Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen
Institut des Sciences et Techniques Appliquées –ISTA
Année universitaire 2024/2025
Dr. CHERIF-ANNTAR Asmaa
Première année Licence TIAA

Travaux Pratiques 1 : Règles à suivre durant les travaux pratiques de microbiologie

1-Définitions :

1-1-Microbiologie : du grec *Mikros=petit /Bios=vie/ logia=théorie, science*. La microbiologie est l'étude des organismes trop petits pour être vus à l'œil nu, les micro-organismes. Leur taille est généralement inférieure à un millimètre : ils doivent être observés au microscope (photonique ou électronique) et cultivés dans des milieux permettant leur croissance et leur isolement. La microbiologie est divisée en plusieurs branches, en fonction du type de « microbe » étudié.

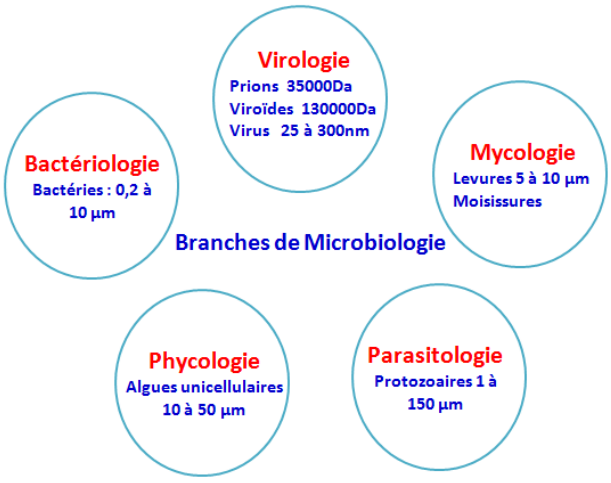


Figure 1 : Les différentes branches de microbiologie

1-2-Microorganismes : du grec *Mikros=petit /organismos=organisme*. Ils constituent un groupe extrêmement diversifié d'organismes microscopiques, unicellulaires regroupant les virus, les bactéries, les mycètes, les protozoaires et certaines algues. Ils se distinguent les uns des autres par leur forme, leur taille et leur mode de vie.

1-3-Bactéries : c'est un organisme microscopique généralement formé d'une seule cellule. Celle-ci se distingue des cellules de la majorité des autres organismes tant unicellulaires que pluricellulaires par son organisation simplifiée : les cellules bactériennes sont de type procaryote tandis que celles des autres organismes sont de type eucaryote.

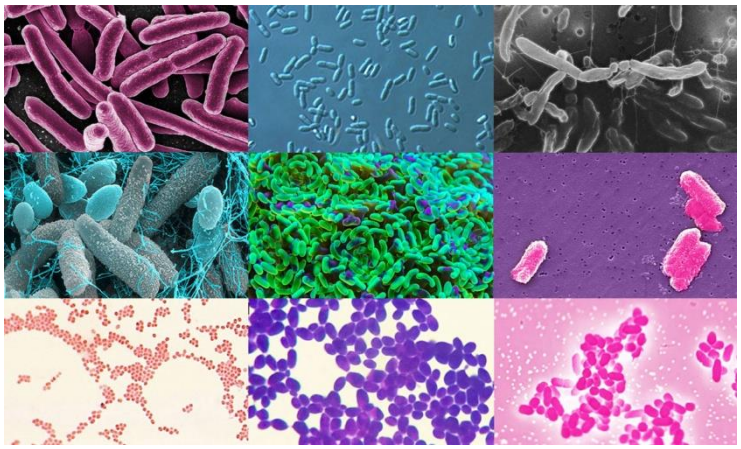


Figure 2 : Différents types de bactéries

1-4-Virus : Ils sont incapables de se reproduire sans détourner la machinerie cellulaire d'un autre organisme donc appelés parasites obligatoires. Les virus ne sont pas considérés par tous les spécialistes comme vivants mais simplement un matériel biologique entouré d'un manteau protéique. La microbiologie étudie parfois leurs actions sur les micro-organismes mais n'a pas pour but de les étudier en tant qu'entités. Cette étude est réalisée dans une autre discipline de la biologie : la virologie.

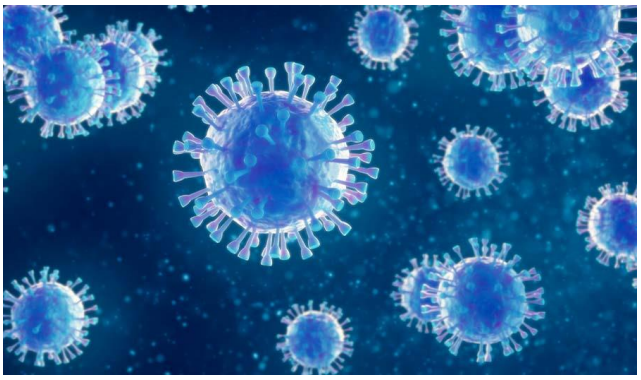


Figure 3 : Virus de la grippe

1-5-Champignons microscopiques : Ce sont des cellules eucaryotes qui peuvent être unicellulaire : les levures ou pluricellulaire : les moisissures.

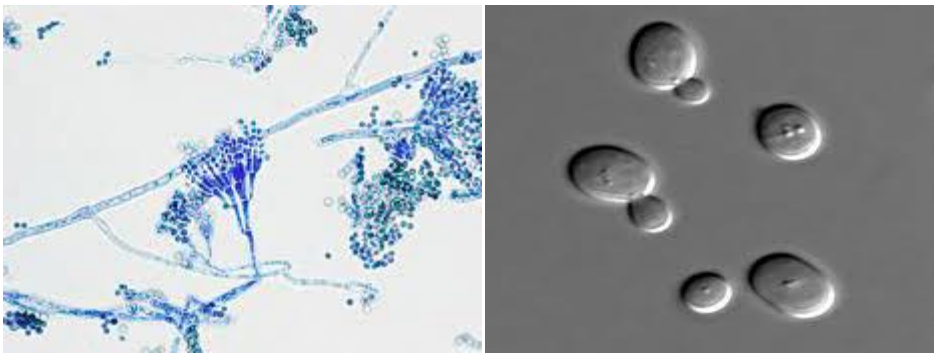


Figure 4 : Moisissure (à gauche) et levure (à droite)

1-6-Protozoaires : Ce sont des organismes eucaryotes unicellulaires les plus gros des micro-organismes. Comme l'amibe dysentérique, qui peut contaminer l'eau, responsable de diarrhées chez l'homme.

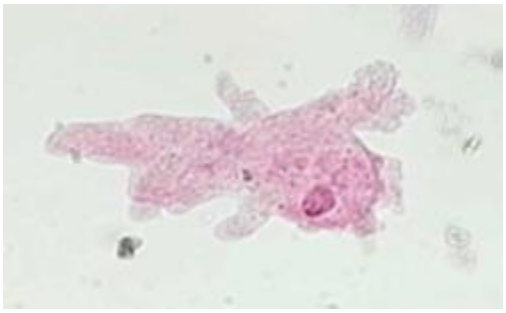


Figure 5 : Moisissure (à gauche) et levure (à droite)

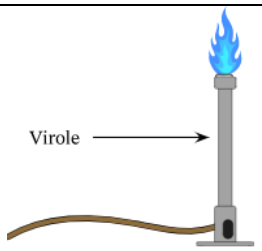
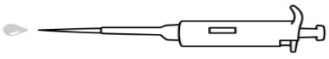
2-Présentation d'un poste de travail :

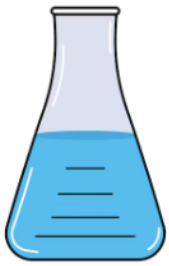
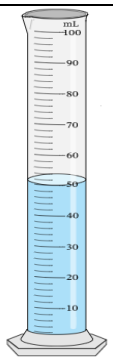
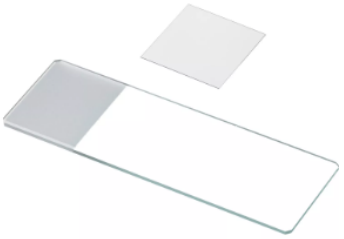
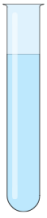
Le poste est à installer avant le début des manipulations, en prenant en compte le travail à faire. Il est indispensable de limiter les déplacements, donc d'anticiper les besoins.

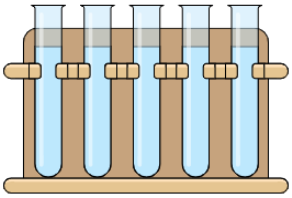
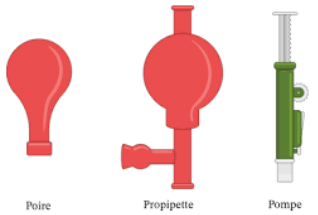
2-1-La paillasse : Son revêtement en carreaux de faïences, marbre ou verre lui confère une bonne résistance au feu. Elle est facilement nettoyable par des agents désinfectants tels que l'eau de javel, l'alcool.

2-2-Matériels léger: Microscope optique, bec bunsen, instruments d'ensemencement (pipettes Pasteur, pipette graduée, Anse à ensemencer appelée aussi manche Pasteur ou l'anse de platine ou öese), la verrerie (béchers, erlenmeyers, éprouvette, lame, boite de Pétri et tube à essai ou à vice, verre à montre) et autres matériels (portoir, pissette, pince, spatule...).

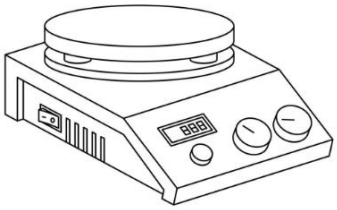
2-3-Produits : Eau, solvants, acides et bases, colorants divers, milieux de culture, culture microbienne, échantillons et prélèvements à analyser.

Instruments	Rôles	Photos
Bec bunsen	fonctionne avec une flamme bleue pour donner une haute température adéquate à la stérilisation des instruments. La zone de stérilité est sphérique (un diamètre de 15 à 20 cm. Toutes les manipulations doivent être à l'intérieur de cette sphère stérile.	
Instruments d'ensemencement	**Anse à ensemencer ou anse de platine ou öese :** est composée d'un fil de platine terminé par une boucle fermée et monté sur un manche destiné à prélever, repiquer et ensemencer les cultures microbiennes. Sa stérilisation est effectuée dans la flamme bleue du bec bunsen avant et après chaque emploi.	
	Pipettes Pasteur : est un tubes fin en verre pour effectuer les prélèvements, les ensemencements et les repiquages des microorganismes en milieu liquide ou solide. Il faut stériliser les pipettes Pasteur avant et après chaque transport de germes.	
	Pipette graduée : comme son nom l'indique, la pipette graduée dispose de graduations permettant de mesurer le volume prélevé.	
	Râteau ou étaloir en verre : pour étaler une suspension microbienne sur un milieu de culture solide.	
	Micropipette : La micropipette est un type d'équipement de laboratoire standard, elle utilisée pour mesurer et transférer avec précision de petites quantités de liquide généralement en microlitres.	
	Ecouvillon : L'écouvillon est composé d'un bâtonnet et d'un embout en coton. Il est Principalement utilisé dans l'échantillonnage et des ensemencements.	

Verrerie	**Bécher :** sont couramment utilisés comme récipients de stockage temporaire lors d'une expérience ou comme récipients pour préparer les milieux de culture. Les béchers ont des graduations de volume sur le côté, mais ces graduations ne sont pas exactes.	
	Erlenmeyer : est un récipient couramment utilisé pour effectuer des réactions. Comme les béchers, ils ont des graduations de volume sur le côté, mais ces graduations ne sont pas exactes. À la différence des béchers, les erlenmeyers sont en forme conique qui permet l'agitation au cours des réactions, car le col étroit aide à réduire les éclaboussures.	
	Eprouvette : sont des pièces de verrerie étroites et cylindriques avec des graduations pour indiquer le volume de liquide mesuré.	
	Lame et lamelle : C'est une petite plaque de verre utilisée pour poser et maintenir un échantillon préparé pour une observation au microscope. L'échantillon est souvent protégé et maintenu davantage au moyen d'une lamelle (ou lamelle couvre-objet) placé sur lui afin d'emprisonner les échantillons liquides, ainsi que d'éviter un contact avec l'échantillon lors de la manipulation de la lame ou de l'ajustement du microscope.	
	boite de Pétri : C'est une boîte cylindrique de 90 ou 60 mm de diamètre transparente, en verre ou en plastique, munie d'un couvercle. Elle est permet le développement microbien sur le milieu de culture.	
	tube à essai ou à vice : est composé d'un tube cylindrique étroit en verre fermé par bouchon métallique. Le tube à essai est surtout utilisé en chimie et en microbiologie.	

	Verre de montre : Les verres de montre sont utilisés pour peser des milieux de culture en poudre ou des échantillons à analyser sur une balance.	
	Entonnoir : est utilisé pour transférer des substances d'un récipient à un autre pour éviter les déversements.	
Portoir	Les portoirs sont utilisés pour stocker de nombreux tubes à essai et faciliter leur utilisation pendant les manipulations.	
Pissette	C'est un récipient de laboratoire, de forme cylindrique (souvent en matière plastique souple), munie d'un tube plongeant et d'un tube verseur recourbé. Elle est prévue pour contenir des solvants divers (éthanol, eau distillée, etc.). Elle est habituellement utilisée pour le rinçage de la vaisselle de laboratoire.	
Pince	Une pince de laboratoire est un équipement essentiel et qui être utilisée pour tenir des lames lors des colorations et préparation de frottis et tenir des embouts stériles lors des réactions.	
Spatule	C'est un outil permettant de prélever une quantité de matière, par exemple de la poudre, d'un produit chimique ou un milieu de culture et une quantité d'échantillon à analyser.	
Poires	Une aspiration peut être appliquée au sommet de la pipette à l'aide d'une poire, d'une propipette ou d'une pompe afin d'éviter le pipetage à la bouche.	

3-Présentation du gros matériel :

Appareils	Rôles	Photos
Microscope optique	Microscope optique ou microscope photonique est un instrument d'optique muni d'un objectif et d'un oculaire qui permet de grossir l'image des microorganismes qui sont invisibles à l'œil nu et les rendre visibles.	
Plaque chauffante	Les plaques chauffantes simples ont un bouton tournant qui permet d'augmenter la chaleur produite. Certaines plaques chauffantes ont un deuxième bouton tournant, pour contrôler la vitesse de rotation d'un barreau aimanté afin d'agiter le mélange de manière constante.	
Balance	Elles sont destinées aux usages de routine. Elles sont fiables, d'utilisation simple, utilisées pour la pesée des produits et échantillons.	
Autoclave	C'est une grosse cocotte-minute étanche dans laquelle un fond d'eau est porté à ébullition puis soumis à une température de 121° C. Cette dernière maintenue pendant 20 mn permet une stérilisation parfaite de la verrerie et des milieux de culture. Cette température supérieure à 100°C permet de détruire certaines spores qui résistent à des températures supérieures.	
Le four à air chaud	Appelé aussi « Four pasteur », il permet de stériliser entre autre le matériel que l'on maintient en général à 180° C pendant 90 minutes.	

Étuves ou incubateurs	Ce sont des caissons dans lesquelles il est possible de régler finement la température pour mettre à incuber, les cultures microbiennes à des températures bien précises.	
Bain-marie	Il permet de maintenir en surfusion les milieux solides ainsi l'incubation de certains microorganismes.	
pH-mètre	C'est un appareil utilisé pour mesurer l'acidité ou l'alcalinité des milieux de culture.	

4-Les consignes de sécurité et d'hygiène :

- ✓ Porter une blouse en coton et boutonnée avec des manches longues pur protéger les bras du manipulateur et ininflammable pour éviter les accidents avec les acides et les bases.
- ✓ Procéder à un lavage minutieux des mains avant et après les manipulations, et avant toute sortie même momentanée de la salle de TP. Avant et après avoir travaillé, il est indispensable de se laver les mains afin de se protéger et de protéger son travail.
- ✓ Attacher les cheveux pour éviter le danger avec le bec bunsen, enlever les bijoux car ils sont sensibles au produits chimiques et peuvent être un vecteur de contamination.
- ✓ Éviter les ouvertures des fenêtres et la porte pendant les manipulations car les courent d'air apportent des micro-organismes.
- ✓ Ouvrir avec précaution les récipients contenant des cultures microbiennes, afin d'éviter toute projection.
- ✓ Flamber, avant et après manipulations, les anses métalliques utilisées pour les prélèvements, en commençant par chauffer la partie moyenne de l'instrument afin

de dessécher les restes de culture avant de porter l'extrémité dans la flamme, ceci pour éviter toute projection.

- ✓ Prévenir l'enseignant en cas de bris d'un récipient contenant une culture en cas de contamination accidentelle d'un manipulateur ou tout incident dispersant le matériel microbien.
- ✓ Utiliser une poire d'aspiration car le pipetage à la bouche est interdit afin d'éviter l'absorption de microorganismes ou produits toxiques.
- ✓ Interdiction formelle de boire, manger et fumer pendant les TP
- ✓ Stériliser tout le matériel septique à la fin de la manipulation
- ✓ Prendre toutes dispositions indispensables pour la mise à l'abri des souches microbiennes ainsi que leur destruction afin d'éviter toute contamination.