**TP 1 : Initiation à la microbiologie**  
**1) Cultures en milieu liquide et solide   
Staphylococcus epidermis** 🡺 **Gram +** 🡺 **S**  
**Bacillus subtilis** 🡺 **Gram +** 🡺 **R**  
**Escherichia coli** 🡺 **Gram -** 🡺 **S**

**2) Facteurs de croissance  
Escherichia coli** 🡺 T° = 37°C : bactérie **mésophile** 🡺 pH = 8,6 : bactérie **neutrophile** 🡺 P.O. : bactérie **non-halophile** 🡺 **aérobie facultative  
Pseudomonas** 🡺 **aérobie nécessaire**  
**Clostridium** 🡺 **anaérobie nécessaire**

**TP 2 : Métabolismes énergétiques du carbone  
1) Mise en évidence du système respiratoire  
E. coli** 🡺 développement dans tout le tube = **aérobie facultative**  
**Pseudomonas** 🡺 développement en surface uniquement = **aérobie obligatoire**  
**Staphylococcus** 🡺 développement dans tout le tube = **anaérobie facultative**

**2) Recherche des enzymes respiratoires  
2.a) Recherche de l'oxydase : présence du cytochrome C  
E.** **coli** 🡺 après dépôt des colonies sur la plaque => incolore = **Oxydase -  
Pseudomonas** 🡺 après dépôt => violet = **Oxydase +  
Staphylococcus** 🡺 après dépôt => incolore = **Oxydase –**

**2.b) Recherche de la catalase  
E. coli** 🡺après dépôt d'H2O2 sur une colonie => bulles (effervescence) = **Catalase +  
Pseudomonas** 🡺 après dépôt d'H2O2 sur une colonie => bulles (effervescence) = **Catalase +  
Staphylococcus** 🡺 après dépôt d'H2O2 sur une colonie => bulles (effervescence) = **Catalase +**

**2.c) Recherche de la nitrate réductase  
E. coli** 🡺 après ajout réactif de Griess => orange (=Ø nitrites) => ajout zinc => Ø rose  
= **Nitrate réductase +**  
**Pseudomonas** 🡺 après ajout réactif de Griess => incolore => ajout zinc => Ø rose   
= **Nitrate réductase +  
Staphylococcus** 🡺 après ajout réactif de Griess => orange => ajout zinc => Ø rose   
= **Nitrate réductase +**

**3) Métabolisme du Carbone  
3.a) Test Fermentaire ou Oxydatif  
E. coli** 🡺 **Fermentaire** **Staphylococcus epidermis** 🡺 **Fermentaire** **Pseudomonas** 🡺 **Oxydatif**  
  
**3.b) Fermentation des différents sucres : Maltose et Lactose  
i) Maltose : eau peptonée au rouge de phénol (+ Fructose)  
E. coli** 🡺 maltose => bulles d'air + jaune = **Fermentation maltose**  
 fructose => bulles d'air + jaune = **Fermentation fructose**

**Proteus** **vulgaris** 🡺 maltose => jaune + bulles d'air = **Fermentation maltose**  
 fructose => jaune mais Ø bulles d'air = **Ø Fermentation fructose** (non-utilisation)

**ii) Lactose : milieu de Kligler – Recherche de l'enzyme (B-galactosidase)**pente = lactose / culot = glucose  
**E. coli** 🡺développement au culot seulement = **Glu + / L** - =>Test ONPG jaune = **B-Gal +**  
**Proteus** **vulgaris** 🡺 ni culot ni pente = **Glu - / L -** => Teste ONPG négatif = **B-Gal –**

**3.c) Fermentation mixte : mileu de Clark et Lubs  
i) Test au rouge de méthyle  
E.coli** 🡺 couleur mélange milieu CL + rouge de méthyle => rouge = **RM +  
Enterobacter** **aérogenes** 🡺 couleur mélange milieu CL + rouge de méthyle => jaune = **RM –**

**ii) Test de Vosges Proskauer : voie du butylène glycolique  
E. coli** 🡺 couleur mélange milieu CL + réactifs VP1 et VP2 => jaune **= VP -**  
**Enterobacter** **aérogenes** 🡺 couleur mélange milieu CL + réactifs VP1 et VP2 => blanc = **VP +**

**3.d) Utilisation source de carbone autre que glucide : milieu de Simmons  
E.coli** 🡺 Ø développement => tranche verte => Ø utilisation du citrate **= C -  
Salmonella** **arizonae** 🡺 développement que sur la tranche (bleue) => utilisation citrate **= C +**

**TP 3 : Métabolisme des protéines et des lipides  
1) Métabolisme des protéines  
1.a) Protéolyse  
i) Hydrolyse de la gélatine : film noir et blanc en BN  
Pseudomonas** 🡺 film de gélatine dégradé = **Gélatinase +  
Hafnia** **alvei** 🡺 film peu dégradé = **Gélatinase -  
  
ii) Hydrolyse de la caséine :  
lait écrémé au tournesol  
Pseudomonas** 🡺milieu jaune/blanc => Ø fermentation du lactose => **réductase -   
= protéolyse caséine  
Hafnia** **alvei** 🡺 milieu rose => fermentation du lactose => **réductase +   
= Ø protéolyse de la caséine**  
**lait gélosé  
Pseudomonas** 🡺 milieu vert = **protéolyse de la caséine**  
**Hafnia** **alvei** 🡺 milieu blanc opaque **= Ø protéolyse de la caséine**

**1.b) Dégradation des acides aminés  
i) Dégradation de la lysine :   
Milieu de Kligler  
Proteus vulgaris** 🡺coloration noire **= L.D.C -  
Hafnia alvei** 🡺 coloration jaune **= L.D.C +**

**Milieu lysine-fer  
Proteus vulgaris** 🡺 culot jaune = L.D.C - => tranche rouge = **L.D.A +  
Hafnia alvei** 🡺 culot violet = L.D.C + => culot violet = **L.D.A +**

**ii) Acides aminés soufrés  
Milieu de Kligler  
Proteus vulgaris** 🡺 culot noir = **H2S +** **Hafnia alvei** 🡺 culot jaune = **H2S –**

**Milieu lysine-fer  
Proteus vulgaris** 🡺 culot jaune **= H2S +  
Hafnia alvei** 🡺 culot violet = **H2S -**

**1.c) Dégradation du tryphophane et de l'urée  
i) Dégradation du tryphophane et de l'urée  
Milieu urée indole  
Proteus vulgaris** 🡺 milieu marron avec le perchlorure de fer = **TDA +  
Hafnia alvei** 🡺 milieu orange avec le perchlorure de fer = **TDA –**

**Eau peptonée  
Proteus vulgaris** 🡺 anneau rouge après addition réactif de Kovacks = **Tryptophanase +  
Hafnia alvei** 🡺 anneau jaune après addition réactif de Kovacks = **Tryptophanase -**  
**ii) Dégradation de l'urée  
Milieu urée indole  
Proteus vulgaris** 🡺 milieu urée indole rouge = **Uréase +  
Hafnia alvei** 🡺 milieu urée indole orange = **Uréase –**

**2) Métabolismes des lipides  
2.a) Mise en évidence de l'estérase  
Staphylococcus epidermis** 🡺 ligne rouge sur milieu de Sierra = **Estérase -  
Pseudomonas** 🡺 ligne blanche sur milieu de Sierra = **Estérase +  
Serratia** 🡺 ligne blanche sur milieu de Sierra = **Estérase +**

**2.b) Mise en évidence de la lipase  
Staphylococcus epidermis** 🡺 strie blanchâtre sur milieu à la tributyrine = **Lipase -  
Pseudomonas** 🡺 strie jaune = **Lipase +  
Serratia** 🡺 strie jaune = **Lipase +**

**2.c) Mise en évidence de la lécithinase  
Staphylococcus aureus** 🡺 colonies noires sur milieu de Baird Parker = **Lipoprotéinase + = Lécithinase+  
Staphylococcus epidermis** 🡺 colonies noires sur milieu de Baird Parker = **Lipoprotéinase - = Lécithinase-**

**TP 4: Synthèse de plusieurs tests par la galerie  
1.b) Test de confirmation de l'identification de Staphylococcus aureus  
i) Coagulase libre  
Staphylococcus aureus** 🡺 coagulation du plasma du lapin = **Coagulase +  
Staphylococcus epidermis** 🡺 Ø = **Coagulase –**

**ii) Coagulase liée ( clumping factor)  
Staphylococcus aureus** 🡺 mélange suspensions latex + bactérienne blanchâtre = **Protéine A  
Staphylococcus epidermis** 🡺 mélange suspensions latex + bactérienne blanchâtre = **Récepteur du fibrinogène**

**iii) ADNase  
Staphylococcus aureus** 🡺 gélose à l'ADN rose après addition de bleu de toluidine = **ADNase +  
Staphylococcus epidermis** 🡺 gélose à l'ADN bleue après addition de bleu de toluidine = **ADNase –**

**1.c) Test d'un antibiogramme  
P (Pénicilline)** 🡺 zone d'inhibition présente => Ø = 40mm = **zone d'inhibition sensible (S)  
N (Néomycine)** 🡺 zone d'inhibition présente => Ø = 20mm = **zone d'inhibition sensible (S)  
T (Tétracycline)**🡺 zone d'inhibition présente => Ø = 31mm = **zone d'inhibition sensible (S)  
S (Streptomycine)**🡺 zone d'inhibition présente => Ø = 22mm = **zone d'inhibition sensible (S)**  
**E (Erythromycine)**🡺 zone d'inhibition présente => Ø = 28mm = **zone d'inhibition sensible (S)  
C (Chloramphénicol)**🡺 zone d'inhibition présente => Ø = 29mm = **zone d'inhibition sensible (S)**