

FSNVST

Département de Biologie

Module : Microbiologie appliquée et environnementale

Cycle : Master 2 Microbiologie appliquée

Chargée de module : Pr. GUETARNI H.

### **TP3 : Etude microbiologique des biofilms : Robinet et Eau potable**

#### **1. But :**

Le présent tp a pour objectif d'isoler les bactéries des biofilms de la surface intérieure du robinet et de son eau potable courante.

#### **2. Principe :**

Les matériaux sont tous potentiellement générateurs d'un développement bactérien du fait de leur composition mais aussi de l'âge et de l'état de la surface. Les biofilms sont connus pour être responsables de contaminations bactériennes de l'eau circulante par libération des bactéries adhérentes sur les surfaces au contact de cette eau dans les réseaux de distribution. Parmi les micro-organismes décrochés, *Pseudomonas aeruginosa* peut porter atteinte à la santé des utilisateurs de l'eau.

#### **3. Mode opératoire :**

-Remplir un flacon en verre stérile par 100 ml d'eau après flambage externe du robinet d'eau du laboratoire.

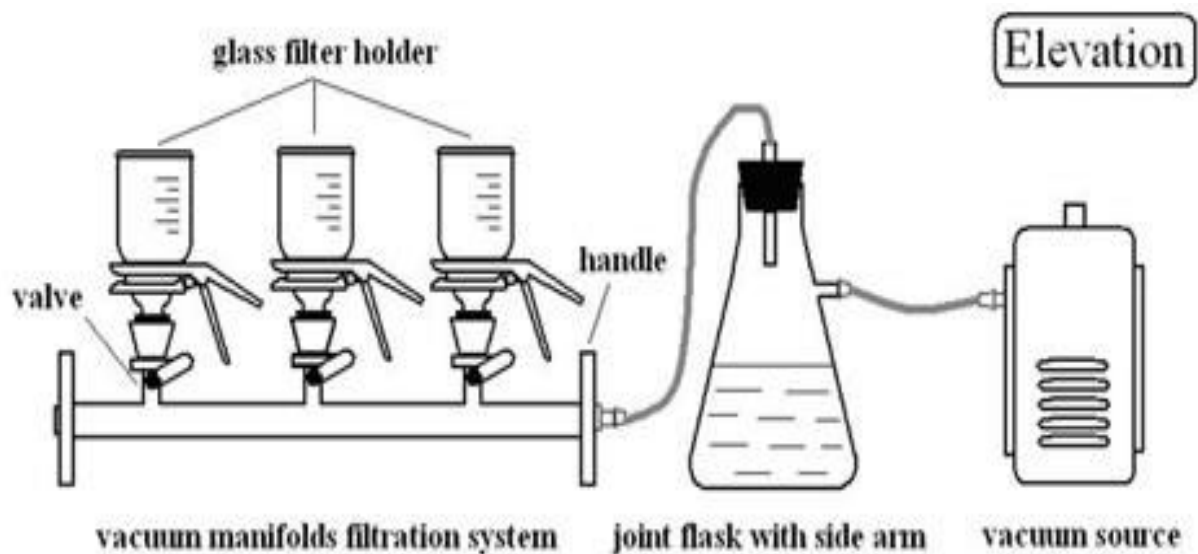
-Filtrer cette quantité d'eau dans la Rampe de filtration d'eau après stérilisation du porte-filtre à l'aide du bec bunsen.

-Déposer à l'aide d'une pince stérile les membranes après filtration d'eau sur la surface du gélose à la Cetrimide ( milieu spécifique pour l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa*).

-Préparer des dilutions décimales à partir de l'écouvillon-frottis de la surface intérieure de ce robinet (jusqu'à  $10^{-5}$ )( revoir le protocole précédent sur la préparation des dilutions décimales).

- Ensemencer par stries les boîtes de Pétri usuelles contenant le milieu à la Cetrimide (les trois dernières dilutions).

- Incuber toutes les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24h jusqu'à 48h.
- Compter les colonies obtenues après incubation et déterminer le nombre des cellules dans Un mm<sup>3</sup> ( pour le cas de l'eau courante) et dans Un cm<sup>2</sup> (pour le cas des biofilms de la surface intérieure du robinet).
- Identifier microscopiquement les cellules bactériennes colorées au Gram.
- Déterminer la présence de ces deux enzymes chez les cellules bactériennes : Catalase et Oxydase.



#### Schéma représentant le système de filtration sous vide

(<https://geneq.com/environnement/fr/produit/geneq/systeme-de-filtration-sous-vide-pour-determination-mes-14160>).

#### 4. Travail à faire :

Rédiger un compte-rendu sur ce tp.