

Université L'arbi Ben M'hidi, Oum El-Bouaghi
Département SNV

Matière : Microbiologie générale
TD N° 3 : Milieux de cultures

Préparé par :
M. DJABALLAH Chamss Eddine



Étude des microorganismes



Méthodes

Culture

Isolement

identification



Principales caractéristiques d'un milieu de culture

Stérile

Diagnostic

Dénombrement

Purification

Identification

Éléments nutritifs

Gélose nutritive :

Extrait de viande : 1,0 g

Extrait de levure : 2,5 g

Peptone : 5,0 g

Chlorure de sodium : 5,0 g

Agar : 15,0 g

Eau distillée (qsp) : 1000 mL

pH = 7,0

Gélose Chapman :

Peptones : 11,0 g

Extrait de viande : 1,0 g

Chlorure de sodium : 75 g

Mannitol : 10,0 g

Rouge de phénol : 0,025 g

Agar : 15 g

Eau distillée (qsp) : 1000 mL

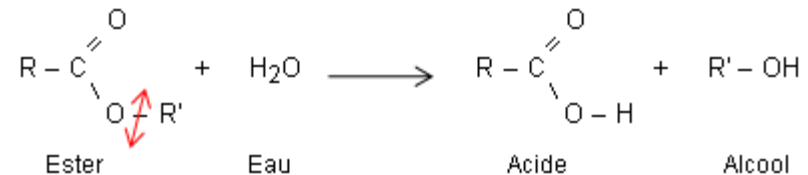
pH = 7,4

Eau : aw

Catabolisme

Réactions
d'hydrolyse

pH



Classification des milieux de culture

Classification selon leur présentation

Milieux de culture solides

Milieux de culture liquides

Classification selon la composition

Classification selon l'utilisation

Milieux naturels ou empiriques

Milieux de base

Milieux semi-synthétiques

Milieux d'isolement

Milieux synthétiques

Milieux de base

Milieux enrichis

Milieux électifs

Milieux sélectifs

Milieux d'identification

Milieux de conservation

Milieux minimum



Classification des milieux de culture

Classification selon la composition

Milieux naturels ou empiriques

Composition mal définie

- Extraits de viande, lait...

- Pomme de terre, liqueur de maïs, avoine...

- Extrait de levure (*Saccharomyces cerevisiae*).

Gélose nutritive :

Extrait de viande : 1,0 g

Extrait de levure : 2,5 g

Peptone : 5,0 g

Chlorure de sodium : 5,0 g

Agar : 15,0 g

Eau distillée (qsp) : 1000 ml

pH = 7,0

Milieux semi-synthétiques

Milieu PDA :

Pomme de terre : 200g

Dextrose : 20g

Agar : 20 g

Eau distillée (qsp) : 1000 ml

pH = 5,6

Milieux synthétiques

Milieu ISP5 :

Glycérol : 10g

L-Asparagine : 1g

K_2HPO_4 : 1g

Solution saline* : 1ml

Agar : 20.000g

pH = 7,4

1ml de solution saline contient :

$FeSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,001g

$MnSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,001g

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,001g



Classification des milieux de culture

Classification selon l'utilisation

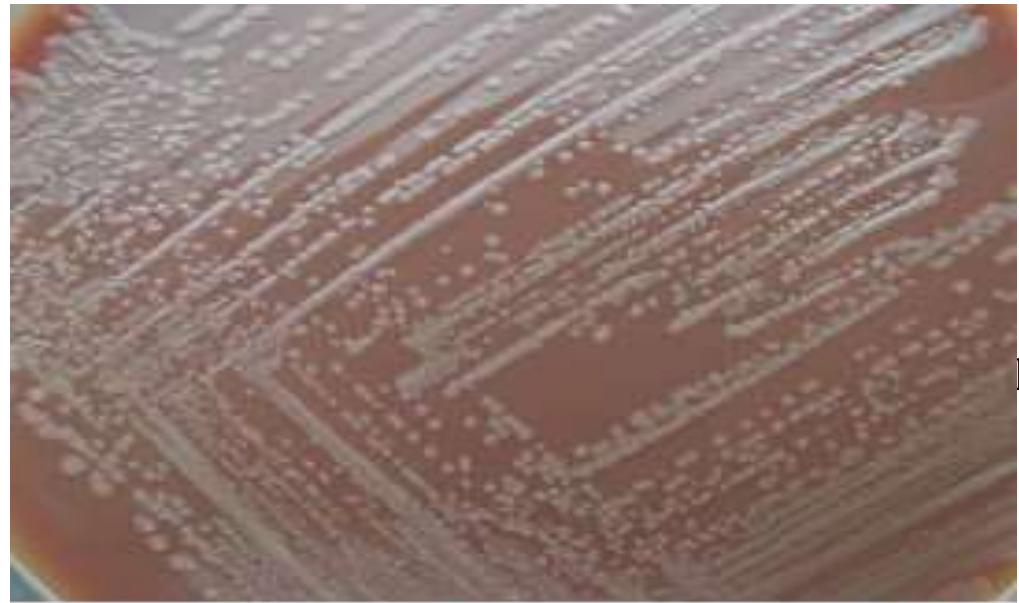
Milieux de base

Gélose nutritive :



Milieux enrichis

Gélose chocolat enrichie :



Colonies de *Haemophilus influenzae* sur gélose chocolat polyvitaminée

Milieux sélectifs

Milieux électifs

Gélose Columbia modifié, contenant 5 ou 10 ml / l d'**acide propionique** et ajusté à **pH 5,0**, est décrit à la fois comme **électif** et **sélectif** pour les bifidobactéries.



Classification des milieux de culture

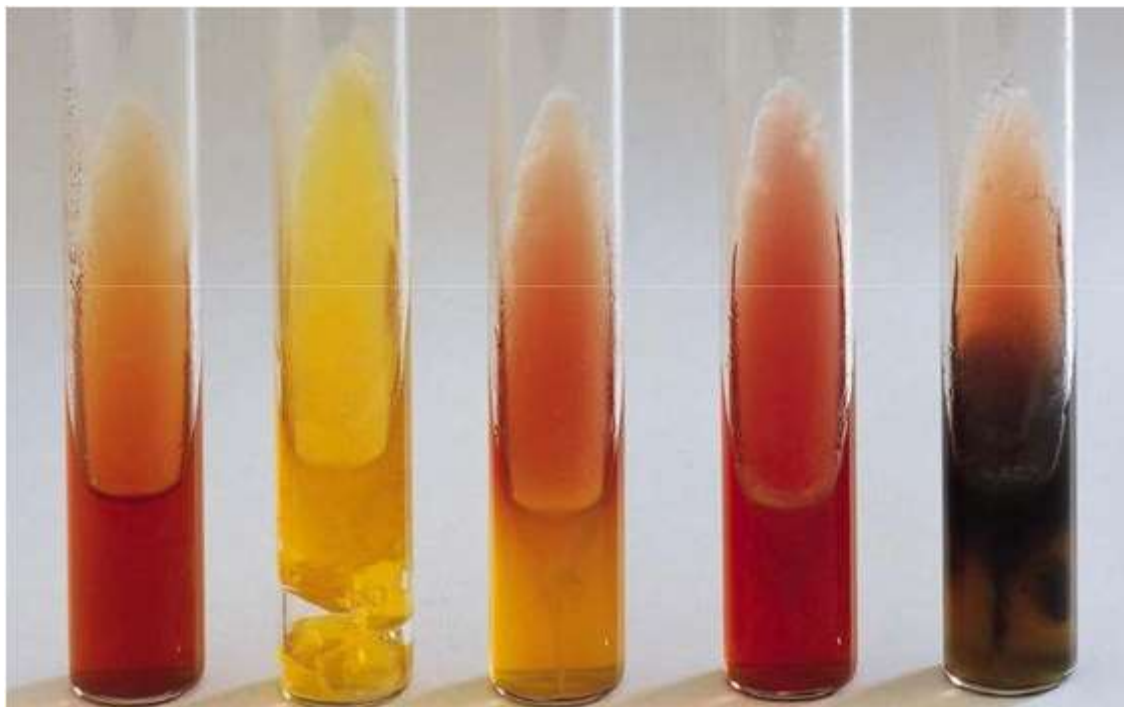
Classification selon l'utilisation

Milieux d'identification

Galleries biochimiques



**Citrate de
Simmons**



Témoin (-)

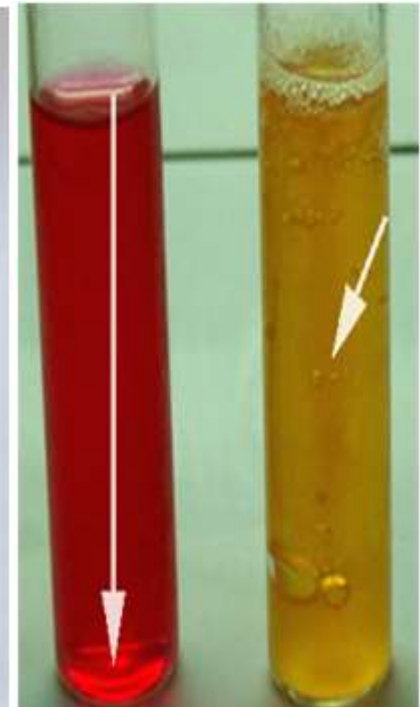
Milieu TSI

Escherichia coli :
Lactose,
saccharose, glucose (+) /
H₂S (-) /
Gaz (+)

Shigella sonnei :
Lactose,
saccharose (-) /
glucose (+) /
H₂S (-) /
Gaz (-)

Pseudomonas aeruginosa :
Lactose,
saccharose, glucose (-) /
H₂S (-) /
Gaz (-)

Salmonella Enteritidis :
Lactose,
saccharose (-) /
glucose (+) /
H₂S (+) /
Gaz (+) pas encore visible



**Mannitol
mobilité**



Classification des milieux de culture

Classification selon l'utilisation

Milieux minimums

Milieu minimum pour *E. coli* :

Glucose : 10 g

KH_2PO_4 : 13,6 g

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 2 g

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,5 mg

CaCl_2 : 0,02 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,2 g

Eau distillée (qsp) : 1000 ml

pH = 7,0

Milieux de conservation

Les cultures microbiennes resteront généralement viables pendant plusieurs jours dans un milieu de culture solide à température ambiante (22 à 25°C) jusqu'à ce que le milieu devienne sèche ou acide.

Conservation de courte durée

Il ne faut jamais conserver les souches dans un milieu contenant des hydrates de carbone car les produits acides du métabolisme diminuent rapidement la viabilité.

De l'huile minérale stérile peut aussi être utilisée pour prévenir le dessèchement des géloses en pente.

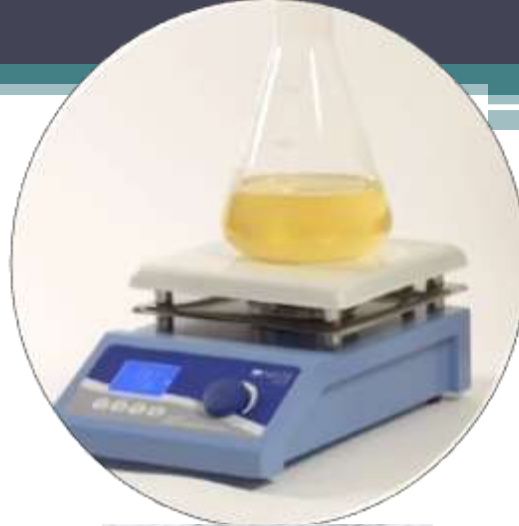
Conservation de longue durée

Les cultures bactériennes peuvent être conservées par congélation ou par lyophilisation dans diverses suspensions préparées à cet effet.





Pesée



Dissolution



Ajustement du pH

**Préparation
d'un milieu
de culture**



Stérilisation



Distribution

