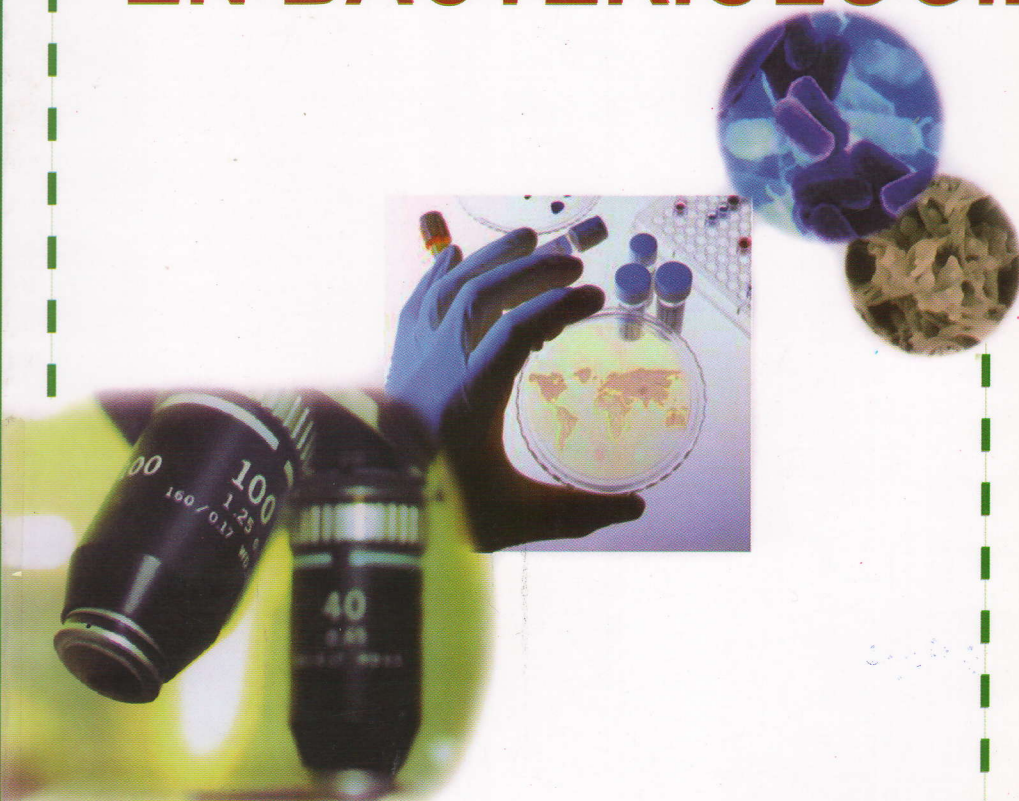


SENOUCI BEREKSI MOHAMED

ABDELOUAHID DJAMEL EDDINE

# METHODES ET TECHNIQUES EN BACTERIOLOGIE



OFFICE DES PUBLICATIONS UNIVERSITAIRES

## Table Des Matières

Préface.....	3
Table des matières.....	5
<b>1- REGLES DU TRAVAIL EN BACTERIOLOGIE .....</b>	<b>9</b>
I- <i>Organisation du poste de travail</i> .....	9
II- <i>Principaux aspects de la pratique bactériologique</i> .....	10
1- Quelques précautions à tenir .....	10
2- Organisation générale du travail .....	10
<b>2- ETAPES D'UNE ANALYSE EN BACTERIOLOGIE .....</b>	<b>13</b>
<i>Méthode d'application générale</i> .....	13
1- Examen macroscopique .....	13
2- Examen microscopique .....	14
3- Isolement.....	14
4- Identification .....	15
<b>3- REACTIFS UTILISES DANS L'EXAMEN MICROSCOPIQUE .....</b>	<b>17</b>
I- <i>Les colorations</i> .....	17
II- <i>Principaux colorants</i> .....	17
III- <i>Principaux mordants</i> .....	18
IV- <i>Principaux différenciateurs</i> .....	19
<b>4- L'EXAMEN MICROSCOPIQUE .....</b>	<b>21</b>
I- <i>L'examen à l'état frais</i> .....	21
1- But.....	21
2- Technique.....	21
II- <i>Colorations</i> .....	24
1- Préparation des frottis .....	24
2- Colorations usuelles .....	26
3- Conservation des préparations colorées .....	28
<b>5- TECHNIQUES DE CULTURE DES BACTERIES.....</b>	<b>29</b>
I- <i>Préparation des milieux de culture</i> .....	29
1- Préparation des milieux coulés en boîte de pétri.....	29



2- Préparation de milieux additionnés de substances altérées par la chaleur .....	30
3- Milieux semi- solides .....	31
4- Milieux pour culture en anaérobiose .....	31
II- <i>Techniques d'ensemencements</i> .....	31
1- Prélèvement stérile .....	31
2- Principaux procédés d'ensemencement .....	33
III- <i>Incubation</i> .....	36
IV- <i>Lecture</i> .....	37
6- TECHNIQUES D'ISOLEMENT .....	39
I- <i>But</i> .....	39
II- <i>Critères de choix de la méthode utilisée</i> .....	39
III- <i>Techniques générales d'isolement</i> .....	40
1- Méthodes par dilution .....	40
2- Méthode par dissémination sur milieu solide .....	40
7- L'IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE DES BACTERIES AEROBIES .....	45
I- <i>Identification préliminaire</i> .....	45
1- Etude morphologique .....	45
2- Aspects sur les milieux d'isolement .....	46
3- Etude de la respiration bactérienne .....	47
II- <i>Identification proprement dite</i> .....	48
III- <i>Identification bactérienne par microméthodes</i> .....	49
1- Intérêt .....	49
2- Principaux types de microméthodes standardisées .....	49
3- Limites d'utilisation .....	50
8- METHODES DE NUMERATION DES BACTERIES .....	51
I- <i>Intérêt</i> .....	51
II- <i>Méthodes principales de numération bactérienne</i> .....	51
1- Numération des bactéries tuées .....	52
2- Numération des bactéries vivantes .....	54
9- ETUDE DE LA SENSIBILITE DES BACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES .....	61

I- Généralités.....	61
II- Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries aérobies....	65
1- Action bactériostatique .....	65
2- Action bactéricide .....	75
III- Méthode d'étude des associations d'antibiotiques.....	76
1- Etude de l'effet bactériostatique des associations d'antibiotiques.....	77
2- Etude de l'effet bactéricide des associations d'antibiotiques .....	79
IV- Méthodes modernes d'antibiogramme.....	86
1- Antibiogramme par la méthode en deux concentrations critiques (système ATB) .....	86
2- Automatisation de l'antibiogramme.....	88
V- Etude de la résistance des bactéries aux antibiotiques .....	89
1- Résistance par production d'enzyme : $\beta$ -lactamases.....	89
2- Mise en évidence des staphylocoques résistants hétérogènes à la méticilline .....	92
10- CONSERVATION DES SOUCHES BACTERIENNES .....	93
Techniques de conservation des souches bactériennes .....	93
Références Bibliographiques.....	95
Annexes.....	97

## I- ORGANISATION DU POSTE DE TRAVAIL

La place de travail doit :

- mesurer au minimum 60 cm de profondeur sur 1 mètre de largeur ;
- être recouverte d'un matériau de couleur blanche, lisse, incombustible, résistant aux antiseptiques, aux acides aux bases et aux colorants ;
- être éclairée de façon à éviter les ombres portées.

Deux postes de travail doivent être installés de façon distincte : l'un, destiné aux préparations microscopiques, l'autre, destiné aux manipulations stériles.

*Mr SENOUCI BEREKSI Mohamed, Maître Assistant chargé de cours, est titulaire d'un Magister en Biologie, spécialiste en Microbiologie ; Il enseigne à la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, à l'université Abou Beker Belkaïd de Tlemcen.*

*Pr ABDELOUAHID Djamel Eddine, Professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, à l'université Abou Beker Belkaïd de Tlemcen; spécialiste en Microbiologie-Biotechnologie.*

**Cet ouvrage s'adresse aux enseignants et aux étudiants des universités, aux élèves des écoles préparatoires en sciences biologiques, ainsi qu'aux ingénieurs et aux techniciens des laboratoires médicaux et agro-alimentaires.**

**Son objectif essentiel est d'apporter les connaissances de base indispensables à la maîtrise des techniques utilisées au sein du laboratoire de bactériologie.**

**Il traite les principaux aspects de la pratique et de l'analyse bactériologiques, les différents modes d'examen microscopiques, et les techniques de culture et d'isolement des bactéries.**

**Il est consacré également à l'identification biochimique et la numérotation des bactéries, et aux techniques d'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.**

Edition : n° 5168

Prix

490,00

[www.opu-dz.com](http://www.opu-dz.com)



9 789961 014097