



**isaralyon**

*Une école d'ingénieurs au coeur de la vie*

# **Identification bactérienne sur ordinateur**

**Mener une démarche complète de façon autonome (la pratique)  
tout en révisant les concepts (la théorie)**

***Nanou BLACHIER - Alain  
GAY***

## Calendrier

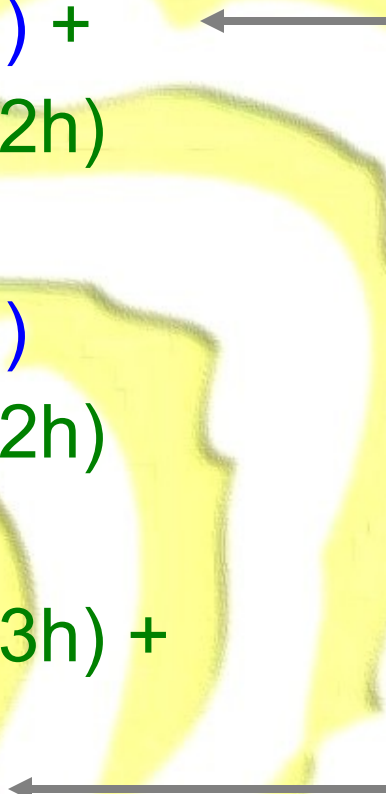
Octobre - Cours (6h) +  
2 TP (2 x 2h)

Février - Cours (4h)

Mars - 3 TP (2 x 2h)

Mai - 1 TP (2 x 3h) +  
Examen

5 mois =  
nécessité de  
révisions



# 6 TP micro-organismes

ensemencement

lecture

1	Caract. morphol. et culturaux	2h	2h		
2	Métabolisme énergétique	2h	2h		
3	Métabolisme glucidique	2h	2h		
4	Métabolisme protidique	2h	2h		
5	Métabolisme lipidique	2h	2h		
6	Identification de 2 espèces	3h	3h		   

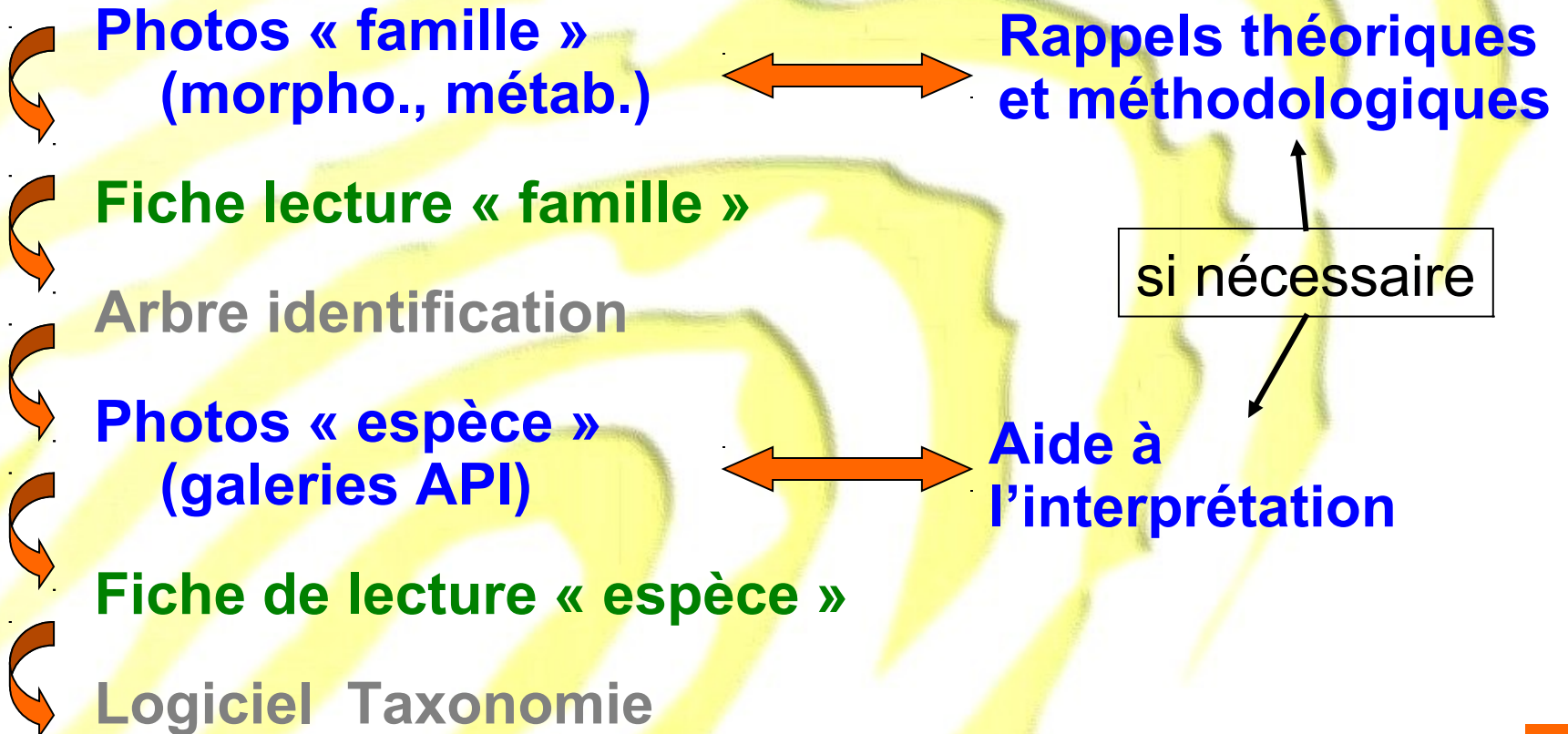
1. Identification de la famille ou du genre
  - Observations (morphologie, métabolismes)
  - Recherche dichotomique (arbre)  
→ confirmation de la galerie
2. Identification de l'espèce
  - Lecture de la galerie
  - Interprétation des résultats  
→ taxonomie
3. Rédaction d'un compte-rendu



<b>Avant</b>	<b>Après</b>
<b><u>6h de face à face</u></b> , dont <ul style="list-style-type: none"><li>- 3h ensemencement</li><li>- 3h lecture</li></ul>	<b><u>- 2h face à face</u></b> en salle info : présentation/G <b><u>- 4h travail autonome</u></b>
laboratoire microbio.	plateforme eCampus
cultures +/- hétérogènes	photos standardisées
révision « papier »	révision / lien hypertexte
manipulations	pas de manipulations

ressources sur eCampus : **PDF** **PowerPoint** **Site Web**

## Fiche de consignes



# Identification d'une bactérie

TP sur machine

## Consignes

### Généralités

L'identification porte sur 4 familles, nommées de F1 à F4

Pour chaque famille, il y a 2 espèces à identifier

### Procédure

1. imprimer la fiche d'identification des familles *Ident\_famille.pdf*
2. pour remplir cette fiche et identifier la famille, utiliser les présentations *FamilleF1.pps*, *FamilleF2.pps*, etc., et suivre les instructions pour l'utilisation du site internet indiqué
3. Lancer le test correspondant : *TestFamilleF1.htm*, *TestFamilleF2.htm*, etc. pour connaître le mot

## 8 - type métabolique



Gélose HL  
avant incubation



Après incubation  
24h 37°C

Indiquer le type  
métabolique et la  
mobilité

Rappel sur la mise  
en évidence  
des types  
métaboliques et de  
la mobilité



# Etude du type métabolique

- Définition :

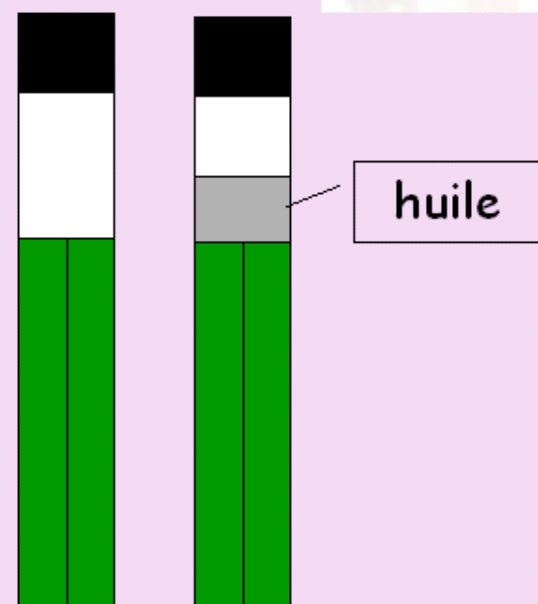
comportement des bactéries vis à vis du **glucose**

- Mise en évidence sur un milieu renfermant :

- du **glucose**
- un **indicateur de pH**
- un gradient d'**oxygène**
- aucun autre accepteur d'électrons : **absence** de nitrate, sulfate ou thiosulfate ...

# Mise en évidence du type métabolique sur Hugh et Leifson

- Milieux semi-solides :
  - 2 Milieux de Hugh et Leifson
  - semi-solide 2g/l + glucose 1%
  - bleu de bromothymol
- Création d'un gradient de rH
  - régénération du milieu
  - refroidissement : gélification
- Ensemencement de 2 milieux
  - par piqûre centrale au fil droit
  - couvrir 1 tube d'huile de paraffine



# Exemples de types métaboliques



1

**Inerte**



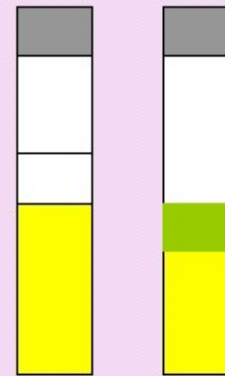
2

**Strictement  
oxydatif**



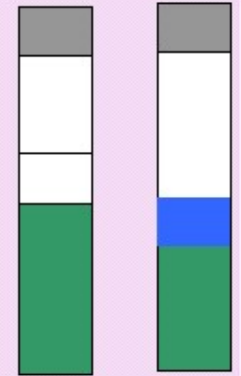
3

**Fermentaire  
mixte**



4

**Strictement  
fermentaire**



5

**Alcalinisant**

**Remarque: sur milieu MEVAG, le milieu vire du violet au jaune**

## Famille F\_\_\_\_\_

ETAPE	CRITERE	CHOIX	LECTURE
1	GRAM	+ / -	
2	Forme et arrangement	bacilles ou colibacilles / coques	
3	Culture sur milieu ordinaire	si développement : - type de trouble - voile ou dépôt	
4	Culture en aérobiose	si développement : type colonie S /R / M	
5	Oxydase	oui / non	
6	Catalase (oui / non)	oui / non	
7	Type respiratoire	AS / AAF / ANS / micro	
8	Type métabolique	SO / SF / OF / I	

### Identification

Famille	
Genre	





# Résultats de la galerie miniaturisée

## Famille 1 - Espèce 1



OX -  
NO<sub>2</sub> +  
N<sub>2</sub> -  
MOB +  
McC +  
OF/O +  
OF/F +

Aide en cas de  
doute :  
ex de résultats  
possibles

- Imprimez la fiche de lecture API 20 E
- traduisez les résultats de chaque caractère par + ou -
- remplissez le bulletin correspondant
- utilisez le logiciel taxonomie pour identifier l'espèce et imprimez le résultat donné par le logiciel

API 20 E

GLU  $\rightarrow$  ARA



+



+/-



-

# Galerie API 20 E

TEST	SUBSTRAT	REACTION ENZIME	RESULTAT		LECTURE
			NEGATIF	POSITIF	
ONPG	ortho-nitro-phenyl-galactoside	beta-galactosidase	incolore	jaune (1)	
<u>ADH</u>	arginine	arginine dihydrolase	jaune	rouge/ orangé (2)	
<u>LDC</u>	lysine	lysine décarboxylase	jaune	orangé	
<u>ODC</u>	ornithine	ornithine décarboxilase	jaune	rouge/ orangé (2)	
<u>CIT</u>	citrate de sodium	utilisation du citrate	vert pâle/ jaune	bleu vert/ vert (3)	
<u>H<sub>2</sub>S</u>	thiosulfate de sodium	production d'H <sub>2</sub> S	incolore/grisâtre	dépôt noir/ fin liseré	
<u>URE</u>	urée	uréase	jaune	rouge/orangé	
TDA	tryptophane	tryptophane desaminase	<u>TDA / immédiat</u> jaune                      marron foncé		
IND	tryptophane	production d'indole	<u>JAMES / immédiat ou IND / 2 mn</u> <b>JAMES</b> incolore vert pâle-jaune <b>IND</b>		<b>JAMES</b> rose  <b>IND</b>

## Identification

Famille	
Genre	
Espèce	



Choix des bases de données.

API 20 E 3.1 (Bacilles gram négatifs)

afficher les caracteres

lancer le calcul de probabilités

liste des caractères	valeurs des car.	Taxons dans l'ordre des probabilités	Valeurs des probabilités en pour 1000
ONPG	+	Escherichia coli 1	954
ADH	-	Citrobacter freundii	22
LDC	-	Leclercia adercarboxylata	17
ODC	-	Kluyvera spp	4
CIT	-	Citrobacter diversus ou	1
H2S	-	amalonaticus	1
URE	-	Enterobacter agglomerans 1	1
TDA	-	Escherichia coli 2	0
IND	+	Enterobacter agglomerans 5	
VP	-		
GEL	-		
GLU	+		
MAN	+		
INO	-		
SOR	+		
RHA	+		
SAC	+		
MEL	+		
AMY	-		
ARA	+		
OX	-		
NO2	+		
N2	-		
MOB	+		
McC	+		

CONCLUSION

excellente identification de Escherichia coli 1 /

- meilleure articulation entre pratique (démarche d'identification) et théorie (révision des concepts et de la méthodologie)
- tout le monde travaille sur des situations « typiques » conformes (mêmes supports visuels)
- réduction du face à face (66%) et augmentation de l'autonomie et de la responsabilisation des étudiants

## ***Limites :***

- Moindre maîtrise des techniques de manipulation (ensemencements, tests)
- Dépendance vis à vis du dispositif informatique (salle informatique, imprimante, plateforme, accès web)

## ***Perspectives d'évolution :***

- Constitution d'une base de données sur notre collection de souches
- Tests d'auto-évaluation complémentaires