

Mise au point d'un échantillon d'eau venu de l'espace de prototypage de la cuve de la découpeuse laser (Omax) sur un milieu LB

Informations :

- Alan Kernanec
- alan.kernanec@sorbonne-universite.fr
 - FabManagers espace Biologie/Chimie
- 27/05/24

Contexte :

Nous voulons voir si l'échantillon d'eau qui provient de l'espace prototypage contient des bactéries ou des colonies spécifiques.

Objectifs :

Nous avons fait des tests sur un milieu gélosé LB qui est composé d'agar-agar, de LB et d'eau distillée.

Consommables :

- Agar-Agar
- LB
- Eau distillée
- Cristal violet
- Lugol
- Ethanol
- Fuchsine
- Javel

Matériel et Machines utilisés :

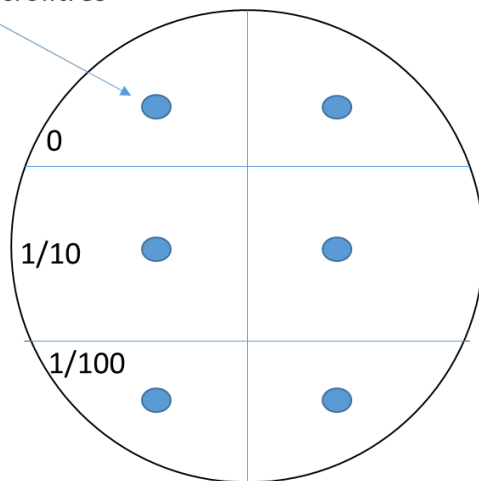
- Tube à essai
- Ense de platine
- P1000
- Pipette pasteur en verre
- Bécher
- Bec bunsen
- Agitateur magnétique
- Boîte de pétri
- Lame de microscope
- Pince
- Bac en verre

- Microscope
- Portoir
- Poubelle DASRI
- Balance de précision

Protocole :

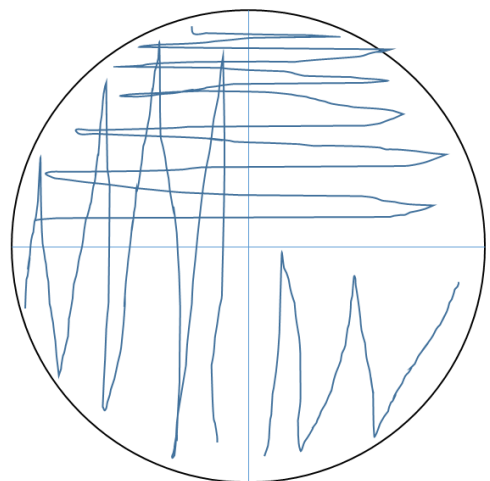
- 1- Préparation du milieu LB de volume 200mL dans une bouteille en verre.
- 2- Mettre la bouteille dans l'autoclave. Pour la préparation de l'autoclave mettre un fond d'eau distillée au fond. Puis lancer le programme 20min à 121°C.
- 3- Allumer la PSM et procéder au nettoyage de la surface. Par la suite annoter les boîtes de pétri (2 boîtes séparées en 6 parties et 2 boîtes enensemencement en strie standard). Penser à mettre la date et la nature du milieu et rajouter T pour témoins et E pour échantillon.
- 4- Par la suite, procéder au coulage des boîtes sous PSM et attendre qu'elles se solidifient.
- 5- Puis procéder à l'ensemencement des boîtes comme indiqué ci-dessous :

Volume de 30 microlitres Témoin Echantillon



x 2

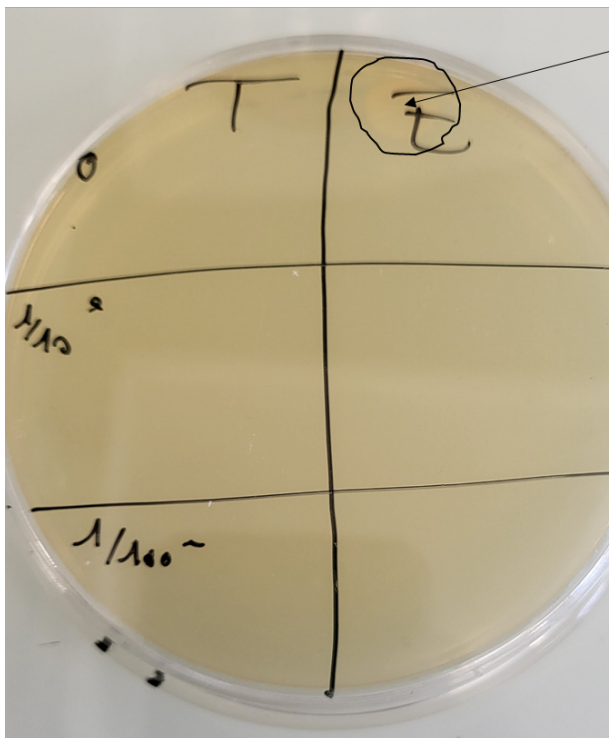
1 Témoin et 1 échantillon



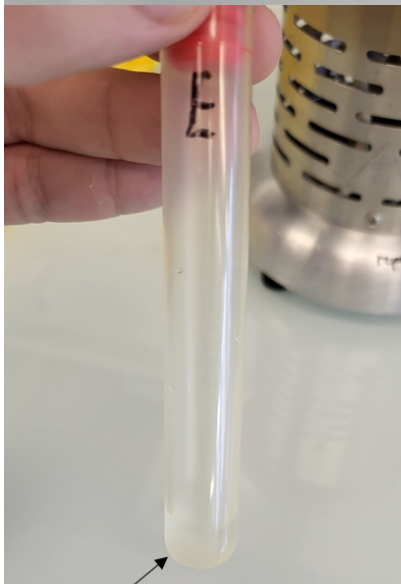
- 6- Puis mettre les boîtes retournées 24h à l'incubateur à 37°C.
- 7- Observation des boîtes
- 8- Lancer une coloration de Gram :

Procédure :

1. **Fixation** : Fixer les bactéries sur une lame de verre en les chauffant légèrement. Cela peut être fait en passant la lame au-dessus d'une flamme.



Colonie qu'on va prélever



1mL d'eau distillé
+ la colonie



2. **Coloration initiale** : Appliquer le cristal violet sur les bactéries. Laisser agir pendant environ 1 minute.
3. **Fixation du cristal violet** : Ajouter le Lugol (solution d'iode) sur le cristal violet. Laisser agir pendant environ 1 minute. Cette étape fixe le cristal violet dans la paroi cellulaire.
4. **Décoloration** : Laver la lame à l'éthanol ou à l'alcool éthylique. Cela élimine le cristal violet des bactéries. La durée de décoloration doit être surveillée attentivement, car elle varie selon les types de bactéries.

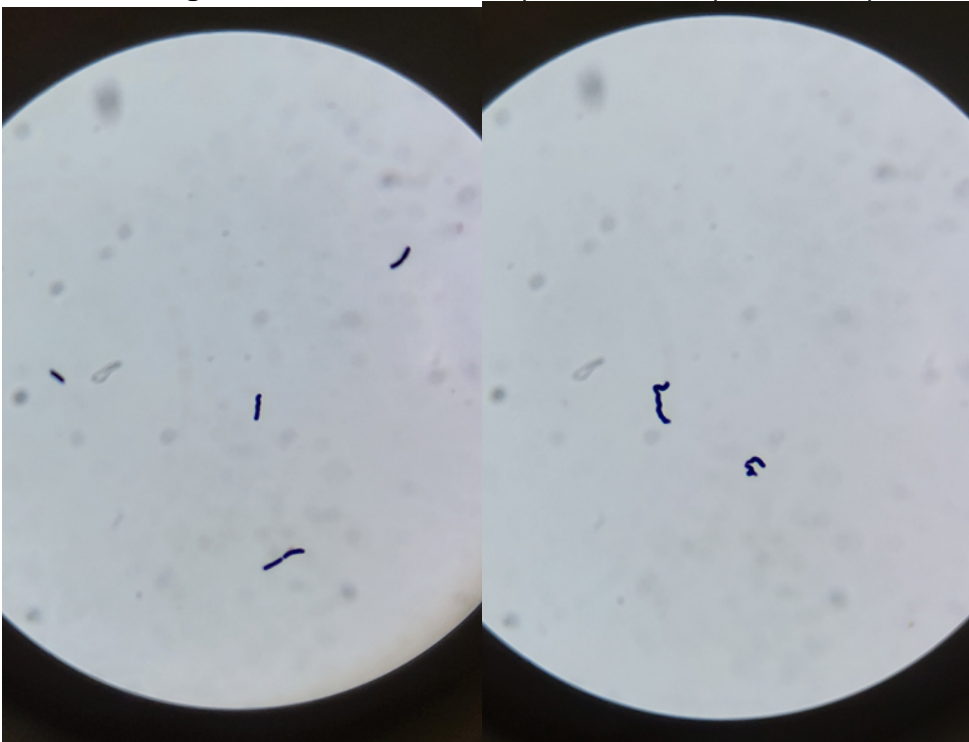
5. **Contre-coloration** : Appliquer la fuchsine sur les bactéries. Laisser agir pendant 1 minutes. La fuchsine colore les bactéries qui ont perdu le cristal violet.

6. **Lavage final** : Rincer la lame à l'eau pour éliminer l'excès de colorant.

7. **Observation** : Observer les bactéries au microscope. Les bactéries qui conservent la coloration violette sont appelées "Gram-positives", tandis que celles qui prennent la coloration safranine sont appelées "Gram-négatives".

Résultats :

- **Gram-positif** : Bactéries avec une paroi cellulaire épaisse qui retient le cristal violet.
- **Gram-négatif** : Bactéries avec une paroi cellulaire plus mince qui ne retient pas le cristal violet et prend la





Conclusion :

L'observation de **Bacillus** dans des échantillons d'eau met en évidence plusieurs aspects importants concernant la qualité de l'eau et la santé environnementale. **Bacillus** est un genre de bactéries largement répandu dans divers environnements aquatiques et terrestres, et sa présence peut avoir des implications variées :

1. **Indicateur de Contamination** : La présence de certaines espèces de **Bacillus** peut indiquer une contamination de l'eau par des matières organiques ou des polluants. Ces bactéries peuvent provenir de sources agricoles, industrielles ou domestiques.
2. **Rôle Écologique** : **Bacillus** joue un rôle crucial dans le cycle des nutriments en décomposant les matières organiques et en contribuant à la reminéralisation des éléments essentiels. Elles participent à la purification naturelle de l'eau.
3. **Potentiel Pathogène** : Bien que la plupart des espèces de **Bacillus** soient inoffensives, certaines peuvent être pathogènes pour les humains, les animaux ou les plantes. La détection de telles espèces nécessite une attention particulière pour évaluer les risques sanitaires potentiels.
4. **Utilisation Biotechnologique** : Les bactéries du genre **Bacillus** sont souvent utilisées dans des applications biotechnologiques en raison de leurs capacités enzymatiques et de leur résistance à des conditions environnementales difficiles. Elles peuvent être employées dans le traitement des eaux usées, la bioremédiation et la production de produits biologiques.

En conclusion, la présence de **Bacillus** dans l'eau doit être interprétée en fonction du contexte environnemental et des spécificités de chaque espèces détectées. Une analyse détaillée et continue est essentielle pour évaluer correctement l'état de l'eau et prendre les mesures appropriées pour maintenir la qualité de l'eau et protéger la santé publique.

Nous avons fait un nouveau test mais cette fois-ci sur Milieu TSA. Nous avons fait la même manipulation, une a eu lieu le 28/05/24 et l'autre le 05/06/24. Et nous avons procédé a un zéro, des témoins et des échantillons (cela reste des échantillons d'eau qui proviennent de l'espace du prototypage). De plus, nous avons remarqué que le milieu TSA était plus adéquat que le milieu LB. Nous avons pu le voir avec le nombre de colonie sur les boîtes de pétri.

Et voici ce que l'on a obtenu :



Boîte TSA Témoin du
28/05/24

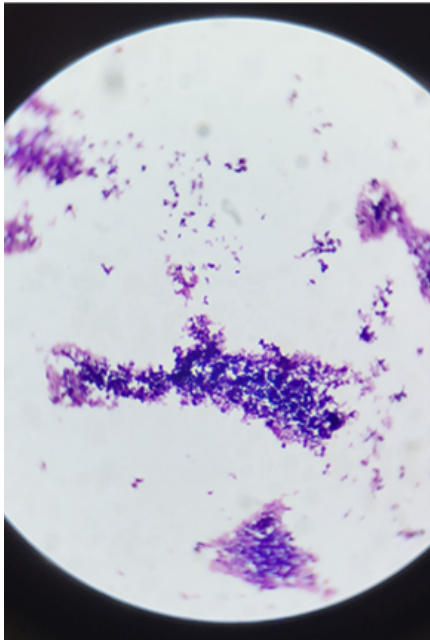
Boîte TSA Témoin du
05/06/24

Boîte TSA Echantillon du
05/06/24

T 28/05/24

Observation :

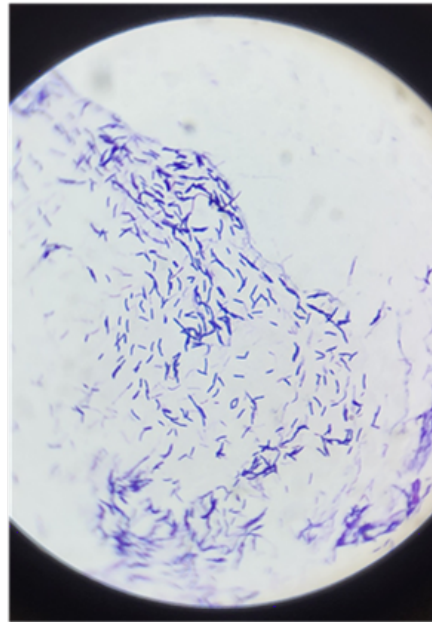
Des coques Gram +



T 05/06/24

Observation :

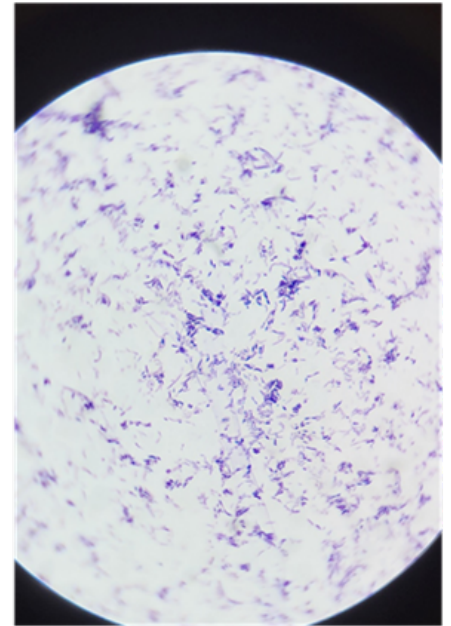
Des bacilles Gram +



E 05/06/24

Observation :

Des bacilles Gram +



Revision #14

Created 27 May 2024 13:24:47 by Kernanec Alan

Updated 20 June 2024 11:32:26 by Kernanec Alan