cl :5g
Eau distillée :1 L

**étude du métabolisme des sucres.** → **milieu d'identification**

# II.2) Préparation des milieux synthétiques :

**Milieu pour culture d'E.coli**

| | |
|---|---|
| Glucose | :20g |
| $SO_4 (NH_4)_2$ | :6g |
| Na cl | :5g |
| $PO_4 H_2k$ | :2g |
| $SO_4 Mg, 7H_2O$ | :0.20g |
| $Cl_2 Ca$ | :0.20g |
| $CO_3 Ca$ | : 10g |
| Eau distillée Q.S.P | :1 litre |

# T.D N°2 : Les agents antimicrobiens .

contrôle du développement des microorganismes

Lutte contre les effets nuisibles des micro-organismes

Homme | animaux | produits alimentaires

Les moyens de lutte dépendent

micro-organisme | environnement | intensité de l'action souhaitée.

## I / La stérilisation

= **La destruction de tous les micro-organismes contenus dans une préparation**.

la nature du milieu de culture | caractères physico – chimiques

**les agents utilisés pour assurer la stérilisation peuvent être physiques ou chimiques**.

# a) Les agents physiques :

## La température

**Autoclave** : chaleur humide

120 °C pd 20 mn

→ milieux de culture

**Poupinel ou four pasteur** : chaleur sèche

180 °C pd 30 mn

→ matériel en verre

**Incinérateur**

objets combustibles

à usage unique

**Tyndallisation**

chauffage modéré entre 60 et 70 °C pendant 30 mn

trois fois consécutifs avec des intervalles de 24 heures

**Pasteurisation**

chauffage à 56 °C trois fois consécutifs

alterné par des refroidissements brusques

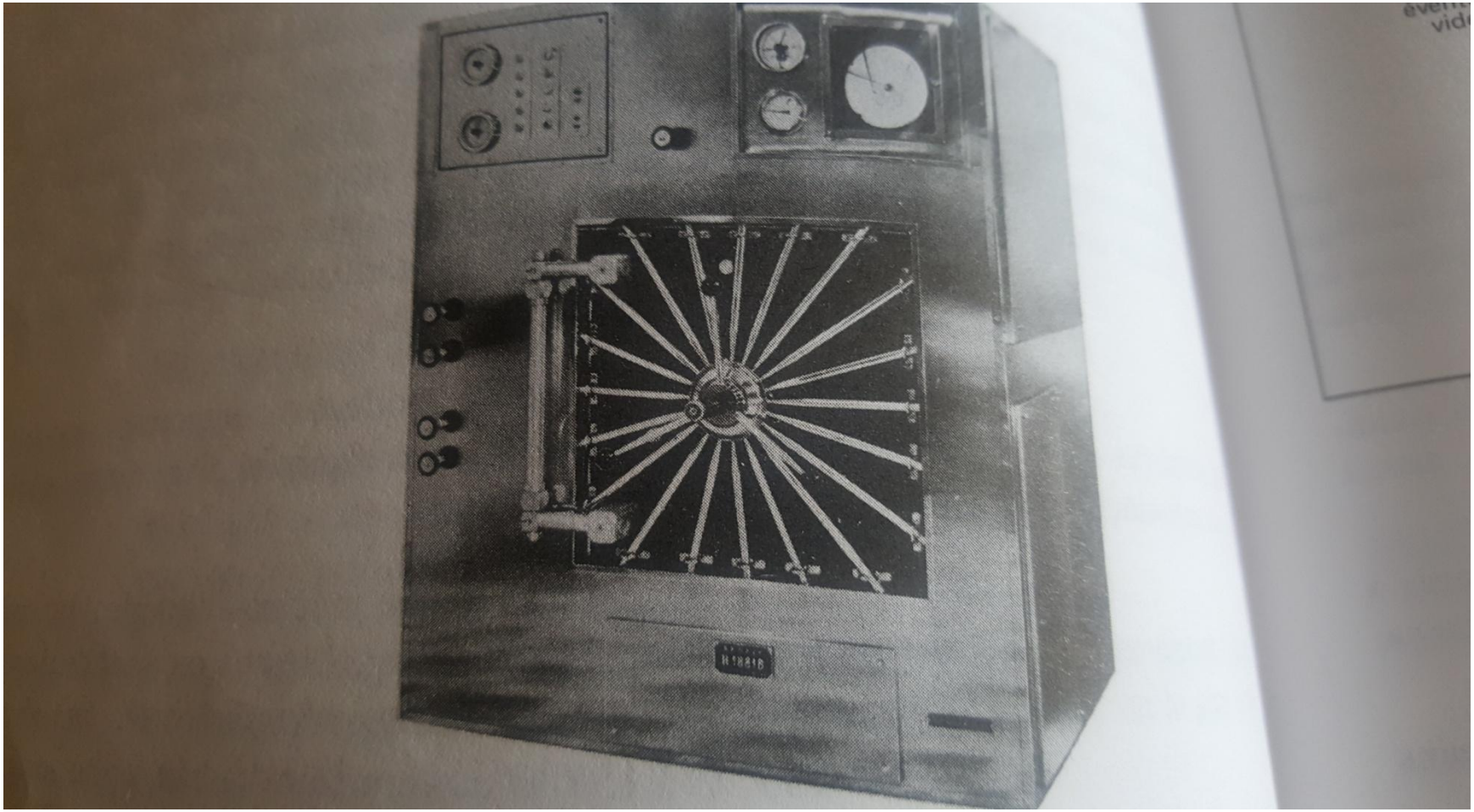
→ conservation sans altérer les caractères organoleptiques couleur, odeur, saveur → lait, jus, vin.

**stabilisation** → aliments par le froid → congélation et réfrigération .

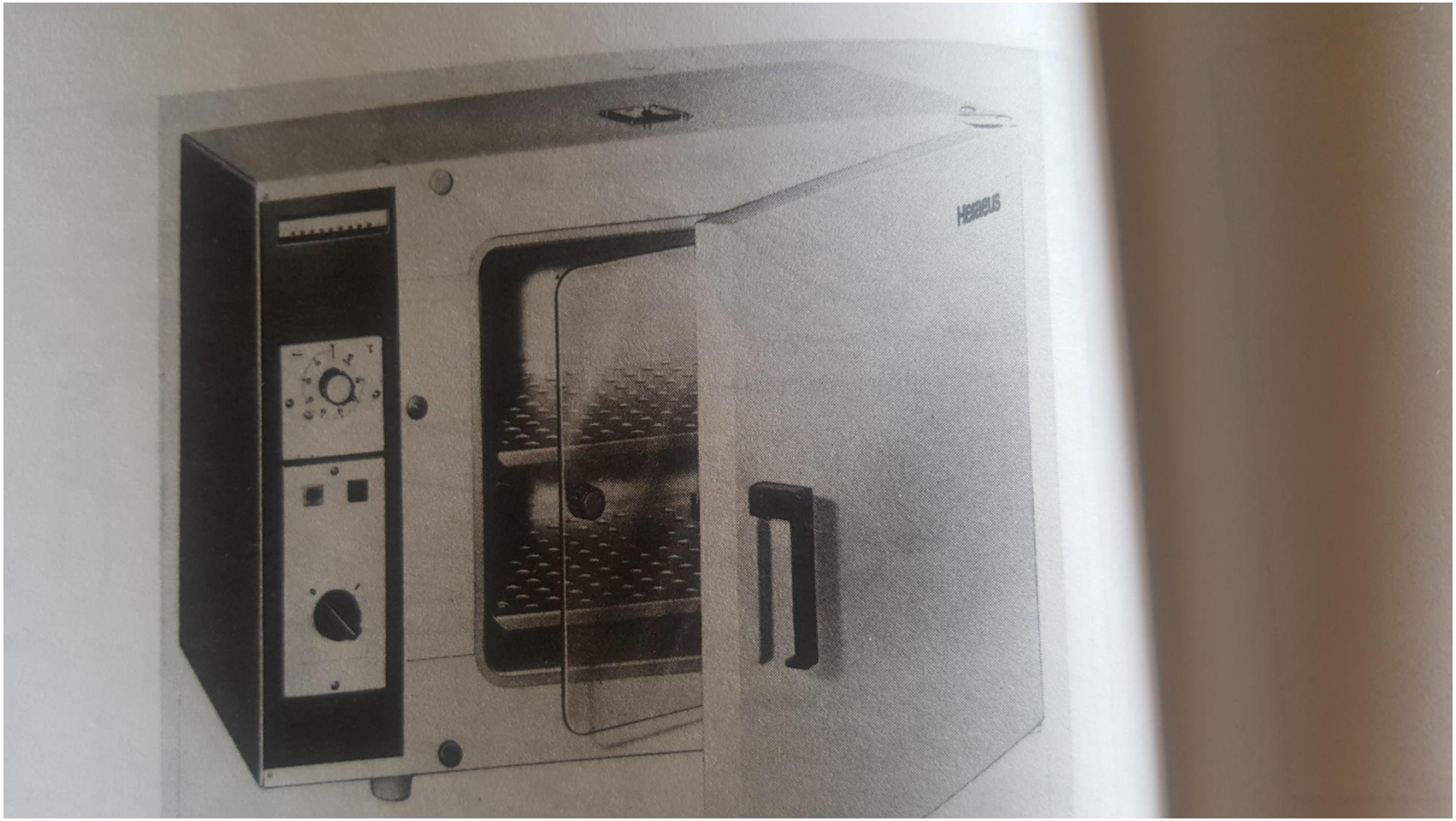
# Autoclave vertical



# Autoclave moderne



# Poupinel ou four pasteur



# Etuve bactériologique



## Elimination mécanique

**filtration** → milieux très sensibles.

**DCL =** milieu au désoxycholate citrate lactose

## Les radiations

*Les radiations électromagnétiques :

**rayonnements ultraviolets** **rayon x** **rayons « gamma ».**

- Hotte bactériologique
- Bloc opératoire

*Les radiations soniques *Les radiations électroniques.

## Les fortes pressions osmotiques

**b ) Les agents chimiques** :**Eau oxygénée; chlore et dérivés; alcool, savons; détergents métaux lourds et leurs sels ; Colorants** utilisés comme désinfectant à usage externe, **gaz** etc.

# Hotte bactériologique



# c ) Termes relatifs à la stérilisation :

**la stérilisation =** destruction totale des germes

la **désinfection =** destruction partielle des germes par des désinfectants

action momentanée

empêcher **les contaminations humaines et animales**

**asepsie** =absence totale des germes **bloc opératoire**

**antisepsie** → résultat momentané

**antiseptiques**

tuer inactiver

les micro-organismes existant au niveau des **tissus vivants**

→ **B**étadine.; mercurochrome ; éosine .

# II /Les antibiotiques:

les antiseptiques → un usage local

La toxicité cellulaire

**antibiotiques (ATB) = agents chimio thérapeutiques**

= dérivés chimiques élaborés par

**pas de pouvoir toxique**

capables d'agir à l'intérieur de l'organisme

**des micro-organismes vivants**

champignons, bactéries

**synthèse chimique**

# TD3: Initiation aux séances de Travaux pratique (TP1)

## I/ Préparation d'un milieu de culture approprié pour l'isolement bactérien à partir d'un biotope donné :

**Biotope :** = échantillon à partir duquel on fait l'isolement bactérien.

- eau
- sol
- prélèvement pathologique
  - urines, selles, le sang, le crachat, etc.

# a / Présentation des milieux de culture :

➡ **Achetés, conditionnés prêts à l'emploi**

solution onéreuse

milieux dont la préparation est complexe

**milieu Lowensten Johnsen**

le bacille de koch

➡ Préparés à partir des **milieux secs déshydratés**..

simple rapide

➡ Préparés à partir des **différents ingrédients entrant dans leur formule**.

➡ Préparés, **juste au moment de l'utilisation sous leur forme définitive**

addition de substances périssables

conditionnement la date de conservation est courte.

**gélose au sang**.

# b) Méthode de préparation d'un milieu de culture à partir d'un milieu sec déshydraté.

**1/ Pesée du milieu:**

le volume précis

**2/ Agitation :**

chauffage → électrique et un agitateur magnétique

**dissolution rapide et homogène**

**4/ La filtration :** n'est pas systématique.

**5/ Répartition du milieu de culture:**

**répartiteur automatique.** **entonnoir à répartition.**

répartition se fait en fonction de la nature des travaux ultérieurs

**Répartition en tubes à essais stériles**



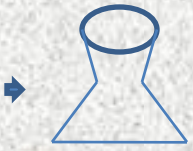
coton cardé

**bouchon**

**milieux liquides ou solides**

**Répartition en petits flacons**

**milieux gélosés**



**3 /Ajustement du PH :**

**mesurer le PH**

***Des petits PH mètre portatif à affichage numérique.** méthode précise

- solutions tampons
- indicateur coloré
- un comparateur.

***Soit du papier PH ou papier indicateur de PH.**

=papier imbibé de solution d'indicateur de PH et séché

en rouleau ou bandelettes

\+ échelle de référence

comparer la teinte obtenue.

**Chaque indicateur de PH vire à une coloration spéciale dans une zone de PH précise**

**Ajuster le PH**

# b) Méthode de préparation d'un milieu de culture à partir d'un milieu sec déshydraté.

## 6/ Stérilisation :

milieu réparti

⇩

**l'autoclave** à 115-120 °C pendant 20 min.

⇩

**décontaminer** le milieu

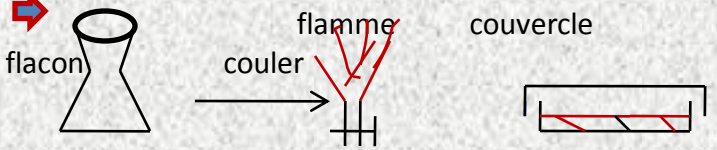
⇩

le milieu de culture stérile

⇩

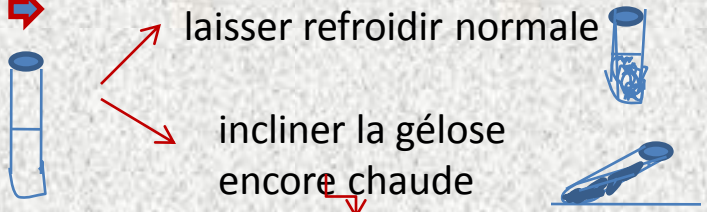
travailler **aseptiquement** et n'avoir que la souche à étudier.

## 7/ Utilisation :




Gélose liquide Chaude > 40°C — aseptiquement — boite de Pétri +milieu gélosé

⇩




gélose en tube — pente après solidification

⇩



milieu liquide → utilisé directement. Après refroidissement

# II) Ensemencement du milieu de culture en vue d'une numération bactérienne

**Intérêt de la dilution** → avoir des colonies bactériennes bien isolées ou séparées

**dilution décimales** = dilutions successives au 1/10 pour arriver à une forte dilution.

↓

permet d'éviter les grandes incertitudes.

**Ensemencement** en surface ou en masse des milieux de culture

.

**Incubation** ,des milieux ensemencés , dans une **étuve** à une **température optimale** de croissance et pendant un **temps d'incubation** précis.

**dénombrement** des colonies bactériennes.

**Principe = 1 bactérie se multiplie pour donner une colonie bactérienne.**

l'écoulement de la durée d'incubation des milieux ensemencés

↓

on compte les colonies bactériennes dans l'ensemble des dilutions

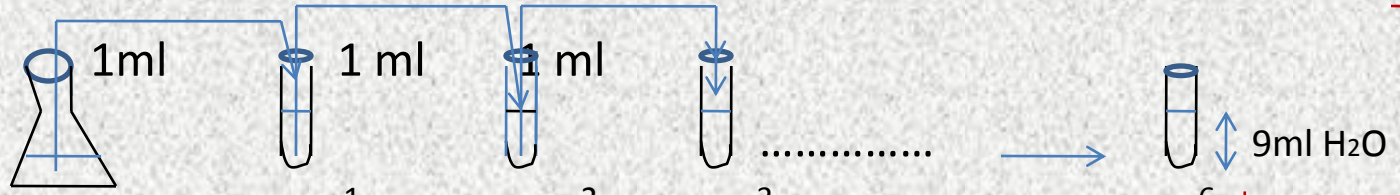
↓

**30 ≤ nombre de colonies ≤300**. seront prises en considération

**Nombre de bactéries/ml de biotope=**

$$\frac{\text{Nbr de colonies x inverse de dilution}}{\text{volume inoculé}}$$

# II) Ensemencement du milieu de culture en vue d'une numération bactérienne




=biotope

= solution mère

a/agiter b/changer de pipette

c/pipette ne touche pas la surface du 2ème tube

bec benzène

**Etape n°1**

**préparation des dilutions décimales**



**Etape n°2**

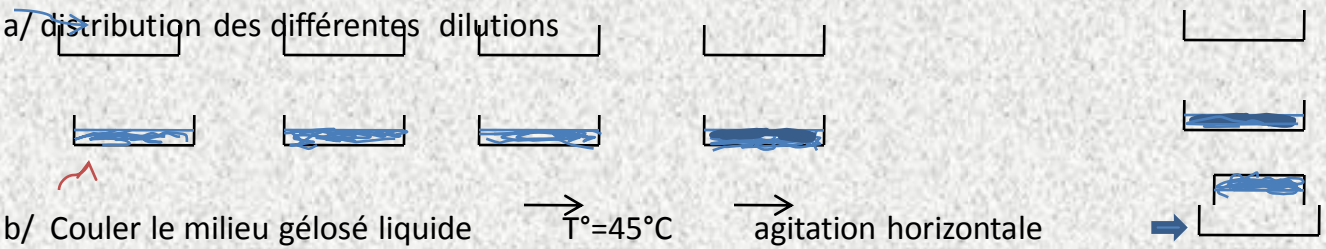
**Ensemencement en surface**

➡ **aérobie**

Milieu gélosé – a / agiter b/ commencer par la dilution la plus forte ➡ même pipette

c/ Couler un volume précis d/ étaler avec un étaloire e / Couvercle

a/ distribution des différentes dilutions



**Etape n°2`**

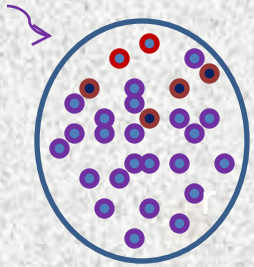
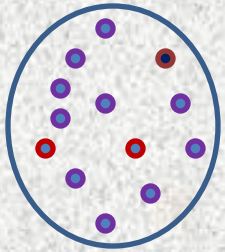
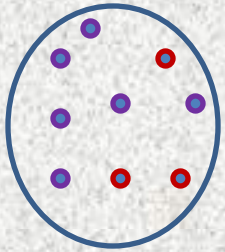
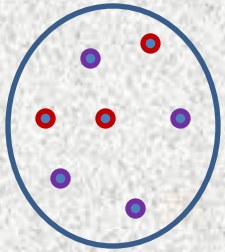
Ensemencement **en masse**

➡ anaérobie

b/ Couler le milieu gélosé liquide → T°=45°C → agitation horizontale ➡ ➡ incubation

# Exemple de dénombrement

Tapis ou nappe bactérienne

Plus la dilution plus le nombre de bactéries sans être proportionnels

Solution mère D1=$10^{-1}$ D2=$10^{-2}$ D3 =$10^{-3}$

10-1 ➡ 200 Colonies ➡ N1 ➡ nbr de bactéries/ml de biotope

10-2 ➡ 68 colonies ➡ N2

$10^{-3}$ ➡ 20 colonies ➡ <30 ➡ non considéré

N1= nbr bactéries /ml de biotope = $\frac{200 \times 10}{1ml}$ = 2000 bac/ ml de biotope

N2 = $\frac{68 \times 102}{1 ml}$ =6800 bact /ml de biotope ➡ moyenne = $\frac{2000 + 6800}{2}$

# La numération des bactéries

## grand intérêt en microbiologie appliquée

### bactériologie alimentaire

le dénombrement se fait soit
en milieu liquide ou en milieu solide

en surface ou en masse avec double couche
éviter les toxi - infections alimentaires

aliments eau

**analyse de routine** , périodique et à l'improviste de différents commerces
boucherie , pâtisserie ,laiterie , crémerie

**Cas d'une intoxication alimentaire , individuelle ou collective déclarée**

.

### bactériologie médicale

Examen direct au microscope optique

Pneumocoque → méningite
Bacille de Koch → tuberculose
dénombrement → infection urinaire

**Industrie pharmaceutique**

tester

**un antibiotique** **un antiseptique**

# III/Etude qualitative TP1

**Récapitulation des acquis du TP1:**

Une mise en évidence des bactéries dans **différents biotopes**:

**Le corps humain**: la muqueuse buccale t=37°C

**L'environnement** - eau de puit -air ⇒ t =30°C

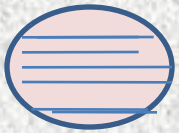
-eau de robinet

Un aliment: le yaourt

* à **des températures optimales de croissance** « t »

*dans **un milieu de culture usuel** ⇒ La gélose nutritive

*avec **des ensemencements** différents:



-par **stries transversales**

-par **inondation** puis étalement, par un étaloir( sans ou après dilution)

⇓

**Une grande diversité de bactéries**

# Etude qualitative TP1

Une grande diversité de bactéries est détectées par une

**variabilité des colonies bactériennes** **+Présence de champignons**

Taille, couleur(créme ou pigmentée)

Forme: relief et pourtour(polycopié TP),

Consistance: muqueuse (filante sous l'anse ) ,crémeuse,grasse et séche

Aspect de la surface: lisse(brillante à la lumière) et rugueux

On distingue ainsi **3 types de colonies:(planche de lecture)**

| | ***Colonie S** | *** colonie R** | *** Colonie M** |
|---|---|---|---|
| Surface | lisse | rugueuse | lisse |
| Bords | réguliers | dentelés | régulier |
| Relief | bombée | plates | bombée |
| Consistance | crémeuse | séche | muqueuse |

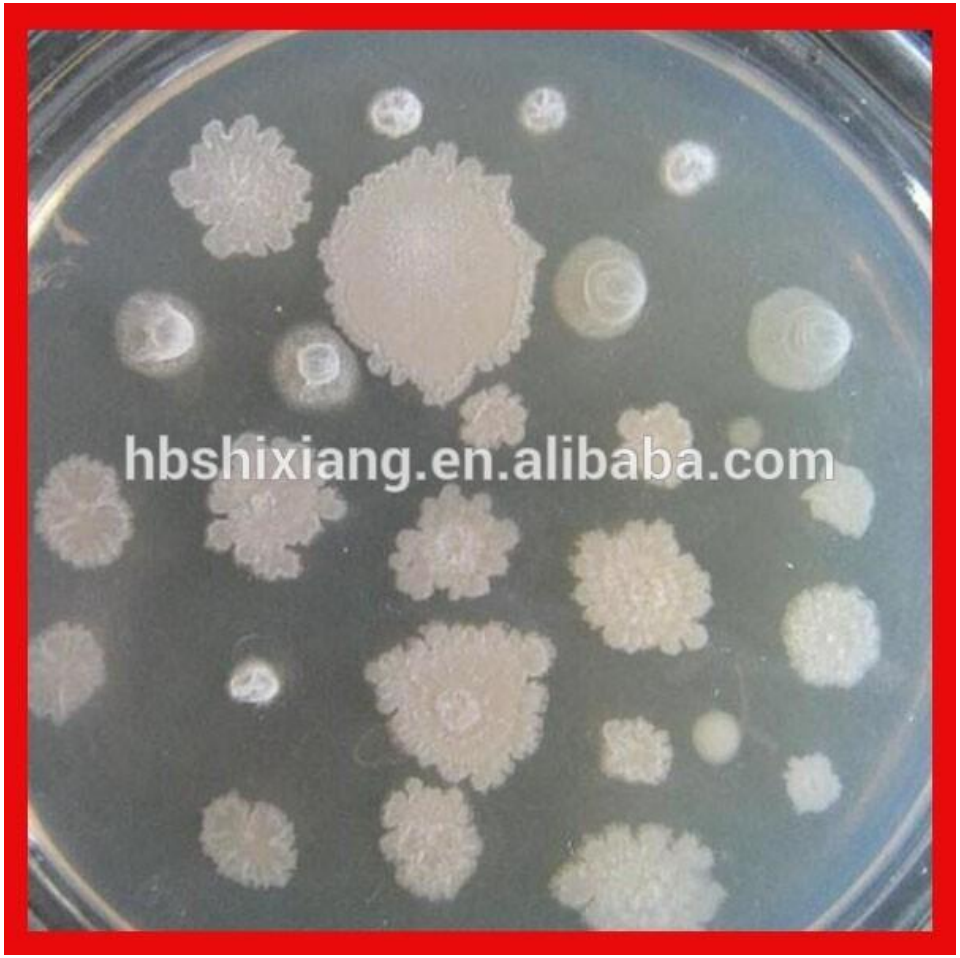
# Colonie rhizoîde,type R: *Bacillus subtilis*

***La surface qui apparait lisse correspond à un mutant***



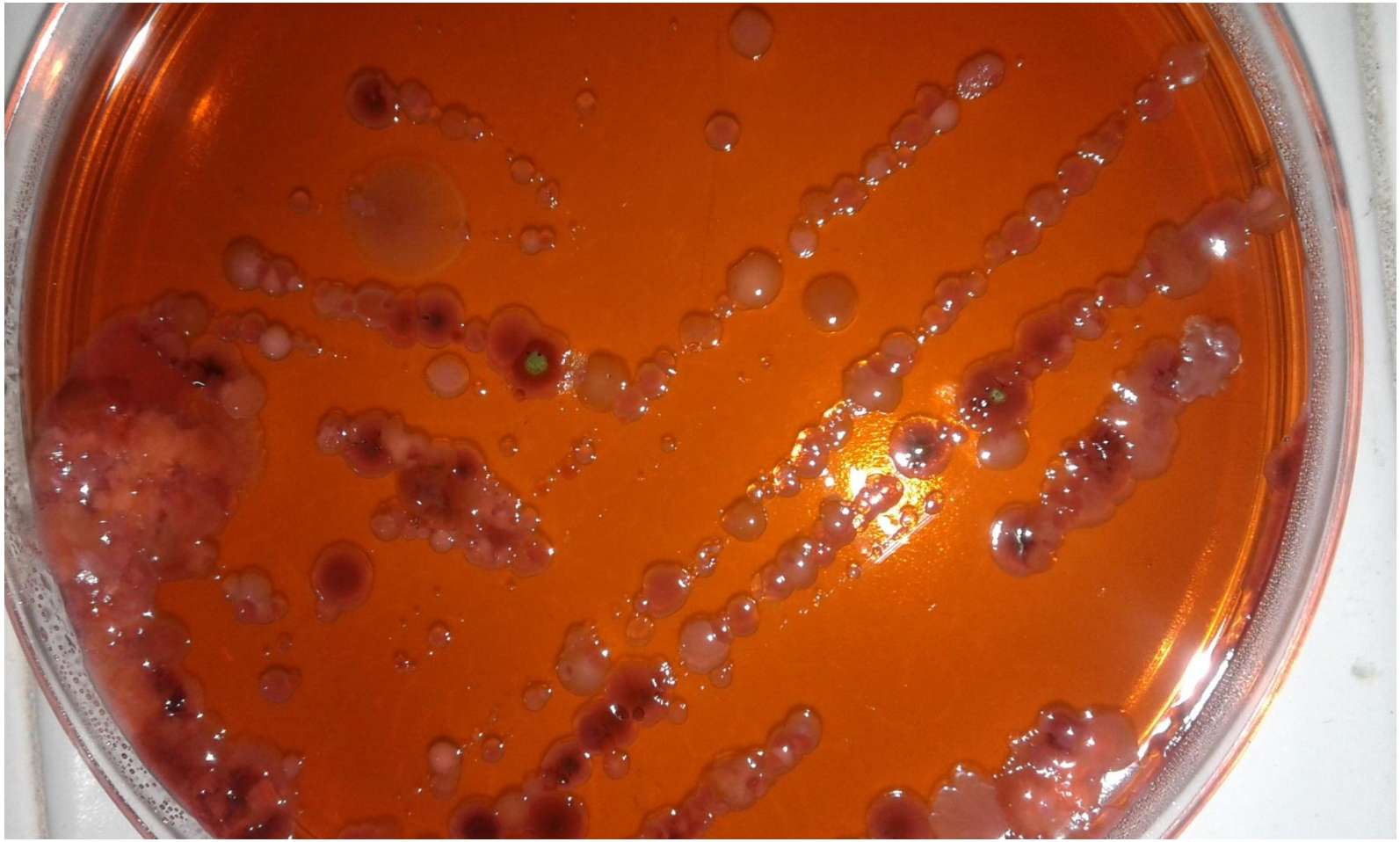
# Colonie rhizoîde,type R: *Bacillus subtilis*

***surface rugueuse → souche sauvage***



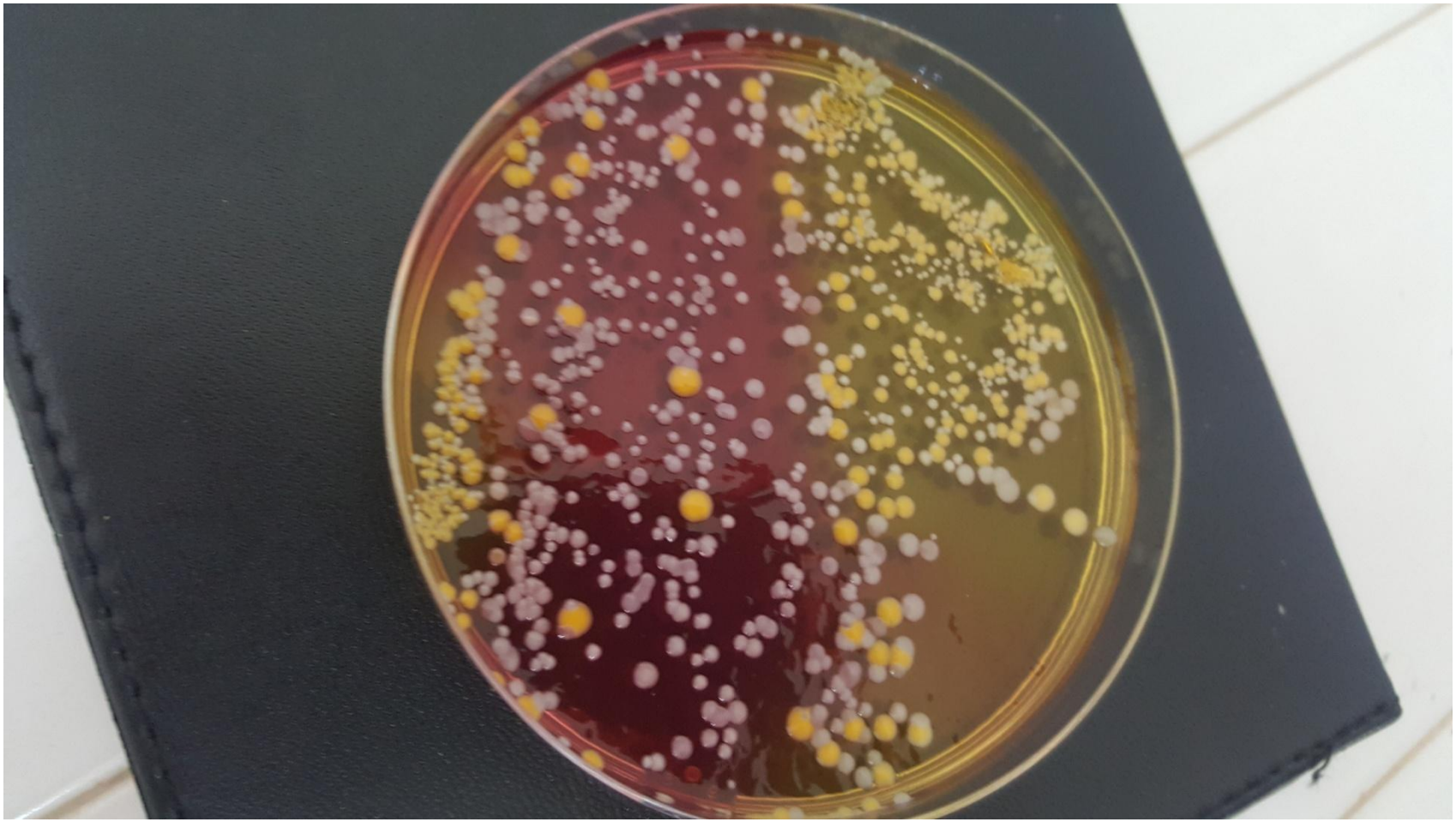
➞ **Colonies type M**

* Colonies roses violacée
* violette à centre foncée



# **Colonies type S** : ***Staphylococcus***

pigment jaune doré(***S.aureus***)



## Colonies roses type S: *S.epidermis*



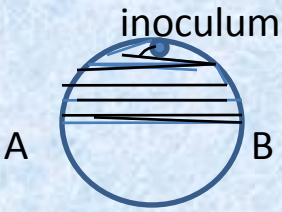
TD 4

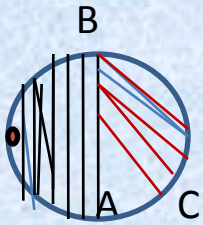
# Caractérisation et identification des bactéries

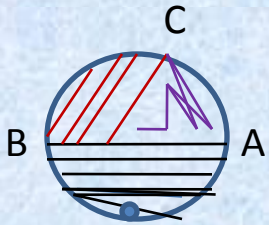
## I / Isolement et purification des bactéries (TP2)

**Isolement** → **Technique d'épuisement pas stries**

Utiliser une anse en platine  BOUCLE




**1ère étape :** **stries bien serrées**

**Incuber à une température et temps appropriés.**

2ème étape : **stries moins serrées**

3ème étape : **stries très espacées**



**Colonies bien isolées**

**culture impure** **4 types de colonies**

# Purification

**Choisir une colonie bien isolée**



la mettre en suspension dans de l'eau distillée stérile.

**1ère identification microscopique.**

Réisolement **sur un milieu gélosé adéquat**



**culture pure**



**culture impure**

refaire la même opération

**culture pure**

choix orienté par la clinique

**milieu spéciaux d'isolement**

**l'urgence exigée par les analyses médicales**

technique longue =





# Différentes méthodes d'isolement bactérien

➡ **Isolement puis purification bactérienne classique .**

➡ **Milieu spéciaux d'isolement.**

➡ **<u>Méthodes particulières d'isolement :</u>**

**Action de la chaleur.**

**Isolement des bactéries sporulées**

Le chauffage élimine la flore non sporulée et seule la flore sporulée, qui résiste aux fortes températures, sera sélectionnée ➡ **isolement de *Bacillus(TP2)***

**Modification des températures**

optimales de croissance.

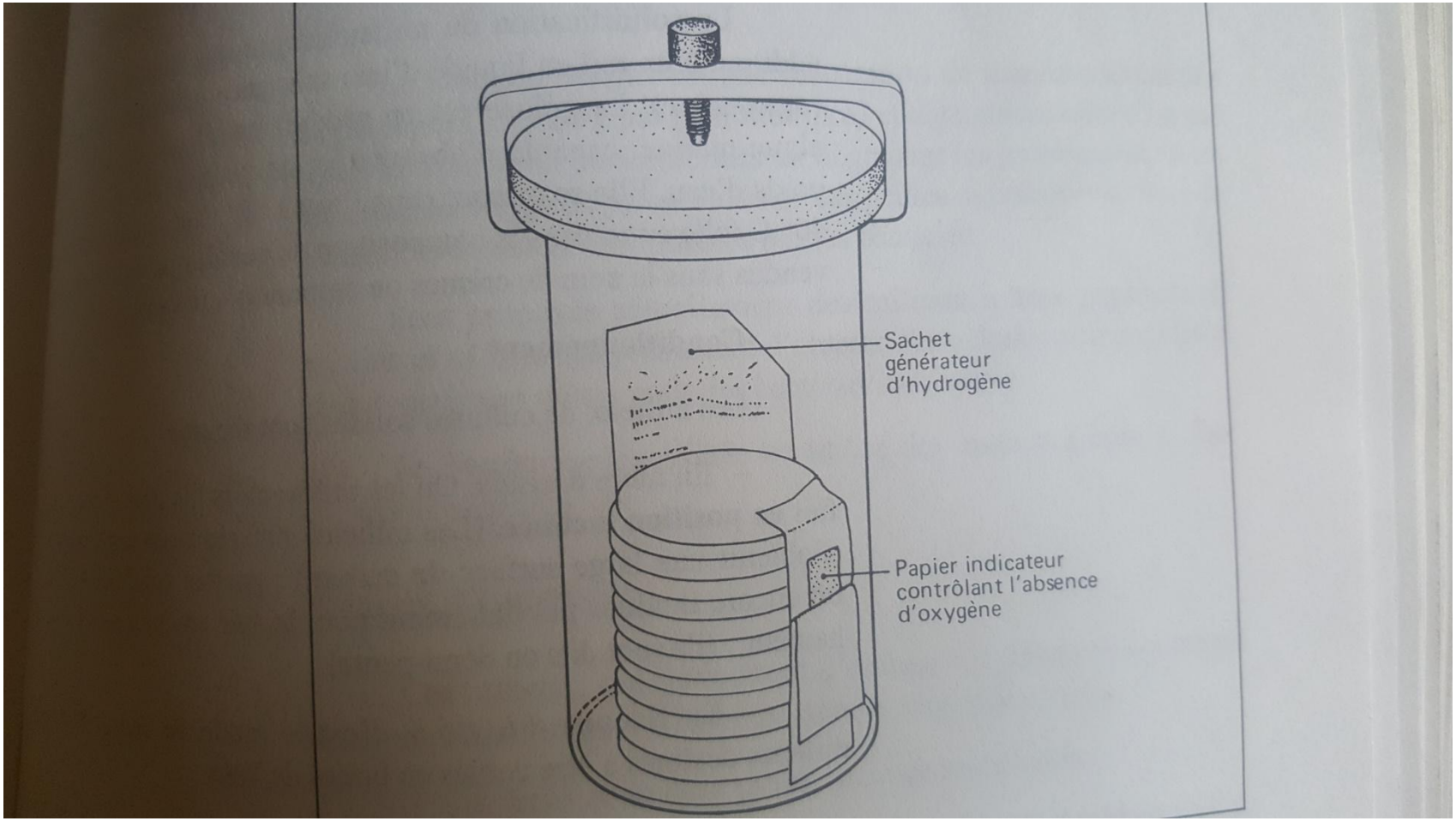
**besoin en oxygène**

**Isolement des bactéries anaérobies**

**culture en masse + jarre d'anaérobiose (en présence du $CO_2$).**

➡ **isolement de *Clostridium***

# Jarre d'anaérobiose



# II/ Identification des bactéries :

**L'identification d'une souche bactérienne est orientée**

**son origine**

produit pathologique

renseignements cliniques

Suspicion de méningite

*Pneumocoque*

angine

*Streptocoque*

**les caractères culturaux**

exigences et aspect des colonies sur les milieux d'isolement

\+ *Staphylococcus aureus*

milieu chapman → PO

\+ dégradation du mannitol

milieu jaune

+pigment jaune non diffusible

colonies jaunes

*Pseudomonas* ➡ *pigment*

vert fluorescent ou bleu diffusible

**l'aspect microscopique**

utilisation des colorants spécifiques

coloration des spores

*bactérie sporogènes*

**coloration de Gram**

forme et groupe

Staphylocoque

cocci gram+

en grappe de raisin

**type respiratoire**

anaérobie

Clostridium

aérobie

Bacillus

➡ PL.de lecture

# → L'identification biochimique

repose

**révélation de certains aspects significatifs et stables du métabolisme**

familles, genres espèces (pl I 1et I 2).

Le choix des caractères à étudier

**le choix du milieu d'identification**

**orienté**

**observations microscopiques**

**culture**

aspect des colonies et pigmentation

(planches : complément de TP).

**orientation très précise**

## ➡ Identification par des examens sérologiques

**les groupes antigéniques de salmonella et streptococcus**

## ➡ identification par l'étude du pouvoir pathogène expérimental

**recherche de la coagulase chez *staphylococcus aureus***

## ➡ Exigences de l'identification

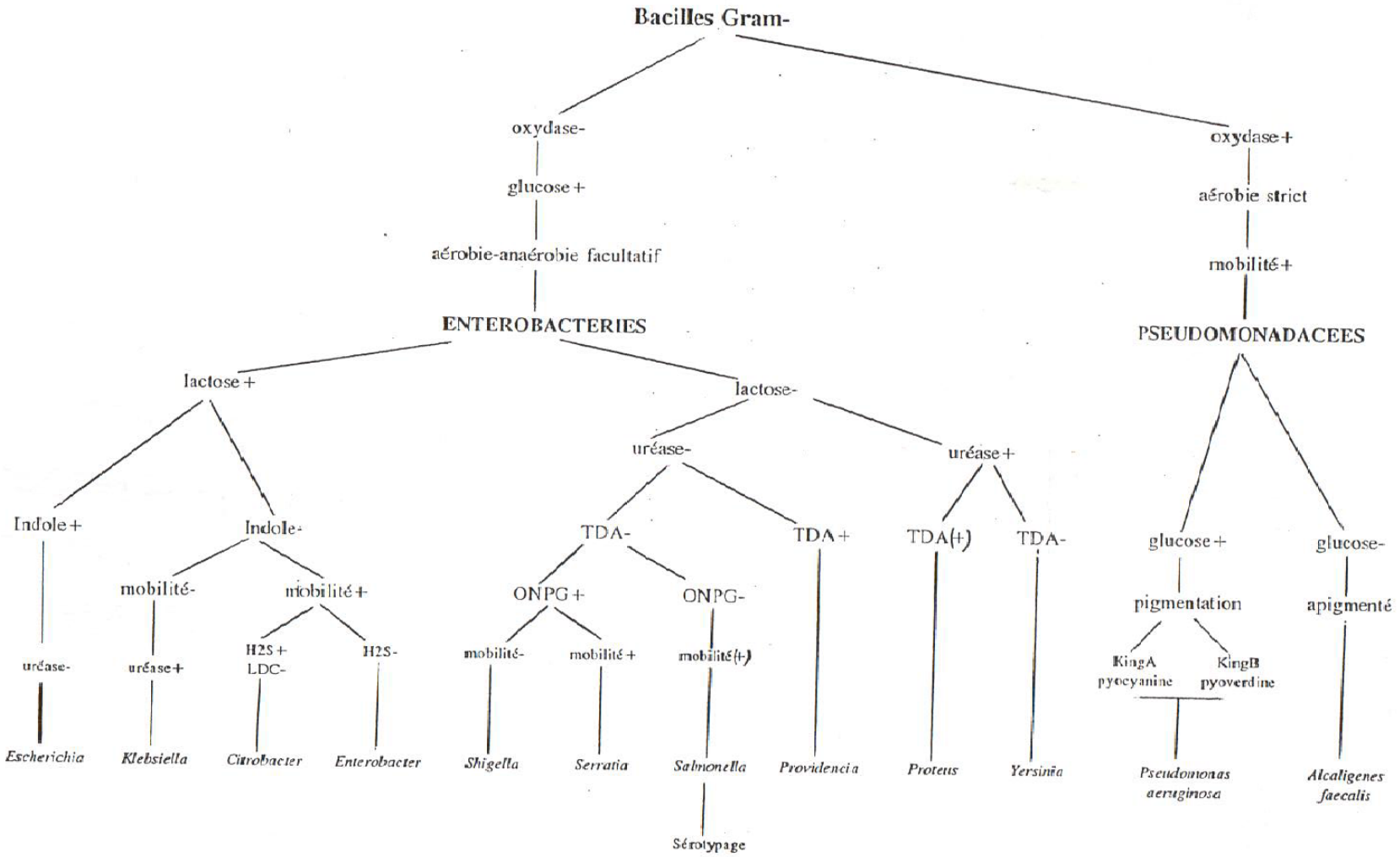
**L'identification exige la pureté de la souche**

**éviter les repiquages fréquents ➡ vieillissement de la cellule ➡ perte de la virulence.**

**éviter les transferts en milieux liquides avant l'identification ➡ probabilité de mutation et perte de plasmide par conjugai.**

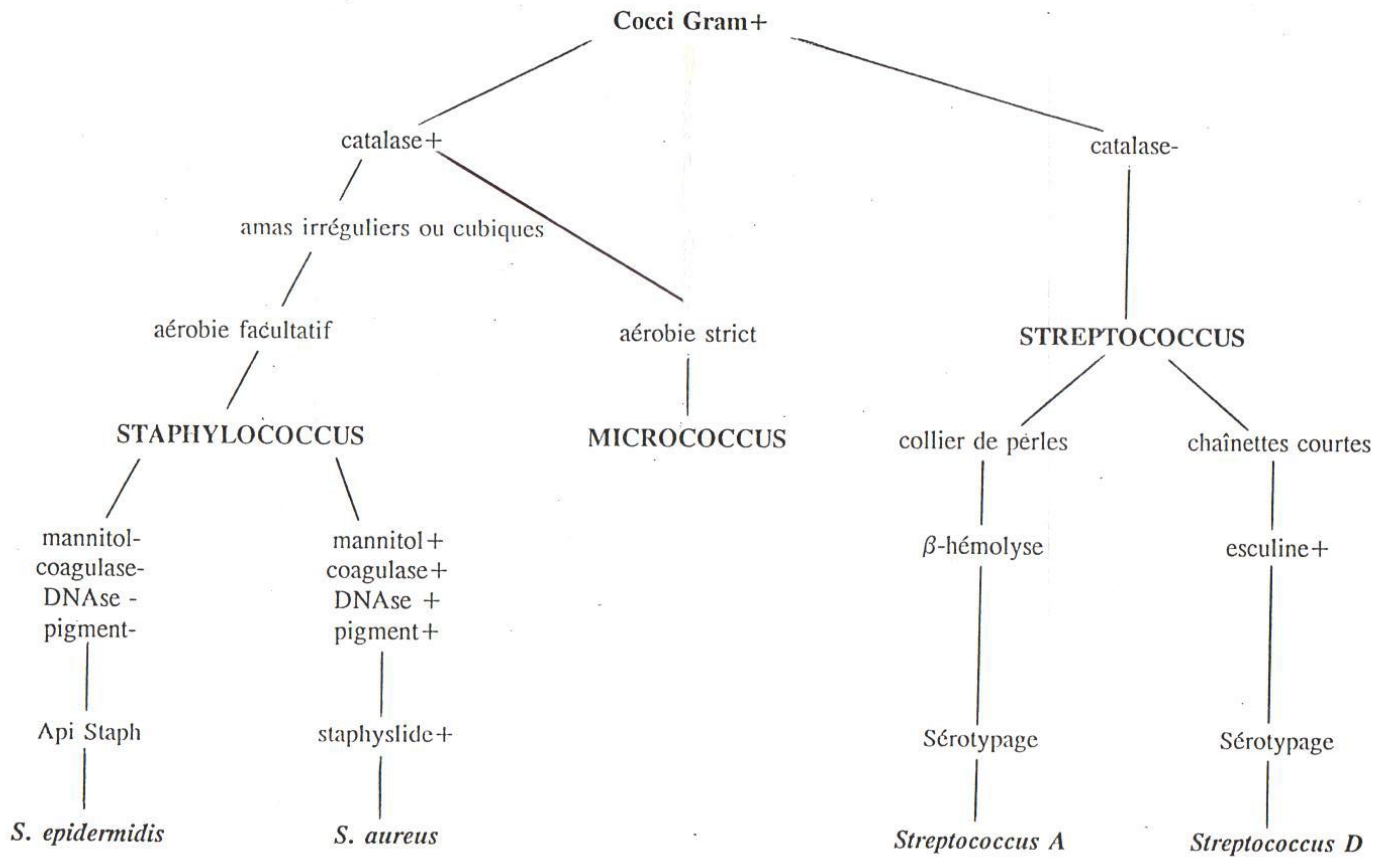
**éviter les suspensions trop denses** ➡ les galeries standarisées : galerie A pi 20 E → pl d'ident

I.1




CLE DICHOTOMIQUE POUR L'IDENTIFICATION DES BACILLES G-

Planche - identification -2-



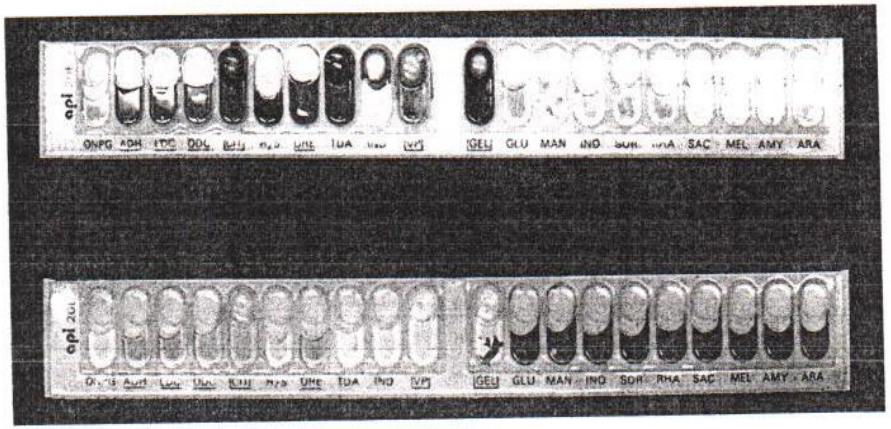

*CLE DICHOTOMIQUE POUR L'IDENTIFICATION DES COCCI G+*

TD

Planche I3

# Identification bactérienne à l'aide de l'API 20 E (⇒ Entérobactéries)

**Figure L'identification bactérienne à l'aide d'un kit.** Le système biochimique manuel API 20E pour l'identification microbienne. Résultats **(a)** positifs et **(b)** négatifs.




. ONPG (β galactosidase) ; ADH (arginine déshydrogénase) ; LDC (lysine décarboxylase) ; ODC (ornithine décarboxylase) ; CIT (citrate, seule source de carbone) ; $H_2S$ (production de sulfure d'hydrogène) ; URE (uréase) ; TDA (tryptophane désaminase) ; IND (production d'indole) ; VP (test Voges-Proskauer pour l'acétoïne) ; GEL (liquéfaction de la gélatine) ; fermentation du glucose (GLU), mannitol (MAN), inositol (INO), sorbitol (SOR), rhamnose (RHA), saccharose (SAC), mélibiose (MEL), amygdaline (AMY) et arabinose (ARA) ; OXI (test de l'oxydase).

**Tableau I** : Tableau de lecture de l'API 20E

| Tests | Substrats | Réactions / Enzymes | Résultats | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Négatif | Positif |
| ONPG | Ortho - Nitro - Phenyl- Galactoside | Bêta-Galactosidase | Incolore | Jaune (1) |
| ADH | Arginine | Arginine dihydrolase | Jaune | Rouge/Orangé (3) |
| LCD | Lysine | Lysine décarboxylase | Jaune | Orangé |
| ODC | Ornithine | Ornithine décarboxylase | Jaune | Rouge/Orangé (3) |
| CIT | Citrate de Sodium | Utilisation du citrate | Vert pâle-Jaune | Bleu-Vert/Vert (3) |
| $H_2S$ | Thiosulfate de Sodium | Production d'$H_2S$ | Incolore/Grisâtre | Dépôt noir / Fin Liseré |
| URE | Urée | Uréase | Jaune | Rouge/Orangé |
| TDA | Tryptophane | Tryptophane desaminase | TDA / Immédiat | |
| | | | Jaune | Marron foncé |
| IND | Tryptophane | Production d'indole | IND / 2 minutes maximum | |
| | | | Jaune | Anneau rouge |
| V P | pyruvate de Sodium | Production d'acétoine | V $P_1$ + V $P_2$ / 10 minutes | |
| | | | Incolore | Rosé-rouge |
| Gel | Gélatine de Kohn | Gélatinase | Pas de diffusion | diffusion du pigment noir |
| GLU | Glucose | Fermentation / oxydation (4) | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| MAN | Mannitol | Fermentation / oxydation | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| INO | inositol | Fermentation / oxydation | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| SOR | Sorbitol | Fermentation / oxydation | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| RHA | Rhamnose | Fermentation / oxydation | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| SAC | Saccaharose | Fermentation / oxydation | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| MEL | Melibiose | Fermentation / oxydation | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| AMY | Amygdaline | Fermentation / oxydation | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| ARA | Arabinose | Fermentation / oxydation | Bleu / Bleu-vert | Jaune |
| OX | Sur papier filtre | Cytochrome-oxydase | OX / 5 - 10 minutes | |
| | | | Incolore | Anneau violet |
| $NO_3$ - $NO_2$ | Tube G L U | Production de $NO_2$ | NIT$_1$ + NIT$_2$ / 2 - 3 minutes | |
| | | | Jaune | Rouge |
| | | Réduction au stade $N_2$ | Zn | |
| | | | Rouge | Jaune |

(1) Une très légère couleur jaune est également positive ; (2) Lecture dans la cupule (zone aérobie)
(3) Une couleur orange apparaissant après 24 heures d'incubation doit être considérée négative
(4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule

# III / Réalisation de l'antibiogramme

=

**relevé des caractères de sensibilité**

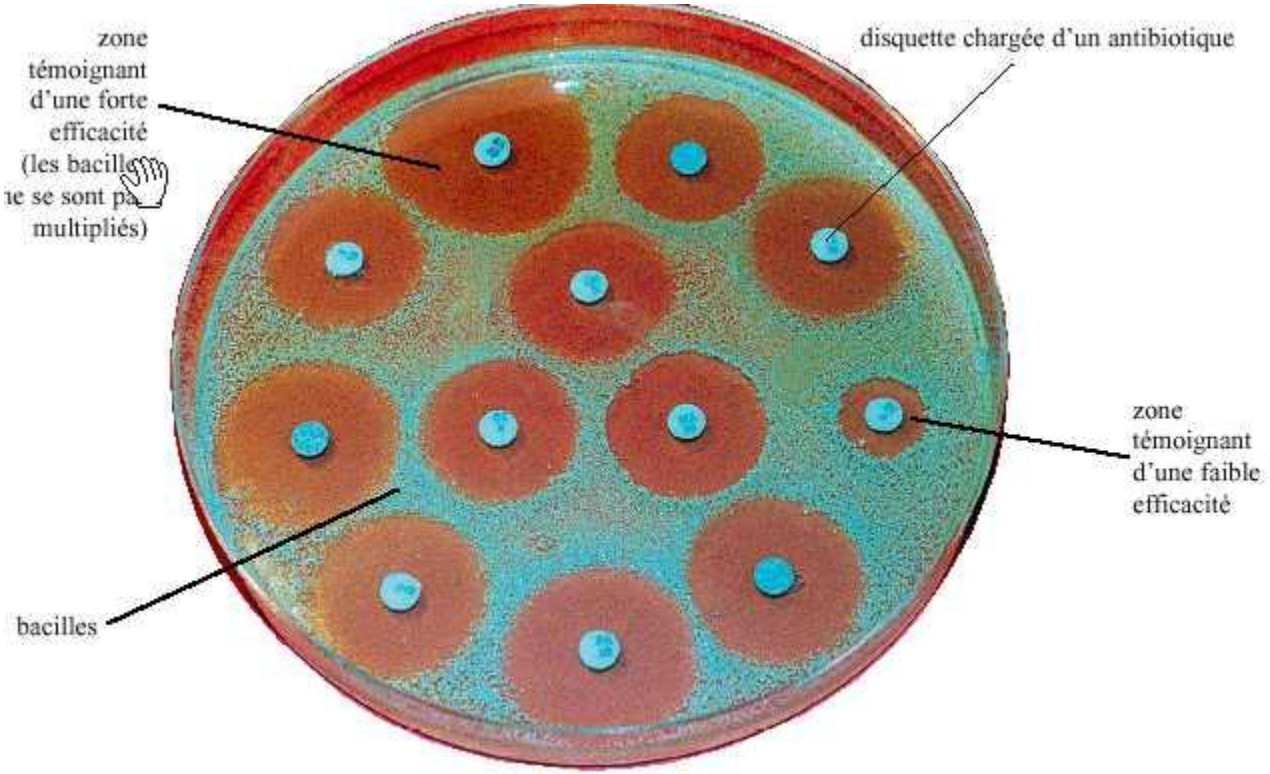
**ou de résistance du germe à étudier**

↓

**tester l'activité d'un grand nombre**

**d'antibiotiques sur une souche bactérienne**

# Antibiogramme



# Antibiogramme



# Antibiogramme



# IV / Conservation :

**température basse** **milieu pauvre**

**développement lent des bactéries**

**BUT:**

**1/** **Les travaux de recherche** : exp :Escherichia (E.coli)

**2/** **production industrielle**.

***Industrie alimentaire** : exp : conservation du lait les bactéries lactiques empêchent le développement des bactéries indésirables dans le lait.

➡ préparation des différents fromages, yaourt , petit lait .

**Industrie pharmaceutique** Fabrication des antibiotiques et vitamines

# V / Désinfection du matériel souillé :

A la fin d'une étude bactériologique

procéder à une **désinfection**

**destructions des bactéries**

**Autoclave**

**une réutilisation ultérieure**

verrerie

avant de jeter les produits souillés tels les cultures bactériennes et les produits pathologiques.