**Université A. Mira de Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département de Microbiologie**

**Master I, Microbiologie appliquée au diagnostic**

**Responsable du module : Mme GHAROUT-SAIT Alima.**

**TP Agents infectieux bactériens.**

**But du TP :**

* Préparation des milieux de culture et identification des bacilles à Gram négatif et des coccis à Gram positif.

**Jour 1 :**

* **Préparation des milieux de culture suivants : un milieu liquide Urée-indole (sans autoclavage) et un milieu semi solide Mannitol-Mobilité.**
* **Repiquage des souches à étudier.**

**Jour 2:**

* **Lecture des boites** : Observation de l’aspect des colonies sur les différents milieux.
* **Coloration de Gram**
* **Catalase**
* **Oxydase**
* **Ensemencement de la galerie biochimique :**
* Préparation de la suspension bactérienne dans l’eau physiologique.
* Bouillon nitraté
* Bouillon Clark et Lubs
* Eau peptonée exempt d’indole
* Bouillon Urée-indole
* ODC, LDC, ADH, témoin Moeller
* KIA ou TSI
* Citrate de Simmons
* Mannitol Mobilité
* Hugh et Leifson glucosé (MEVAG)
* King A
* King B
* Bouillon Giolitti Cantoni
* Bouillon Rothe hypersalé 6,5%.
* Bouillon Rothe (test de la chaleur).

**Jour 3:**

* **Lecture des différents milieux ensemencés :** Bouillon Urée-indole (uréase) ; ODC, LDC, ADH, témoin Moeller ; KIA ou TSI (culot, pente, gaz, H2S) ; Citrate de Simmons ; Mannitol Mobilité ; Hugh et Leifson glucosé (MEVAG), King A ; King B ; Bouillon Giolitti Cantoni ; Bouillon Rothe hypersalé 6,5% ; Bouillon Rothe (test de la chaleur).
* **Réaliser les tests de révélation :**

Bouillon nitraté (NR1 +NR2)

Bouillon Clark et Lubs (VP1 + VP2)

Eau peptonée exempt d’indole (Réactif de Kovacks)

Bouillon Urée-indole (TDA)

* **Réaliser le test ONPG à partir du milieu KIA ou TSI pour les bactéries lactose - uniquement.**
* **Il est souhaitable d’avoir une galerie API20E pour une demonstration.**

**Besoins du TP agents infectieux bactériens.**

**Nombre d’étudiants :28**

Nombre de postes : 14

**Jour 1 :**

* Erlenmeyers
* Béchers
* Eprouvettes
* Barreaux magnétiques
* Balances
* Plaques chauffantes et agitatrices
* Eau distillée
* Filtres seringues 0,45 µm.
* pH mettre
* Solution acide et basique pour ajuster le pH
* Tubes vides
* Flacons
* Distributeurs de milieux
* Papier aluminium
* Papier
* Autoclave
* Etuve 37°C.

**Besoins par poste :**

* 3 Boites pour identifications de 3 souches entérobactéries (EMB, VRBL, Hecktoen,).
* Une boite cétrimide (*Pseudomonas*)
* Une boite VRBL (*Acinetobacter*)
* Une boite BEA ou Slanetz (*Enterococcus*).
* Une gélose au tellurite de potassium (*Enterococcus et Staphylococcus*).
* Une boite Chapman (*Staphylococcus*).
* Une boite DNAse (*Staphylococcus*).
* Pipettes Pasteur

**Jour 2 :**

Etuve 37 ET 44°C.

**Besoins par poste :**

* 5 tubes eau physiologique stérile
* 5 tubes Bouillon nitraté
* 5 tubes Bouillon Clark et Lubs
* 5 tubes Eau peptonée exempt d’indole
* 5 tubes Bouillon Urée-indole
* 5 tubes de : ODC, LDC, ADH, témoin Moeller (huile vaseline stérile)
* 5 tubes KIA ou TSI
* 5 tubes Citrate de Simmons
* 5 tubes Mannitol Mobilité
* 5 tubes Hugh et Leifson glucosé (MEVAG) (huile vaseline stérile)
* 1 tube GIOLITTI CANTONI
* 1 tube Bouillon Roche
* 1 tube Bouillon Roche hypersalé
* Pipettes Pasteur
* Coloration de Gram **(lame, pince)**
* Catalase **(lame, H2O2)**
* Oxydase **(lame, disque d’oxydase)**

**Jour 3:**

* Réactif de Kovacs
* Réactif TDA
* Réactif de NR1 et NR2
* Réactif de VP1 et VP2
* Poudre de zinc
* Tubes d’eau physiologique et disque ONPG
* Bain Marie