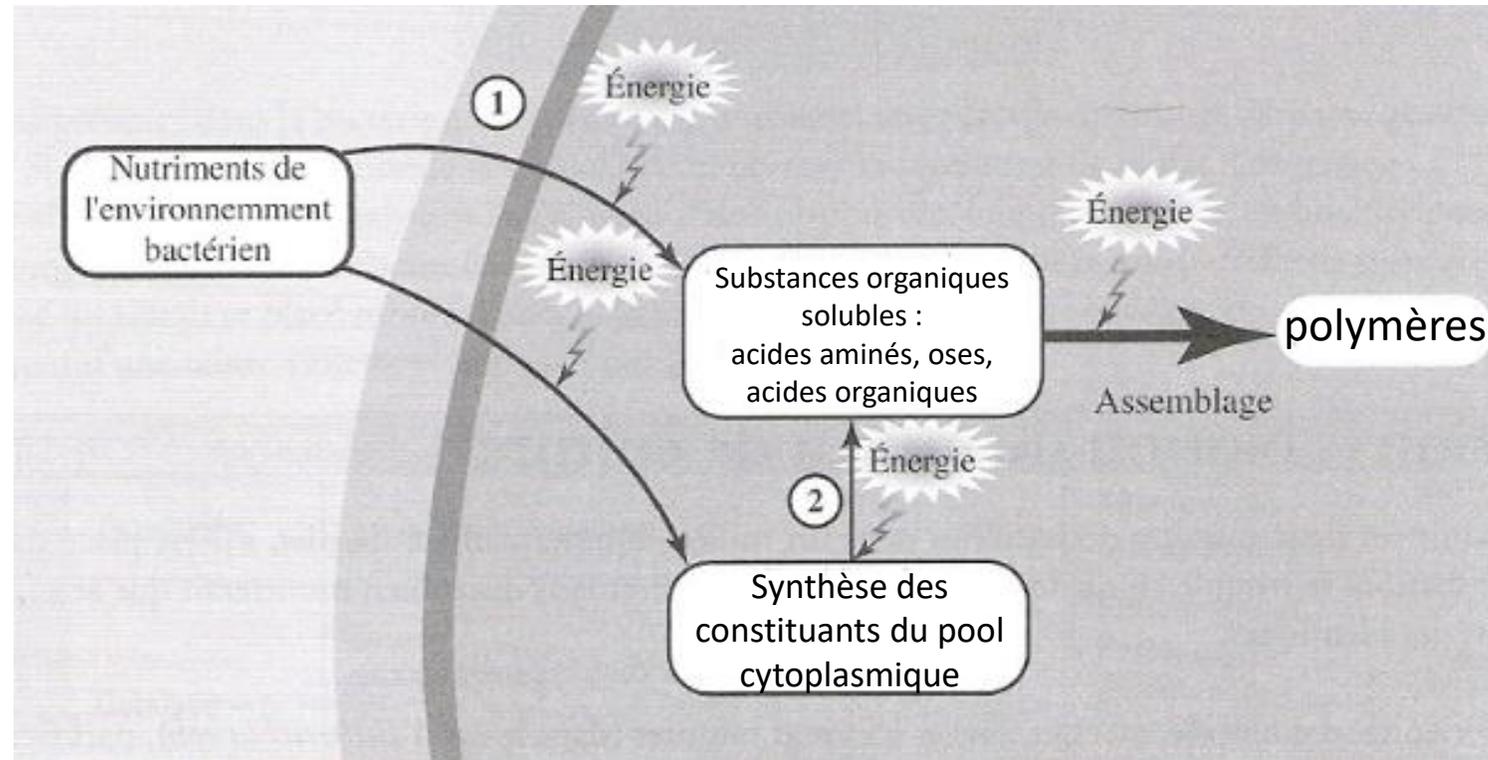


# **Besoins nutritionnels des micro-organismes**

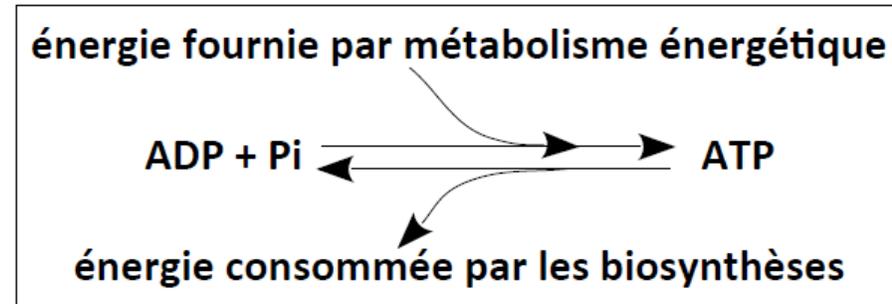


**Un nutriment est une substance que la bactérie puise dans son environnement et est capable d'utiliser avec (voie ②) ou sans (voie ①) transformation pour produire ses propres constituants.**

Si une brique élémentaire (acide aminé, ose, base azotée ...) est naturellement présente à l'état préformé dans le milieu, elle sera en général assimilée et utilisée directement et réprimera la voie de sa biosynthèse (②) = **répression anabolique**.

## 1. Source d'énergie

La synthèse des constituants nécessite de l'énergie. Elle est produite par métabolisme énergétique :



Les microorganismes peuvent être classés en fonction de la source d'énergie qu'ils utilisent :

- **Microorganismes chimiotrophes** :

Pour ces micro-organismes, l'énergie provient de l'oxydation de molécules réduites.

Ces molécules, appelées également donneurs d'électrons, peuvent être :

- minérales : micro-organismes chimiolithotrophes.

Exemples : bactéries oxydant le dihydrogène, l'ammoniaque, les nitrites, les composés réduits du soufre, *etc.*

- organiques : micro-organismes chimioorganotrophes.

Cas de la majorité des micro-organismes cultivés (bactéries, mycètes, protozoaires)

- **Micro-organismes phototrophes :**

Ces micro-organismes utilisent la lumière comme source d'énergie, grâce à des pigments.

Les donneurs d'électrons peuvent être :

- minéraux : micro-organismes photolithotrophes.

Exemples : bactéries sulfureuses pourpres ou vertes, cyanobactéries.

- organiques : micro-organismes photo-organotrophes.

Exemples : bactéries pourpres et vertes non sulfureuses.

## 2. Besoins élémentaires nécessaires à la croissance des micro-organismes

Constituants	% du poids sec	Nombre de molécules par cellule	Nombre de molécules différentes
Protéines	55	$2,36 \cdot 10^6$	1 050
ARN	20,5	$6,4 \cdot 10^4$	463
Brin d'ADN	3,1	2	1
Lipides	9,1	$2,2 \cdot 10^7$	4 (nombreuses variétés)
Lipopolyosides	3,4	$1,2 \cdot 10^6$	1
Peptidoglycane	2,5	1	1
Glycogène	2,5	4 300	1
<b>TOTAL Polymères Organiques</b>	96,1		
<b>Substances organiques solubles = « pool » cytoplasmique</b>	2,9	$3 \cdot 10^8$	900
<b>Ions minéraux</b>	1,0	$2 \cdot 10^8$	20

Éléments	Pourcentage du poids de matière riche
C	50
H	20
O	14
N	8
P	3
S	1
Na	1
K	1
Ca	0,5
Mg	0,5
Fe	0,2
Cu, Zn, Mo, Bo, Se, Cl, Ni, Cr, Co, Wo	0,2

Parmi les éléments indispensables à la croissances des micro-organismes, on distingue :

- **Macro-éléments** :

Éléments dont la teneur est supérieurs à 0,2 % de la masse sèche de l'organisme : **C, H, O, N** (éléments majeurs → 95% du total), **P, S, Ca, K, S, Na, Mg**.

- **Micro-éléments** :

Éléments dont la teneur est inférieure à 0,2 % de la masse sèche : **Fe, Zn, I, Br, etc...**

Certains de ces éléments sont présents à l'état de trace : on parle alors d'oligo-éléments : **Cu, Mn, Co, Cr, etc...**

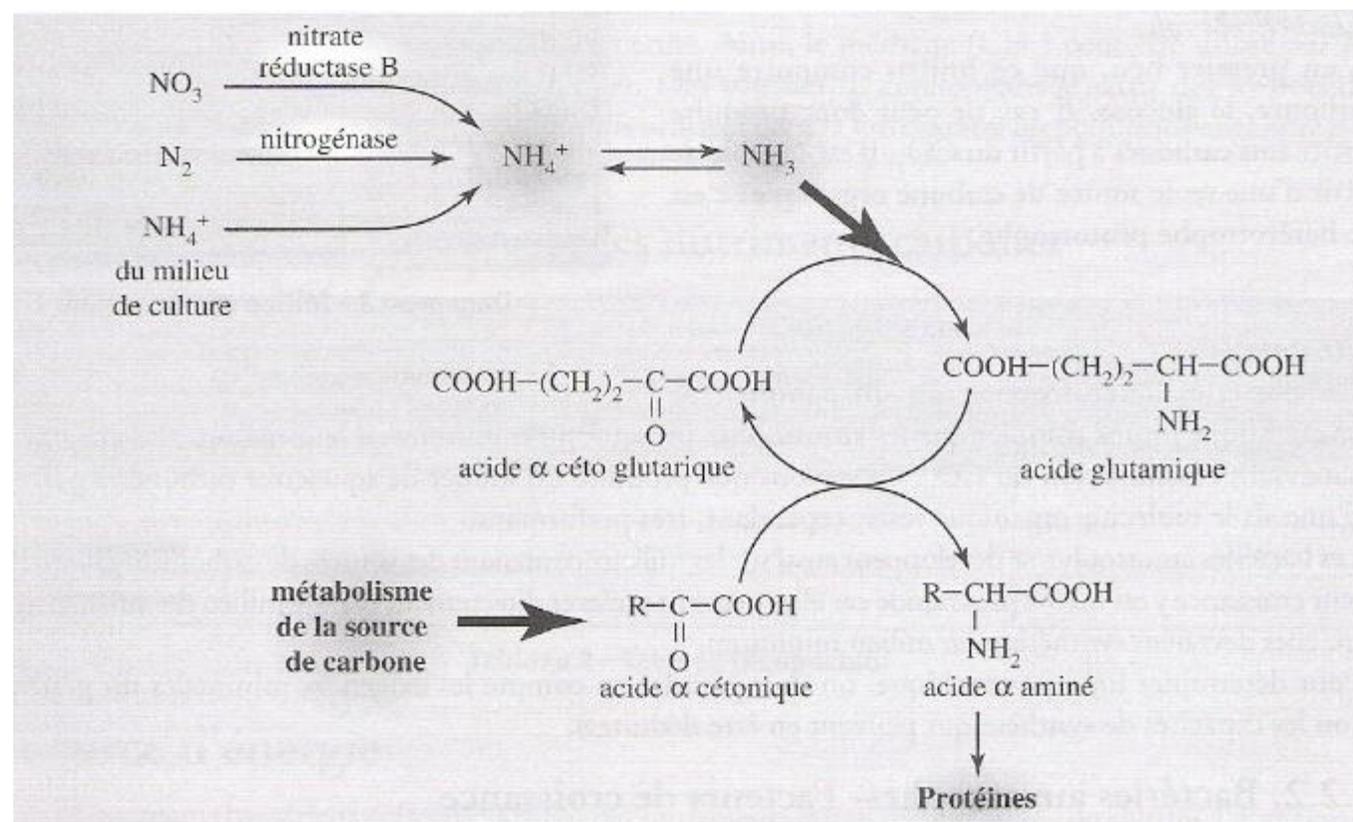
## 2. Besoins élémentaires nécessaires à la croissance des micro-organismes

### 2.1. Couverture des besoins non carbonés

#### 2.1.1. Couverture des besoins en macronutriments

- Source d'azote (N) :

L'azote est surtout abondant dans les protéines et les acides nucléiques (+ peptidoglycane, certains lipides, coenzymes).



L'azote est souvent assimilé par les bactéries **sous forme inorganique** : ammoniac ( $\text{NH}_3$ ), ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ).  
Un petit nombre de bactérie requiert de l'azote **sous forme organique (sous forme d'acides aminés)**.  
Certaines bactéries (eubactéries et archées) sont **capables d'utiliser  $\text{N}_2$  = bactéries fixatrices d'azote**.  
Exemple : *Rhizobium* (symbiose avec les légumineuses), *Azotobacter*...

- **Source du soufre (S)** :  
Le soufre est nécessaire car il entre dans la **composition de certains acides aminés** (met , cys) et également de **nombreuses vitamines** (exemples : thiamine, biotine = vitamine B) et coenzyme A.  
La plupart des micro-organismes **utilisent les ions sulfates  $\text{SO}_4^{2-}$** .  
Les **sulfates sont réduits en sulfures  $\text{H}_2\text{S}$  puis incorporés dans les molécules organiques**.
- **Source du phosphore (P)** :  
Le phosphore est trouvé dans la nature **sous forme organique et inorganique** (exemple : ion phosphate  $\text{PO}_4^{3-}$ ).  
Il est nécessaire principalement pour la **synthèse d'acides nucléiques, des phospholipides, des composés à haut potentiel d'hydrolyse (ATP)**.

- Éléments minéraux :

On a  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ , qui font parti des macro-éléments

Éléments	Fonction
Potassium ( $K^+$ )	Cofacteur de nombreuses réactions enzymatiques, surtout celles impliquées dans la synthèse des protéines.
Sodium ( $Na^+$ )	Régulation de la pression osmotique en association avec $K^+$ . Affecte l'activité de certaines enzymes. Participe au transport de solutés chez les espèces qui possèdent des systèmes de transports $Na^+$ dépendants.
Magnésium ( $Mg^{2+}$ )	Entre dans la composition de la chlorophylle. Impliqué dans des réactions enzymatiques dont celle de la synthèse ou de l'hydrolyse de l'ATP.
Fer ( $Fe^{2+}$ )	Centre réactif de protéine contenant de l'hème (cytochromes, catalase, etc...) et composant d'autres protéines.

### 2.1.1. Couverture des besoins en micronutriments

La plupart des micronutriments sont des métaux intervenant comme **cofacteurs enzymatiques**.

Les **besoins en oligo-éléments étant infimes**, il est souvent inutile d'en ajouter dans les milieux de culture, car présents en quantité suffisante à l'état d'impuretés (dans l'eau, adhérents au verre, autres produits, etc.).

## 2. Besoins élémentaires nécessaires à la croissance des microorganismes

### 2.2. Sources de carbone

La masse sèche d'une cellule contient 50 % de carbone en moyenne, et le **carbone est l'élément majeur** de toutes les macromolécules.

Selon la source de carbone on distingue les bactéries :

- **autotrophes** :

**Utilisent comme seule source de carbone le CO<sub>2</sub> (molécule minérale).**

- **hétérotrophes** :

**Utilisent les molécules organiques comme source de carbone.**

Une **grande majorité des bactéries** est **hétérotrophe**. Selon l'espèce bactérienne considérée, les substrats carbonés peuvent être très variés : CH<sub>4</sub>, alcool, acide acétique, acides aminés, glucides, acides gras, bases azotées, substances organiques de synthèse... Une variété intéressante dans les processus de dépollutions biologiques.

Les **chimolithotrophes** et la **plupart des bactéries phototrophes** sont **autotrophes**.

Source d'énergie	Nature du donneur d'électron	Source de carbone	Type trophique	Exemples
chimique (molécule organique ou non)	organique	organique	Hétérotrophe chimioorganotrophe	mycètes, la plupart des bactéries (dénitrifiantes, etc...)
		minérale	Autotrophe chimioorganotrophe	rare, certains Dinoflagellés
	minérale	organique	Hétérotrophe chimiolithotrophes	certaines bactéries : <i>Bosea</i> , <i>Albibacter</i> , etc.
		minérale	Autotrophe chimiolithotrophes	bactéries oxydant le dihydrogène, l'ammoniaque, les nitrites, les composés réduits du soufre et du fer, etc.
lumière	organique	organique	Hétérotrophe photoorganotrophe	bactéries pourpres et vertes non sulfureuses
		minérale	Autotrophe photoorganotrophe	certaines bactéries (Athiorhodacées...), hémiparasites
	minérale	organique	Hétérotrophe photolithotrophe	certaines bactéries ( <i>Thiobaca</i> ...)
		minérale	Autotrophe photolithotrophe	la plupart des cyanobactéries, bactéries vertes et pourpres sulfureuses

## 2. Besoins élémentaires nécessaires à la croissance des micro-organismes

### 2.3. Besoins spécifiques chez les hétérotrophes

#### 2.3.1. Notion de milieu minimum

**Milieu minimum** : milieu comportant les nutriments *strictement* indispensables à la croissance bactérienne.

#### Exemple de milieu minimum pour *Escherichia coli*

Constituants	Concentrations en masse
Glucose	1 g·L <sup>-1</sup>
KHPO <sub>4</sub>	10,5 g·L <sup>-1</sup>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,5 g·L <sup>-1</sup>
NH <sub>4</sub> Cl	0,5 g·L <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	0,05 g·L <sup>-1</sup>
FeSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	0,005 g·L <sup>-1</sup>
NaCl	0,05 g·L <sup>-1</sup>
MnCl <sub>2</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	0,05 g·L <sup>-1</sup>

*Escherichia coli* synthétise tous ses composés carbonés à partir du glucose

Un microorganisme capable de cultiver sur milieu minimum est dit **prototrophe pour ce milieu**.

*Proteus vulgaris* est incapable de croître sur le milieu minimum d'*Escherichia coli* car il ne peut pas synthétiser tous ses constituants carbonés à partir du glucose. Sa culture devient possible si on ajoute de l'acide nicotinique.

Un **facteur de croissance** est une molécule organique que certaines espèces de microorganismes sont incapables de synthétiser à partir d'une source de carbone Il faut donc les ajouter en faible quantité dans le milieu de culture.

Ils incluent les vitamines (1 à 24  $\mu\text{g/L}$ ), les acides aminés (25  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), les bases azotées (puriques et pyrimidiques : 10  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

Un microorganisme nécessitant un facteur de croissance est **auxotrophe pour ce facteur de croissance**.

Lorsqu'un facteur de croissance n'est pas présent en quantité suffisante dans le milieu de culture d'un auxotrophe, la **croissance est ralentie** : on dit que c'est un facteur limitant.

## 2. Besoins élémentaires nécessaires à la croissance des micro-organismes

### 2.3. Besoins spécifiques chez les hétérotrophes

#### 2.3.2. Dosage microbiologique

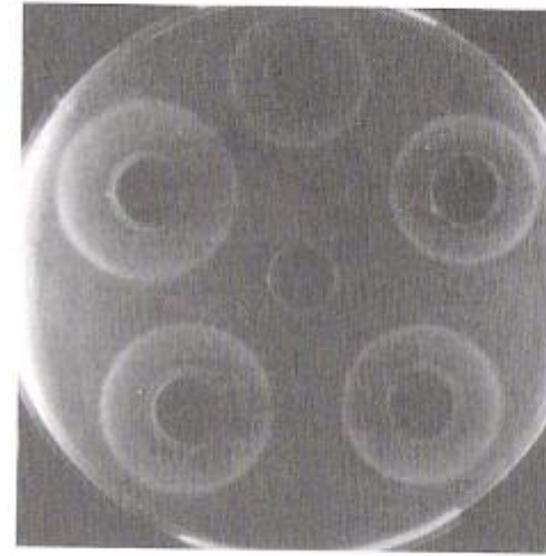
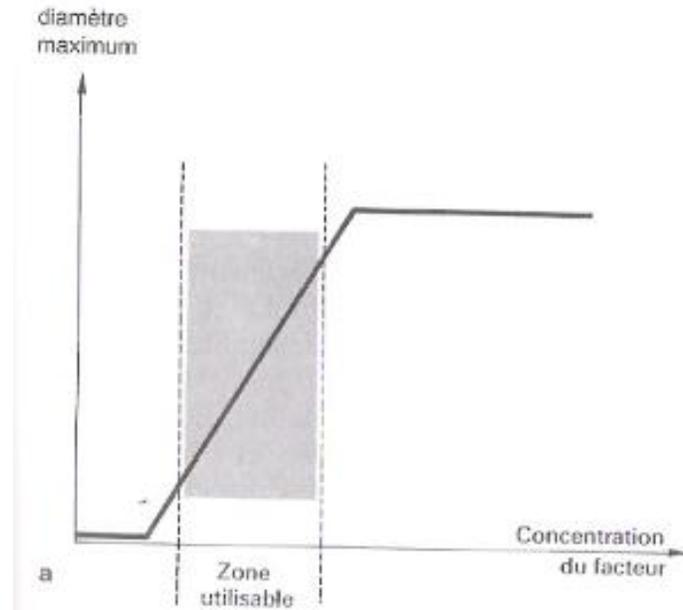
La croissance d'un micro-organisme auxotrophe pour un facteur de croissance donné est proportionnelle à la concentration de ce facteur de croissance dans une certaine gamme de concentration.

On ensemence un **micro-organisme auxotrophe** vis-à-vis du facteur de croissance à doser sur un **milieu de culture totalement exempt de ce facteur**.

On apporte le facteur de croissance sous forme d'une **gamme de concentrations connues**, ce qui permet d'établir une courbe de croissance en fonction de la concentration du facteur.

On repère ainsi la **zone de proportionnalité, seule utilisable pour le dosage**.

Parallèlement des **essais sont réalisés dans les mêmes conditions**. Il suffit alors de reporter sur la courbe de référence la croissance des essais pour connaître leur concentration en facteur de croissance.



Le dosage peut se faire :

- sur milieu solide :

On utilise des disques imprégnés du facteur de croissance dans des concentrations connues et constantes. Ces disques sont déposés sur milieu minimumensemencé en nappe par une souche auxotrophe. On évalue la croissance de la souche en mesurant le diamètre de la culture autour du disque. On dépose parallèlement, un ou plusieurs disques imprégnés de la solution à doser.

- en milieu liquide :

Des tubes de bouillon minimum contiennent des concentrations croissantes de facteur de croissance et sontensemencés par une souche auxotrophes. On analyse la croissance de la souche par opacimétrie (analyse de l'intensité du trouble).

## 2. Besoins élémentaires nécessaires à la croissance des micro-organismes

### 2.3. Besoins spécifiques chez les hétérotrophes

#### 2.3.3. Notion de syntrophie

Les facteurs de croissance peuvent être apportés à une espèce bactérienne par la présence d'une autre espèce synthétisant ce facteur de croissance. On parle alors de **syntrophie**.

Les deux espèces sont souvent présentes ensemble et lors de leur isolement sur gélose, le phénomène est illustré par la présence de **colonies satellites** qui se développent au voisinage de la colonie productrice du facteur de croissance.

## 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

### 3.1. Fabrication de milieux de culture de base

Le milieu de culture doit apporter les éléments nécessaires à la croissance bactérienne.

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.1. Fabrication de milieux de culture de base

##### 3.1.1. Milieux empiriques et milieux synthétiques

- Milieux empiriques (ou naturels, ou complexes) :

Milieux dont on ne connaît pas la composition exacte : ils contiennent des éléments indéfinis tels des produits d'hydrolyse enzymatique de produits animaux ou végétaux, du sérum, du sang, *etc.*

- Milieux synthétiques (ou définis) :

Milieux dont la composition moléculaire est connue de façon exacte qualitativement et quantitativement (mise en solution de substances chimiquement pures dans de l'eau distillée).

- Milieux semi-synthétiques :

Milieux contenant une substance naturelle de base et sont complétés par des substances chimiquement pures. C'est le cas de la plupart des milieux.

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.1. Fabrication de milieux de culture de base

##### 3.1.2. Constituants d'un milieu ordinaire

**Les milieux de base (ou milieux ordinaires) sont des milieux de composition et de préparation simple. Ils permettent le développement d'une grande variété de micro-organismes.**

Un milieu de base contient en général les éléments suivants :

- Extrait de viande ou de levure :

Apport de composés carbonés et azotés organiques, de minéraux.

Les extraits de levure sont en particulier une très bonne source de facteurs de croissances (vitamine B).

- Peptones/tryptones :

Ce sont des produits d'hydrolyse enzymatique de protéines qui servent de sources de carbone et d'azote organiques.

- Agar :

Polyosides (polymère glucidique) extrait d'algues.

L'agar a la propriété de former avec l'eau un gel solide à température inférieure à 50°C tout en étant liquéfiable par ébullition. **Possibilité de maintien en surfusion** (liquide) jusqu'aux environs de 45°C.

Il n'est pas dégradé par les bactéries et permet la solidification des milieux de culture :

- milieu liquide : sans agar.
- milieu semi-solide : 2 à 6 g·L<sup>-1</sup> d'agar.
- milieu solide : + de 10 g·L<sup>-1</sup> d'agar.

Sur un milieu solide, on peut réaliser un **isolement** : Les bactéries sont disséminées à la surface de la gélose et forment autant de colonies qu'il y avait initialement de cellules. (1 colonie + 1 clone).

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.1. Fabrication de milieux de culture de base

##### 3.1.2. Constituants d'un milieu ordinaire

- Eau.

- Minéraux :

En général, 5 à 10 g·L<sup>-1</sup> de NaCl pour assurer une pression osmotique correcte.

Les milieux de base (BNO, GNO, GTS) permettent la **culture de micro-organismes non exigeants**

Remarque :

En industrie, on utilise aussi des sous produits ou des résidus des industries agro-alimentaires comme la mélasse (betterave ou canne à sucre), la farine de soja, de poisson, de son, de maïs, de sirop de maltose...

Intérêt = moindre coût (0,15 €·kg<sup>-1</sup> contre 12 €·kg<sup>-1</sup> pour les peptones).

Certaines bactéries dites **exigeantes** ne peuvent pas croître sur un milieu ordinaire.

On utilise alors pour leur culture des **milieux enrichis, c'est-à-dire un milieu ordinaire additionnés de liquides biologiques ou de suppléments vitaminiques.**

Exemples : gélose au sang, gélose chocolat (sang cuit).

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.2. Notion de milieu sélectif

**Milieu sélectif** : milieu qui permet la croissance de certaines espèces en particulier (il les sélectionne) tout en s'opposant au développement des autres espèces (il les inhibe).

Ces milieux contiennent des **agents sélectifs** appelés inhibiteurs.

Les inhibiteurs peuvent être :

- des substances, qui, par leur nature chimique, freinent ou stoppent la multiplication de certaines espèces : inhibiteurs par nature.

Ils agissent à faible dose.

Exemples : colorants, bile et ses constituants, sels minéraux particuliers, antibiotiques.

- des substances inhibitrices uniquement à forte concentration : inhibiteurs par concentration.

Exemple : concentration en NaCl à  $75 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  dans la gélose Chapman.

- des modifications de facteurs physico-chimiques du milieu de culture, ou d'incubation : conditions sélectives d'incubation.

Exemples : pH alcalin ou acide, température et atmosphère d'incubation.

Le choix d'un inhibiteur est fonction du spectre d'action de la ou des molécules utilisées et de la nature du groupe microbien à isoler. Il n'y a cependant pas vraiment d'inhibiteur ni de milieu sélectif parfait. Les résultats obtenus doivent donc être examinés avec beaucoup de sens critique.

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.2. Notion de milieu sélectif

Inhibiteurs	Micro-organismes non inhibés	Micro-organismes inhibés
Acriflavine, Cycloheximide, Acide nalidixique	<i>Listeria</i>	... (1)
Actidione (cycloheximide)	Dermatophytes, <i>Histoplasma</i> , <i>Blastomyces</i> , <i>Sporotrichum</i> , la plupart des <i>Candida</i>	Certains <i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Monosporium</i>
ANC (Acide nalidixique-Colimycine)	Bactéries Gram+, Bacilles Gram-, résistants à ANC	Bacilles Gram- sensibles
Azide	<i>Streptococcaceae</i>	...
Bacitracine à 50 UI. cm <sup>-3</sup>	<i>Haemophilus</i> ...	...
Bleu de méthylène	Gram-	Gram+
Cétrimide	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et apparentés	...
Chloramphénicol	Champignons	Bactéries (sensibles)
Chlorure de sodium haute concentration	<i>Staphylococcus</i> <i>Micrococcus</i> , Corynébactéries, <i>Enterococcus</i>	Gram-, <i>Streptococcus</i>
Cristal violet	Gram-	Gram+
Désoxycholate (sels biliaires)	Gram-, <i>Enterococcus</i>	Gram+
Éosine	Gram-	Gram+
Gentamicine	Champignons	Bactéries (sensibles)
Lauryl-sulfate	<i>Vibrio cholerae</i>	...
Vert malachite	Mycobactéries	...
Chlorure de benzalkonium		
Polymyxine B	<i>Brucella</i> , <i>Bacillus cereus</i>	...
Sélénite	Gram-	Gram +
Tellurite	<i>Staphylococcus</i> , Corynébactéries, <i>Listeria</i>	Nombreux Gram-
VCN (Vancomycine-Colistine-Nistatine)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> et <i>meningitidis</i> , et quelques <i>Neisseria</i> commensales	...
Vert brillant	Gram-	Gram+

(1) ... indique que la liste n'est pas vraiment définie.

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.2. Notion de milieu sélectif

Micro-organismes	Inhibiteurs utilisés	Milieux
Bacilles Gram –	Vert brillant, désoxycholate, cristal-violet, sélénite, bleu de méthylène-éosine...	Drigalski, SS, Hektoen, Mac Conkey, EMB
<i>Bacillus cereus</i>	Polymyxine	Gélose de Mossel
<i>Bacteroides</i> <sup>(1)</sup>	Vancomycine, Kanamycine	Gélose Columbia au sang + Vancomycine + Kanamycine
<i>Brucella</i>	Bacitracine + Polymyxine B	
Champignons	Chloramphénicol, Gentamicine	Gélose Sabouraud + antibiotique(s)
Champignons pathogènes (la plupart)	Actidione	Gélose Sabouraud + actidione
<i>Clostridium</i> <sup>(1)</sup>	Néomycine	Milieux de Willis, TSN
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Tellurite	Gélose de Tinsdale
<i>Enterococcus</i>	Azide + désoxycholate	Gélose Cocosel : BEAA
<i>Erysipelothrix</i>	Azide + haute concentration de cristal-violet	
<i>Listeria</i>	Acide nalidixique + dérivé de l'acridine Cycloheximide, chlorure de lithium	Gélose Oxford Gélose Mac Bride modifiée
Mycobactéries	Vert malachite	Lowenstein-Jensen, Coletsos
Mycoplasmes	Pénicilline + Acétate de thallium	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i>	Mélange VCAT (Vancomycine, Colistine, Amphotéricine, Triméthopine)	Gélose chocolat + VCAT (milieu de Thayer et Martin)
<i>Pseudomonas</i>	Cétrimide + acide nalidixique	Gélose au cétrimide
<i>Staphylococcus</i>	Chlorure de sodium concentré Tellurite	Gélose de Chapman Gélose Baird Parker
<i>Streptococcus</i> β-hémolytiques	Mélange ANC (Acide Nalidixique Colimycine)	Gélose au sang + ANC
<i>Vibrio cholerae</i>	Lauryl-sulfate en pH alcalin	Gélose TCBS

(1) Incubation en anaérobiose. Les bactéries aéro-anaérobies résistantes aux antibiotiques cités cultiveront.

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.2. Notion de milieu sélectif

Il peut s'agir :

- de milieux solides : milieux d'isolement sélectif.

Exemples : Milieu de Chapman, Drigalski, Sabouraud + chloramphénicol.

- de milieux liquides : bouillons d'enrichissement.

Ils contiennent des agents sélectifs qui permettent à une espèce bactérienne de se développer plus rapidement que les autres. Ils sont utilisés lorsque l'espèce recherchée est présente en très faible quantité dans le milieu initial.

Exemple : Le bouillon Rappaport permet un enrichissement en *Salmonella* du fait de la présence de vert de malachite, de  $MgCl_2$  à  $30 \cdot g \cdot L^{-1}$ , et  $pH$  5,5 (éléments inhibiteurs de la plupart des entérobactéries).

Gélose Chapman	Gélose Drigalski	Bouillon Rappaport	Gélose Sabouraud + Chloramphénicol
Peptones : $10 \cdot g \cdot L^{-1}$ Extrait de viande : $1 \cdot g \cdot L^{-1}$ NaCl : $75 \cdot g \cdot L^{-1}$ Mannitol : $10 \cdot g \cdot L^{-1}$ Rouge de phénol : $0,025 \cdot g \cdot L^{-1}$ Agar : $15 \cdot g \cdot L^{-1}$ Eau : qsp 1 L	Peptones : $20 \cdot g \cdot L^{-1}$ Extrait de viande : $3 \cdot g \cdot L^{-1}$ Extrait de levure : $3 \cdot g \cdot L^{-1}$ Lactose : $15 \cdot g \cdot L^{-1}$ Désoxycholate : $1 \cdot g \cdot L^{-1}$ Cristal violet : $0,005 \cdot g \cdot L^{-1}$ BBT : $0,08 \cdot g \cdot L^{-1}$ Thiosulfate de Na : $1 \cdot g \cdot L^{-1}$ Agar : $11 \cdot g \cdot L^{-1}$ Eau : qsp 1 L	Peptones : $4,5 \cdot g \cdot L^{-1}$ Vert de malachite : $36 \cdot mg \cdot L^{-1}$ NaCl : $7,2 \cdot g \cdot L^{-1}$ $KH_2PO_4$ : $1,5 \cdot g \cdot L^{-1}$ $MgCl_2$ : $37,3 \cdot g \cdot L^{-1}$ Eau : qsp 1 L $pH = 5,2$	Peptones : $10 \cdot g \cdot L^{-1}$ Glucose : $20 \cdot g \cdot L^{-1}$ Chloramphénicol : $0,5 \cdot g \cdot L^{-1}$ Agar : $15 \cdot g \cdot L^{-1}$ Eau : qsp 1 L $pH = 6$

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.3. Notion de milieu d'identification

**Milieux d'identification, ou milieux différentiels** = permettent la mise en évidence de caractères biochimiques des microorganismes, utiles à l'identification des espèces.

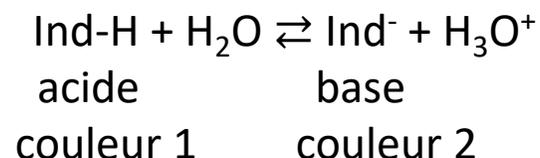
Ils contiennent en principe :

- un substrat de réaction.
- un indicateur de réaction (déjà inclus dans le milieu ou ajouté après).

L'ensemble des milieux différentiels utilisés pour une identification constitue une galerie d'identification.

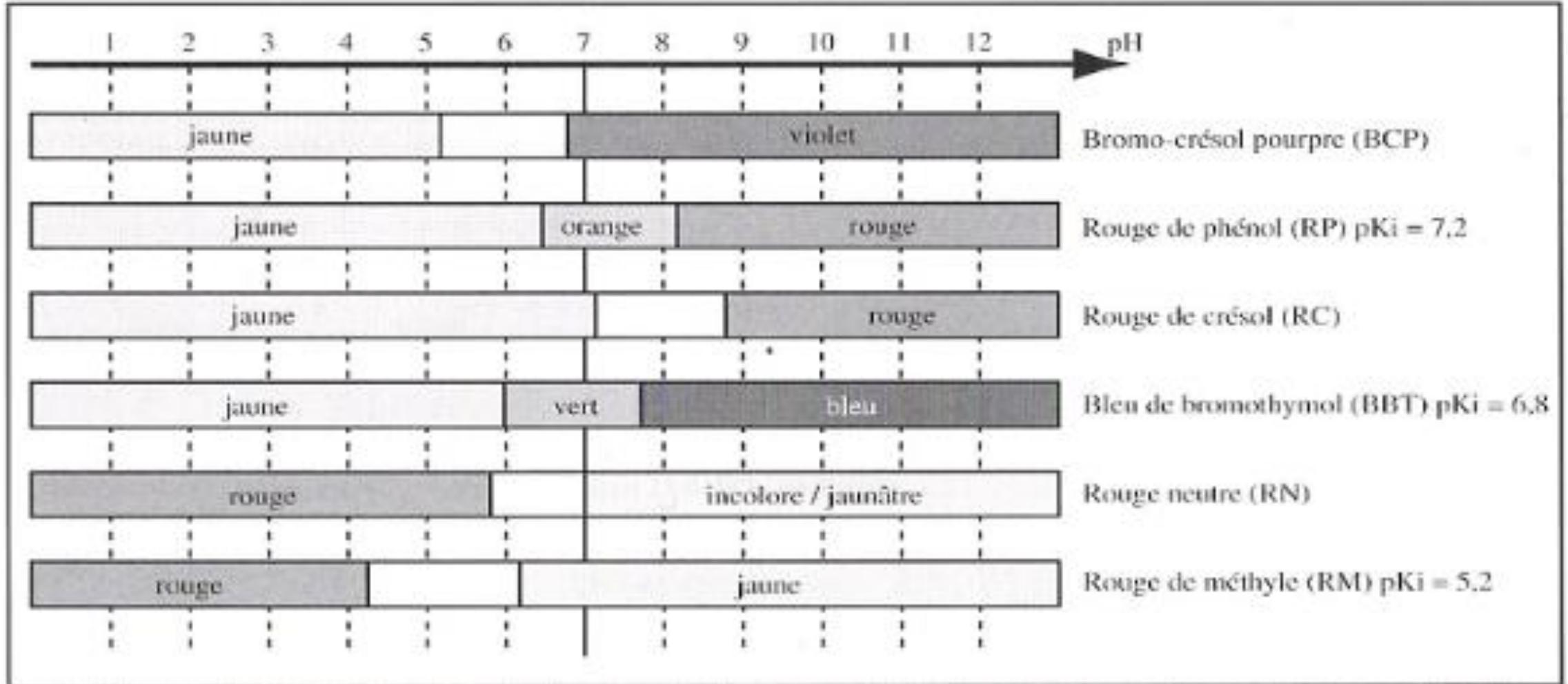
#### 3.3.1. Indicateurs colorés de pH

Un indicateur coloré de  $pH$  est un **couple acide/base conjuguée, faible, de nature organique**, dont les deux formes, acide et base, ont des **couleurs différentes**.



Ils sont caractérisés par leur **zone de virage et les couleurs associées**.

Une teinte intermédiaire est parfois visible dans la zone où les deux formes de l'indicateur de  $pH$  coexistent.



La fermentation des glucides conduit généralement à une acidification des milieux de culture.

La dégradation des protéines conduit à une alcalinisation.

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.3. Notion de milieu d'identification

##### 3.3.2. Indicateurs d'oxydoréduction

Les **indicateurs d'oxydoréduction**, ou **indicateurs rédox**, sont surtout utilisés pour l'étude des **bactéries anaérobies stricts**.

Ils mettent en jeu un couple oxydant/réducteur :



Exemple :

Des bandelettes imprégnées de **bleu de méthylène** permettent de vérifier l'anaérobiose dans une jarre :

- la forme oxydée du bleu de méthylène est bleue.
- la forme réduite du bleu de méthylène est incolore.

Ces indicateurs ont un intérêt plus limité pour l'étude des bactéries aérobies.

### 3. Application à la conception et à l'utilisation de milieux de culture

#### 3.3. Notion de milieu d'identification

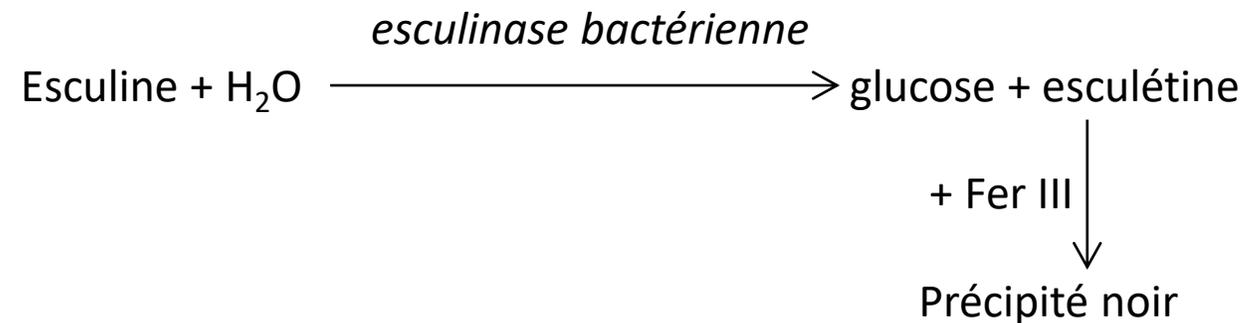
##### 3.3.3. Indicateurs de sulfures

Certaines bactéries produisent des **sulfures**. Cette production peut être un élément de l'identification bactérienne.

L'indicateur essentiel de la présence des sulfures dans le milieu est l'ion Fer II ou III qui réalise un précipité noir de sulfure de fer (II ou III).

##### 3.3.4. Autres indicateurs

Actuellement, d'autres indicateurs sont fréquemment ajoutés, comme le Fer III, pour la mise en évidence de l'hydrolyse de l'esculine dans le milieu BEA (Bile-Esculine-Azide) :



Aujourd'hui, de nombreux milieux utilisés en bactériologie médicale font intervenir différents indicateurs afin de déterminer les espèces bactériennes en fonction des couleurs. Ce sont des **milieux chromogènes**.