

Chapitre etude morphologique des colonies bacterienne

Caractères morphologique d une colonie bactérien

- 1- la taille
- 2- la forme
- 3- l'élévation
- 4- le bord
- 5- l'aspect de la surface
- 6- l'opacité
- 7- la consistance
- 8- la couleur ou on dit la pigmentation
- 9- Odeur

Les caractères de la colonies R

Surface : rugueuse

Bords : souvent dentelés

Plates

Consistance : sèche

Suspensions : hétérogènes

les caractères de colonie S :

Surface : lisse

Bord : régulier bombé

consistance : crémeuse

suspension : homogène

les caractères de colonie M

surface : lisse

bord : régulier bombé

suspension : hétérogène

CHAPITRE Coloration simple

colorant : bleu de méthylène

coloration vitale → l'état frais : bactéries vivante (je ne flambe pas mon frottis)

coloration fixée → frottis fixé = bactéries morte (je flambe mon frottis)

frottis : étaler une culture bactérienne ou un produit pathologique sur une lame afin de pouvoir réaliser une coloration permettant l'observation au microscope

étape formation du frottis :

1-étalement

2-séchage

but coloration simple

permet d'étudier :

1- la taille

2- la forme

3- le mode de regroupement des cellules bactériennes

étapes de la coloration simple

1-étalement

2-séchage

(pour former le frottis)

3-fixation (bactérie morte)

4-coloration avec le bleu de méthylène

5 Rincer :

6- sécher

7- observer au Microscope

note : l'élément qui sera coloré après une coloration simple d'une cellule bactérienne (siège de la coloration) : « cytoplasme »

COLORATION DOUBLE : (coloration de GRAM)

double = 2colorant

GRAM = GRAM + ou une GRAM-

la paroi des bactérie GRAM+ et GRAM- :

GRAM+	GRAM-
une couche de peptidoglycane épaisse presence acide teichoiques et des acides lipoteilchoiques espace périplasmique , la membrane plasmique	couche de peptidoglycane tres fine absence acide teichoiques et des acides lipoteilchoiques espace périplasmique , et une membrane plasmique

étape de la double coloration

1- etalement

2-séchage

(formation du frottis)

3- fixation (bacterie morte)

4- coloration : violer de gentiane → couleur violer

5- ajouter un mordant : (solution pour bien fixer la couleur)

6- décoloration par l'alcool : l'étape la plus importante

7-Rincer

8-coloratio :fushine → couleur rose

9- Rincer

10- séchage

11- obeservation

Conclusion (resultat d'une double coloration)

gram+ ==> coloration double = couleur violer

gram-====> coloration double = rose

explication

	gram+	gram-
note	paroi impermeanle : pas de penetration	paroi perméable présence de pores :penetration de l'acool
le violer de gentiane	violet	violet
alcool	Violet (cytoplasme occupé)	Transparent
Fushine	violet	Rose

le bute de la coloration double :

coloration différentielle permet de cataloguer les bactéries en deux groupes les GRAM+ et les GRAM-

CHAPITRE : ANTIBIOTIQUE

1- antibiogramme : c est la méthode analytique qui permet de définir la concentration minimale inhibitrice CMI

2-dose bactériostatique: c est une dose de l'antibiotique qui permet inhibition de la croissance de la bactérie sans la tuer pour ralentir la croissance

3- dose bactéricide: c est la dose d'antibiotique qui permet de tuer la bactérie

Determination la dose minime bacteriostatique :

1- méthode de diffusion : (milieu solide , liquide)

2- méthodes de dilution est si sa la plus importante (milieu solide et liquide)

1-méthode de dilution milieu liquide :

- 10 tube a essai (meme volume d'eau 100 ml pour chaque)
- je rajoute a tous les tube une suspension bacterien identique (10^5 b/ml tous les tube ont les mêmes éléments)
- je le laisse le premier tube (100ml deau+ 10^5 sespension bacterien) on lappel le témoin
- Jerajoute aux autres tubes une dose de l'antibiotique progressivement
 - 2 em tube=0.25
 - 3em tube=0.5
 - 4em tube = 1
 - 5em tube =2
 - 6em tube=4
 - 7em tube =8
 - 9em tube =16
- a chaque fois plus de dose de lantibiotique, (il y a des tube des faible et grande concentration

but : déterminer la CMI

(quelle sont les méthode pour déterminer la CMI ,l'abaque d un antibiotique (tp9 -p.115)

interpretation

- tube témoin devient trouble (croissance bacterienne)
- plus la dose de lantibiotique augmente plus le trouble est faible jusqu'aux tube 5
- tube 5 = 2 microgramme de lantibiotique → aucun trouble = dose bactériostatique
la CMI = 2 microgramme /ml

inconvenient de la méthode (dilution) :

elle est coûteuse consomme beaucoup de tube a essai

legender schema p 117

2-méthode de dilution milieu solide :

But : déterminer la CMI

On prend une série de boite de petri

verser une quantité de gèlose(chaude et liquide) identique pour chaque boite

rajoute quantité progressive d'antibiotique

sauf une boîte il rajoute pas (témoin)

ensemencer mes 4 type de bactérie en spots

b1= témoin

b2=0.5

b3=1

b4=2

le milieu utilisé : milieu de "Mueller-Hinton "

son épaisseur : 2- 4 mm

3-lègender shéma page 120 figure 4-1

- boîte1 = pas d'antibiotique (témoin) → croissance (milieu solide= formation de colonie)

-boîte 2 = 0.5 microgramme /ml antibiotique → croissance

-boîte 3 =1 microgramme/ml → disparition de la colonie 4 → CMI de la colonie 4 = 1 microgramme /ml

boîte4= 2 microgramme /ml → disparition de la colonie 2 et 4 → dose a CMI de la colonie 2 seulement vu que la CMI de la colonie 4 = 1 microgramme/ml

CMI de la colonie 2 = 2 microgramme /ml

vous dite la CMI de la bactérie 1 et 3 >2 microgramme /ml c tous

conclusion :

CMI de la bactérie 4= 1 micro.../ml

CMI de la bactérie 2= 2 micro.../ml

CMI de la bactérie 1 et 3 > 2 micro.../ml c tous

titre : détermination de la CMI par dilution sur milieu solide

inconvénient de cette méthode

consomme bcp de boîtes de pétri + coûteuse

CHAPITRE :croissance bactérienne

Coordonnées de la croissance :

densité d'une culture : quantité M (g) par unité de volume (ml)

concentration cellulaire

taux de croissance μ

temps de génération g

croissance totale :

facteur limitant :

rendement :

les 4 phases de croissance (se qui se passe sur chahcune)

phase de latence

phase expenentielle

phase maximale stationnaire

phase de declin

donner le shéma d une croissance bactérien dans un milieu de culture(102)

20- citer les technique direct est indirecte pour une museur d une croissance bactérien(p.103- p.105-107)