**TP N°3**

**EXAMEN A L'ÉTAT FRAIS**

**1. BUT:** observer les bactéries **vivantes**. Ceci permet de:

* Mettre en évidence leur**mobilité**.
* Mettre en évidence leur mode de groupement.
* Faire une approche de leur morphologie.

**2. TECHNIQUE**
**2.1. A partir d'une culture**
L'examen à l'état frais se pratique sur les **cultures en milieu liquide** (en milieu solide, la mobilité s'exprime mal et de façon aléatoire).

|  |  |
| --- | --- |
| * **Homogénéiser** la culture liquide à prélever.
 | Examen microscopique à l'état frais :  Homogénéiser la culture liquide à prélever |
| * Prélèvement: prélever une goutte de culture liquide (à la pipette Pasteur ou à l'anse de platine) et la déposer sur une lame propre. **Attention!** Une goutte trop grosse risque de déborder à l'étape suivante.
 | Examen microscopique à l'état frais : prélèvement |
| * Pose de la lamelle, en partant d'une position inclinée 45°.
* **Attention!** Le liquide ne doit pas déborder.
 | Examen microscopique à l'état frais :  pose de la lamelle |

**2.2. A partir d'un produit pathologique**

La préparation se fera, soit directement à partir du produit, soit à partir d'une dilution (si produit solide ou très visqueux), soit après concentration par centrifugation.

L'examen à l'état frais des produits pathologiques ne doit pas être systématique; dans certains cas, il est indispensable.

**3. OBSERVATIONS**

**3.1. Conditions d'observation**

* à l'objectif x40,
* diaphragme quasiment fermé pour augmenter le contraste,
* forte intensité lumineuse**.**

Attendre éventuellement quelques dizaines de secondes la disparition des mouvements liquidiens.
**Ne pas prolonger le temps d'observation au-delà de quelques minutes.**

**3.2. Observations**

* Observation de la **mobilité**: une bactérie est dite **mobile** si elle se déplace dans le champ du microscope avec un **mouvement qui lui est propre**, les autres bactéries restant immobiles ou se déplaçant dans une autre direction.

***Causes d'erreur:***

* + Mobilité faussement positive:
		- mouvements browniens
		- mouvements liquidiens
		- mouvements pendulaires
	+ Mobilité faussement négative:
		- Etat frais à partir d'une culture en milieu solide
		- température de culture ne permettant pas la mobilité
		- prélèvement de la culture avec un instrument trop chaud
		- observation trop tardive
* Observation du **mode de groupement:** par 2, en chaîne, en amas...
* Approche de la **morphologie**: formes rondes (coques), formes allongées (bacilles)...

**3.3. Elimination de la préparation**
La préparation doit être immergée dans le pot "lames souillées" contenant de l'eau de Javel dès la fin des observations