Milieux sélectifs et tests biochimiques

Coût
65 - 150 €

Délai
2 - 3 jours*
*délai de réponse du laboratoire : 15 à 20 jours ouvrés

Fiabilité
3,5*
*établie selon une échelle relative en fonction des autres techniques

AVANTAGES

- Détection des micro-organismes vivants
- Tests miniaturisés simples d'utilisation et assurant la reproductabilité interlaboratoire

INCONVÉNIENTS

- Milieux sélectifs pas forcément spécifiques d'une unique espèce
- Possibilité d'obtention d'un code ne correspondant à aucune référence suite aux tests miniaturisés

BACTERIES

PRINCIPE

Pour la détection des bactérioses, la vérification du postulat de Koch est possible. Dans la pratique, la vérification de ce postulat n'est réalisée que si les symptômes observés sont nouveaux ou observés chez de nouvelles plantes hôtes. Dans le cas d'une maladie reconnue, l'identification de la bactériose repose sur une étude fine des symptômes et une vérification de la nature de la bactérie considérée. Les isolements sur milieux sélectifs permettent de purifier la bactérie avant de réaliser les tests biochimiques à l'origine de son identification.

ISOLEMENT SUR MILIEUX SELECTIFS

Un milieu de culture est dit sélectif pour une espèce microbienne lorsque seules les exigences nutritives et les conditions de développement spécifiques de cette espèce sont satisfaites. En modifiant différents facteurs, il est donc possible d'orienter un milieu pour que la croissance d'une espèce de bactérie soit favorisée et que les autres voient leur développement inhibé. Les paramètres à moduler sont la température d'incubation, le pH, la source nutritive (carbone, azote…), la présence d'antibiotiques (actidione, bacitracine…) ou d'antiseptiques (berberine, sélénite de sodium…).

TESTS BIOCHIMIQUES

Ces tests permettent l'identification de caractères morphologiques et métaboliques, parmi lesquels : la forme, la structure des parois, la présence de flagelles, les voies d'utilisation du glucose (fermentative ou oxydative), le type respiratoire (aérobie stricte, anaérobie facultative...), les sources carbonées et azotées utilisées et les systèmes enzymatiques caractéristiques (oxydase, catalase, nitrate réductase…). En travail de routine, cinq tests suffisent pour identifier avec certitude la bactérie étudiée, mais il est nécessaire au préalable d'avoir une idée de sa nature pour réaliser les tests adéquats. Cette difficulté a été levée par l'apparition de galeries de tests biochimiques miniaturisés*.

*technique détaillée au verso

Protocole de prélèvement des échantillons

- Prélever les organes végétaux contaminés
- Conserver au frais, à 4°C, et envoyer le plus vite possible (dans les 24h suivant le prélèvement)
- Envoyer dans du papier journal afin de garder au frais les échantillons et d'éviter leur détérioration lors du transport
- Préférer un envoi en début de semaine, par transporteur rapide, pour éviter le stockage durant le weekend

Contacter un laboratoire proposant ce service pour déterminer le type d'échantillon (nombre, nature...), le meilleur moment de prélèvement et les informations complémentaires à envoyer (état de la parcelle, itinéraires techniques…)

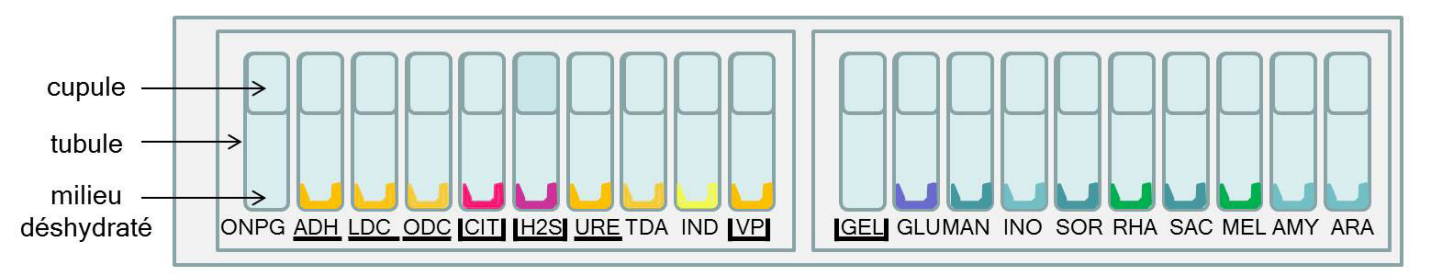
RMT VegDiaG Diagnostic en santé végétale — RFSV Réseau Français pour la Santé Végétale — ensaia

Pour information
La miniaturisation des tests biochimiques date de 1973.
Elle a révolutionné la microbiologie.

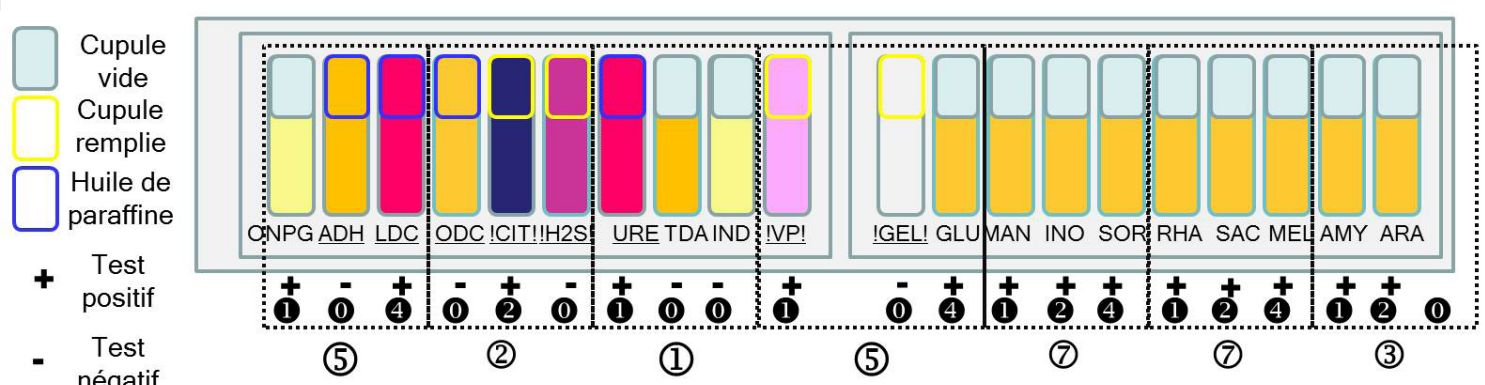
Milieux sélectifs et tests biochimiques

Galeries de tests biochimiques miniaturisés

Elles se présentent sous la forme d'une série de petits tubes, nommés tubules, correspondant chacun à un test biochimique spécifique. Chaque tubule est ouvert à son extrémité supérieure par une cupule pouvant être remplie, ou non, de liquide afin de placer le tube dans des conditions particulières. Chaque tube contient un substrat défini (ONPG, ADH,GEL...) et avec lequel les micro-organismes réagissent différemment.



La suspension bactérienne à analyser, souvent obtenue suite à une purification des colonies bactériennes sur milieux sélectifs, est versée dans chacun des tubules de la galerie. Pour les substrats dont le nom est encadré (CIT, VP...), il convient de remplir la cupule. L'objectif est de réaliser des tests en aérobiose (riche en oxygène). Pour les substrats dont le nom est souligné (ADH, LDC...), il convient de remplir la cupule avec de l'huile de paraffine. Cette huile empêche le contact avec l'oxygène, créant ainsi un milieu anaérobique (absence d'oxygène) et empêche également les composés volatiles synthétisés lors de la réaction de s'échapper du tube.
Après une période d'incubation de 18 à 24h à température adaptée, la lecture des résultats peut se faire. Il convient de regarder si la réaction est positive ou négative séparément pour chacun des tests. La révélation est permise par la présence d'indicateurs colorés dans les substrats. Un changement de couleur du milieu dans le tube, signifie généralement que le test est positif. Un tableau des caractères à vérifier pour chaque milieu est fourni par le fabriquant afin de permettre l'interprétation des résultats.



Code n°: 5 215 773 → A comparer dans la base de données constituée par le fabricant

Concernant l'interprétation des résultats, les tests sont regroupés par triplet de gauche à droite. Un test négatif vaut toujours 0. La valeur des tests positifs, quant à elle, est différente selon la position du test dans le triplet. Dans chacun d'eux, si le premier test est positif, il vaut 1, si c'est le deuxième, 2, et si c'est le troisième, 4. Il faut ensuite additionner les trois valeurs obtenues pour obtenir le code du triplet (seules huit valeurs, de 0 à 7, sont possibles). Un code à sept chiffres est obtenu par lecture des codes des triplets de gauche à droite. Ce code, comparé à ceux référencés dans la base de données gérée par le fabricant, permet l'identification de la bactérie.

Là où les techniques classiques nécessitaient une à trois semaines, les gammes miniaturisées permettent l'obtention des résultats sous 18 à 72 heures. Elles permettent, en outre, l'identification d'environ 800 bactéries et levures, ce qui couvre pratiquement l'ensemble des micro-organismes pathogènes de ce type.

RMT VegDiA Diagnostic en santé végétale
RFSV Réseau Français pour la Santé Végétale
ensaia