

1- Définition du milieu de culture

Les micro-organismes exigent pour leur croissance des aliments. Ces aliments leur sont fournis au laboratoire par des milieux nutritifs ou milieux de culture. Pour permettre le développement des micro-organismes le milieu doit :

*contenir tous les aliments nécessaires en quantité suffisante et en proportion relative convenable : le milieu doit être nutritif et équilibré.

*avoir un pH, une pression osmotique, une viscosité des caractéristiques physicochimiques compatibles avec la vie microbienne. Comme les besoins nutritionnels des microorganismes et les conditions de leurs développements sont très variés il n'existe évidemment aucun milieu universel sur lequel tous les microbes soient capables de se multiplier.

Toutefois, la composition d'un milieu de culture varie, elle est choisie en fonction du but à atteindre et des besoins requis par la bactérie, un milieu minimum doit comporter obligatoirement :

- Une source d'eau (eau distillée).
- Une source de carbone ou d'énergie (Glucose).
- Une source d'azote (N) et soufre (S).
- Une source de potassium (K) et phosphore (P).
- Une source de calcium (Ca) et magnésium (Mg).
- Une source d'oligo-éléments (sels de cuivres de zinc, de cobalt...etc.).
- Les facteurs de croissance (Vitamines) peuvent être rajoutés aux bactéries autotrophes.

Classification des milieux de culture

Il existe différentes classifications des milieux de culture :

Classification selon la composition

a- Milieu complexe empirique (naturel)

La composition de ce milieu n'est pas bien définie, c'est le milieu naturel de la bactérie.

On retrouve des extraits de viande, des extraits de levure, les peptones. Exemple : Milieu cœur cerveau BHIB (Brain Heart Infusion Broth).

b- Milieu semi-synthétique

Au milieu complexe sont rajoutées des substances chimiques bien définies, ceci concerne les produits ayant un intérêt pour la bactérie, comme les facteurs de croissance, Exemple : Gélose enrichie au sang de mouton.

c- Milieu synthétique

La composition est parfaitement définie tant en quantité qu'en qualité,

Ce sont des milieux utilisés dans la mise en évidence d'une réaction enzymatique précise, Exemple : Milieu de Ferguson.

Classification selon la consistance

a- Milieu liquide

Exemple : Milieu de Clark et Lubs, Bouillon d'enrichissement.

b- Milieu solide ou gélosé

C'est un milieu liquide solidifié par addition d'Agar à une concentration de 1 à 1.7%

Agar : Substance extraite d'algues marines et qui possède la propriété de fixer une grande quantité d'eau d'où la gélification.

Exemple : Milieu de Chapman, TSI.

c- Milieu semi-liquide, semi-solide, ou faiblement gélosé

La concentration en Agar est plus faible que celle du milieu gélosé, elle est comprise entre 0,05- 0,075%

Exemple : Milieu Mannitol mobilité, MEVAG.

Classification selon l'utilisation

a- Milieux usuels ou de base

Permettent la culture de bactéries non exigeantes. Exemple : Gélose nutritive et bouillon nutritif.

b- Milieux enrichis

Contiennent les composants indispensables aux bactéries, mais qu'elles ne peuvent synthétiser, on parle de bactéries exigeantes. Exemple : Gélose au sang simple, ou additionnée aux vitamines.

c- Milieux d'enrichissement

Permettent de favoriser une croissance bactérienne à partir du prélèvement. Il s'agit de milieux liquides riches permettant le développement d'un maximum de bactéries. Exemple : Bouillon pour hémoculture, BGT (Bouillon Glucosé Tamponné).

d- Milieux sélectifs :

Permettent la pousse d'un seul type bactérien, pour cela on utilise des inhibiteurs pour réprimer les autres genres, ex : Gélose Hektoen qui permet la culture des bacilles Gram négatifs non exigeants, la gélose contient la bile inhibitrice des bacilles Gram positifs.

e- Milieux électifs :

Permet la pousse favorable d'un genre bactérien par rapport aux autres sans leur destruction. Exemple : Eau peptonée alcaline (EPA), dont l'alcalinité favorise la pousse du *vibrio* (germe responsable du choléra) (préfère un milieu alcalin).

f- Milieux d'identification :

Permettent l'étude du métabolisme biochimique des bactéries,

Exemple : TSI (Tri Sugar Iron.), Milieu de Ferguson.

g- Milieux de conservation :

Selon leur composition, on peut conserver aussi bien les bactéries non exigeantes que les bactéries exigeantes :
-Pour les non exigeantes, on utilise un milieu solide qui est une gélose profonde en capillaires que l'on conserve à température ambiante.

2. la mise en évidence de la présence des bactéries

Le but de cette manipulation est de mettre en évidence les bactéries dans différents milieux. Elle va permettre de répondre à 2 questions :

- Où trouve-t-on les bactéries ?
- Y a-t-il différents types de bactéries ?

Principes de la manipulation

La gélose contient tous les nutriments nécessaires au développement des bactéries. On met en contact les milieux/objets avec la gélose, et les bactéries se déposent sur la gélose et se développent.

Pour accélérer le développement, on place les boîtes de Pétri dans une étuve. Après 48h, on bloque le développement bactérien en plaçant les boîtes de Pétri au réfrigérateur, car les bactéries ne peuvent pas se développer à une température $< 6^{\circ}\text{C}$. On observe ensuite les résultats.

Les objets testés sont :

- L'eau du robinet (quelques gouttes)
- un cheveu
- l'air ambiant
- les doigts : avant le nettoyage des mains
- les doigts : après le nettoyage des mains

Protocole

- ouvrir la boîte de pétri contenant de la gélose nutritive (GN)
- poser l'objet à la surface de la gélose/ ouvrir la boîte à l'air ambiant pendant quelques minutes
- refermer la boîte de pétri
- placer dans l'étuve

Après 48h, on bloque le développement bactérien en plaçant les boîtes de pétri au réfrigérateur, car les bactéries ne peuvent pas se développer à une température $< 6^{\circ}\text{C}$.