

TP5 : Les techniques d'ensemencement

TP6 : Description des colonies

Les techniques d'ensemencement diffèrent selon le type de milieu de culture à ensemer et selon la nature des microorganismes que l'on souhaite mettre en évidence.

1- Ensemencement de milieux de culture liquides:

Les milieux de culture liquide peuvent être versés dans des tubes à essai, des erlen ou encore des flacons stériles, dans tous les cas l'ensemencement de ces derniers se fait par simple dépôt microbien, à partir d'une culture liquide ou solide, à l'aide d'une anse de platine, d'une pipette Pasteur ou même d'une pipette en verre.

2- Ensemencement de milieux de culture solides:

2-1- En tubes:

2-1-1- Gélose plate:

Le milieu est ensemercé par une piqûre centrale le long de la gélose, à l'aide d'une anse de platine à fil droit ou d'une pipette Pasteur.

2-1-2- Gélose inclinée:

Dans ce cas il faut ensemercer 2 endroits de la gélose :

- le culot est ensemercé par une piqûre centrale.
- La pente est ensemercée par stries (des mouvements de zigzag) de bas en haut à l'aide d'une pipette Pasteur ou **une anse de platine à boucle**.

2-2- En boîtes de Pétri:

2-2-1- Ensemencement en surface:

Ce type d'ensemencement peut se faire selon 2 techniques suivant l'analyse effectuée :

- a- **Par stries:** en faisant des stries sur toute la largeur de la boîte, à l'aide d'une anse de platine à boucle ou d'une pipette Pasteur.

b- Par inondation: l'ensemencement se fait par des volumes allant de 1 à 5ml de la suspension microbienne grâce à une pipette en verre graduée et stérile.

2-2-2- Ensemencement en profondeur:

Là aussi 2 procédures peuvent être suivies :

- a- Ensemencement dans la masse:** généralement 1ml de la suspension microbienne est déposé, par une pipette en verre stérile, dans la boîte de Pétri vide, ensuite environ 15ml du milieu de culture adéquat, en surfusion (45°C) sont versés par-dessus, mélanger délicatement en dessinant un huit.
- b- Ensemencement en double couche:** on réalise un ensemencement dans la masse, on mélange, on laisse le milieu refroidir et donc se solidifier et on verse une nouvelle fois une deuxième couche de la gélose en surfusion.

Remarque:

- Tout ensemencement est suivi d'une incubation dont le degré de température et la durée dépendent du microorganisme que l'on veut isoler.
- La croissance microbienne apparaît sous forme de :
 - Trouble dans le cas d'un milieu liquide.
 - Colonies sur une gélose.

TP6 : Description macroscopique et microscopique des colonies obtenues

Différents paramètres doivent être pris en considération lors d'une description de colonies microbienne :

- Taille :
 - Si le diamètre de la colonie (d) < 1mm : petite
 - Si $1 < d < 3$ mm : moyenne
 - Si $d > 3$ mm : grande
- Forme :
 - vue de profil : bombée ou plate
 - Vue de dessus : ronde ou ovoïde
 - Bord régulier ou irrégulier (dentelé ou en étoile)
- Surface : lisse, rugueuse, brillante
- Opacité : opaque ou translucide
- Consistance : crémeuse, sèche ou muqueuse
- Couleur et pigmentation

Observer des bactéries, des levures, des moisissures et des actinobactéries sous microscope, après coloration simple au bleu de méthylène.