**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 Diagnostic microbiologique de infections**

**But du TP :**

Recherche et identification de bactéries pathogènes et résistantes aux antibiotiques à partir d’un prélèvement pathologique.

**Jour - 1 :**

**Ensemencement des bouillons sélectifs pour la recherche de Staphylocoques (Giolitti Cantoni), entérocoques (Rothe ou Evalitzky) et bacilles à Gram négatif (Bouillon BHIB/ nutritif/TSB).**

**Jour 1:**

* **Lecture des bouillons avec et sans antibiotiques**.
* **Repiquage des tubes positifs sur les géloses de sélection avec et sans antibiotiques**.

**Jour 2:**

* **Lecture des géloses**
* **Coloration de Gram**
* **Catalase**
* **Oxydase**
* **Ensemencement de la minigalerie biochimique :**
* Préparation de la suspension bactérienne dans l’eau physiologique.
* Bouillon nitraté
* Bouillon Clark et Lubs
* Bouillon Urée-indole
* KIA
* Citrate de Simmons
* Mannitol Mobilité
* King A
* King B
* Bouillon Giolitti Cantoni
* Bouillon Rothe hypersalé 6,5%.
* Bouillon Rothe (test de la chaleur).
* **Antibiogramme**

**Jour 3:**

* **Lecture des différents milieux ensemencés :** Bouillon Urée-indole (uréase) ; KIA ou TSI (culot, pente, gaz, H2S) ; Citrate de Simmons ; Mannitol Mobilité ; 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)

Bouillon Urée-indole (TDA)

**TP Diagnostic microbiologique de infections**

**Nombre d’étudiants :28**

Nombre de postes : 14.

**Jour 1 :**

**Besoins par poste :**

* 2 Boites pour identifications de bacilles à Gram négatif (Mac Conkey ou EMB, Chromagar).
* 2 Boites cétrimide (*Pseudomonas*)
* 2 Boites BEA ou Slanetz (*Enterococcus*).
* 2 Boites Chapman ou Baird Parker (*Staphylococcus*).
* Pipettes Pasteur

**Jour 2 :**

Etuve 37 °C.

**Besoins par poste :**

* 2 tubes eau physiologique stérile
* 6 tubes Bouillon nitraté
* 6 tubes Bouillon Clark et Lubs
* 6 tubes Bouillon Urée-indole
* 6 tubes KIA ou TSI
* 6 tubes Citrate de Simmons
* 6 tubes Mannitol Mobilité
* 2 tubes GC
* 2 tubes Bouillon Roche
* 2 tubes Bouillon Roche hypersalé
* Pipettes Pasteur
* Coloration de Gram **(lame, pince)**
* Catalase **(lame, H2O2)**
* Oxydase **(lame, disque d’oxydase)**
* 4 Boites Mueller-Hinton
* 4 Ecouvillons

**Jour 3:**

Lecture galerie et antibiogramme

* Réactif de Kovacs
* Réactif TDA
* Réactif de NR1 et NR2
* Réactif de VP1 et VP2