

TD 4 : Nutrition et milieux de culture des Bactéries

1. Besoin énergétiques et élémentaires

Les bactéries se multiplient à partir des aliments ou des nutriments présents dans les milieux de cultures. Elles ont toutes à un certain nombre de besoins communs : de l'eau, une source d'énergie, une source de carbone, une source d'azote et des éléments minéraux. Ainsi beaucoup peuvent se développer dans des conditions, par contre d'autres sont complètement incapables car un des métabolites essentiels fait défaut et il faut qu'il soit ajouté dans le milieu pour assurer un développement, on l'appelle facteur de croissance.

Source d'énergie :

Selon la source d'énergie on a deux types des bactéries : les bactéries **Phototrophe** (photosynthétiques) et **Chimiotrophe** (chimiosynthétique) ces bactéries peuvent faire appel à des composés minéraux ou organiques comme source d'électrons ; photolithotrophe ou chimiolithotrophe si la source des électrons est minérale et photoorganotrophe ou chimioorganotrophe si la source des électrons est organiques.

Source de Carbone :

Le carbone est un élément très abondant dans la cellule bactérienne, selon la source de carbone on a : une bactérie **Autotrophe** (capable de se développer dans un milieu inorganique contenant du CO_2), et bactérie **Hétérotrophe** (exige au contraire des composés organiques comme source de carbone).

Source d'Azote :

Pour synthétiser leurs protéines bactériennes, les bactéries ont toujours besoin de substances azotées. Selon l'azote on a : *Rhizobium*, les *Azotobacter* et certains *Clostridium* fixent l'azote atmosphérique. *Nitrobacter* utilise les nitrites, *Nitrosomonas* utilise les nitrates et les sels ammonium. Cette source d'azote peut être enfin organique chez les autres bactéries.

Soufres et Phosphore :

Le soufre est présent dans certains acides aminés et donc dans les protéines sous forme de groupements thiols (-SH). Il est incorporé sous forme de sulfate ou de composé sulfurés inorganiques. Le Phosphore fait partie des acides nucléiques, des coenzymes et de l'ATP. Il est incorporé dans la cellule sous forme de phosphate inorganique.

2. Milieux de culture des bactéries :

Ce sont des milieux très riches en substances organiques permettant une croissance aisée de nombreux micro-organismes. Un milieu de culture doit contenir : Des **nutriments** couvrant les **besoins élémentaires**, les **besoins énergétiques** et les **besoins spécifiques**.

La composition d'un milieu dépend donc du type trophique du micro-organisme à cultiver.

Milieux synthétiques

Préparés exclusivement avec des produits chimiques purs et il a une composition qualitative et quantitative bien définie. Ce type de milieu permet l'étude précise des besoins nutritifs des micro-organismes, donc leur utilisation est particulièrement dans le domaine de la recherche.

Les milieux complexes

Appelés aussi milieux Empiriques, ces milieux sont préparés à partir des produits naturels dont on ne connaît pas la composition avec précision, exemples: extrait de levure (source de vitamine B, A.A.), extrait de malt (source de C), extrait de viande (vitamines B₂ et facteurs de croissance), Peptone (source d'azote organique), Sang (élément nutritif + l'observation des propriétés hémolytiques de certaines bactéries).

Milieux sélectifs

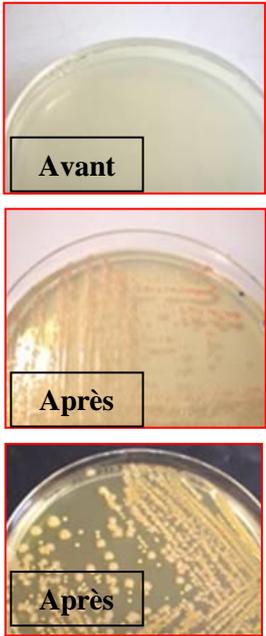
Inhibe la croissance des microbes indésirables et stimule celle des microbes recherchés. Contiennent des agents inhibiteurs (antibiotiques, sels, colorant). Les principaux facteurs de la sélection microbienne utilisés seuls ou en associations sont: température d'incubation, pH du milieu, la faculté d'utiliser une source nutritive déterminée (oxygène, carbone, azote...), la résistance à l'action bactéricide d'un antiseptique ou d'un antibiotique.

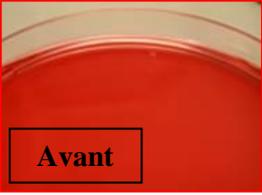
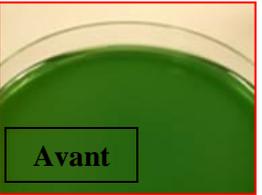
Milieux enrichis

Ils sont utilisés pour la culture des espèces exigeantes sur le plan nutritionnel. Ils sont enrichis par l'adjonction d'extraits d'organes (cœur ou cervelle), de sang (cheval ou mouton), etc.

Exemple: gélose enrichie au sang de mouton (5%) qui permet la croissance de la plupart des bactéries (Gram⁺ et Gram⁻) y compris les plus exigeantes au point de vue nutritionnel.

Exemple de quelques milieux de culture :

Milieux	Aspect du milieu	Mode d'ensemencement	Sélectivité/ composition	Résultats
Gélose Nutritive		Tous les modes d'ensemencement	Ces milieux permettent la culture des bactéries peu exigeantes	- Certaines colonies peuvent avoir des couleurs caractéristiques

<p>Gélose Chapman</p>	 <p>Avant</p>  <p>Après</p>	<p>L'ensemencement doit être massif, en stries serrées ou par inondation</p>	<p>Ce milieu contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75 g/L), ce qui permet un isolement sélectif de <i>Staphylococcus</i> tolérant les fortes concentrations en NaCl</p>	<p>On peut étudier la fermentation du mannitol par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol, autour des colonies.</p>
<p>Gélose Héctoén</p>	 <p>Avant</p>  <p>Après</p>	<p>L'ensemencement doit être massif, en stries serrées ou par inondation</p>	<p>Deux indicateurs sont présents dans le milieu : - le bleu de bromothymol (indicateur de pH) - la fuschine acide</p>	<p>Colonies saumon : <i>Escherichia</i>, <i>Citrobacter Klebsiella</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Serratia</i>, <i>Yersinia</i> Colonies saumon à centre noir : <i>Citrobacter freundii</i>, <i>Proteus vulgaris</i>, Colonies bleu-vert à centre noir : Suspicion de <i>Salmonella</i>.</p>
<p>Gélose MacConkey</p>	 <p>Avant</p>  <p>Après</p>	<p>Isolement par la méthode des cadrans. Incuber 18 à 24 h à 37°C</p>	<p>Ce milieu contient deux inhibiteurs de la flore Gram⁺ : - Les sels biliaires - Le cristal violet</p>	<p>Colonies rouges entourées d'un halo opaque: lactose⁺ colonies jaunes ou incolores : lactose⁻</p>
<p>Gélose SS <i>Salmonella-Shigella</i>.</p>	 <p>Avant</p>  <p>Après</p>	<p>Isolement par la méthode des cadrans. Incuber 18 à 24 h à 37°C.</p>	<p>Le milieu contient 3 inhibiteurs : - sels biliaires, - vert brillant - forte concentration en citrate de sodium. Ceux-ci empêchent la pousse de toutes bactéries Gram⁺, et rendent difficile la croissance des bactéries Gram⁻ autres que <i>Salmonella</i> et <i>Shigella</i></p>	<p>Colonies rouges : lactose + colonies incolores : lactose- colonies à centre noir : H₂S +</p>

<p>Gélose Sabouraud</p>	 	<p>-Transférer l'échantillon à analyser sur le milieu. - Incuber à 20-25°C de 3 à 5 jours.</p>	<p>Chloramphénicol pour éliminer la majorité des bactéries</p>	<p>Recherche des champignons</p>
<p>Gélose au sang cuit</p>	 	<p>- Isolement</p>		<p>C'est un milieu d'isolement enrichi préconisé pour l'étude des Neisseria notamment le méningocoque. Il est aussi utilisé pour la culture de <i>Haemophilus influenza</i>.</p>
<p>Gélose viande foie</p>		<p>Chauffage avant ensemencement pour éliminer tous les formes végétatives des bactéries puis ensemencement en profondeur</p>	<p>Condition de culture en anaérobiose</p>	<p>Rechercher, et dénombrer les spores des bactéries anaérobies sulfito-réductrices et de clostridium sulfito-réducteurs</p>