

Milieux de Culture

Gélose au citrate de Simmons

Utilisation du citrate comme seule de source de carbone.

Composition :

Citrate de sodium 1g; Bleu de bromothymol; NaCl 5g; MgSO₄ 0,2g; K₂HPO₄ 1g; NH₄H₂PO₄ 1g; Agar 15g

Utilisation:

Gélose en pente (sans culot).

Ensemencer la pente à l'aide d'une anse de culture prélevée sur milieu solide ou d'une suspension en eau physiologique.

Ne pas ensemencer à partir d'un bouillon. Ne pas visser à fond (aérobiose nécessaire). Incuber à 37°C 1 à 4 jours.

Lecture :

→ Citrate + : pousse avec alcalinisation du milieu

→ Citrate - : pas de pousse, le milieu reste inchangé.

Remarque: si pousse faible et pas de virage au bleu: la durée d'incubation peut-être insuffisante. Prolonger jusqu'à 4 jours.

Milieu de Clark et Lubs

Étude du type de fermentation du glucose: test VP et RM.

Composition en g.L⁻¹ :

Peptones 5g; Glucose 5g; K₂HPO₄ 5g; pH = 7,5

Milieu liquide à ensemencer avec quelques gouttes de suspension. Incuber 24h à 37°C.

Lecture :

Transvaser un peu du milieu dans un tube à hémolyse:

→ RM : ajouter quelques gouttes de rouge de méthyle

milieu rouge: RM +

milieu inchangé (orange à jaune): RM -

→ VP: ajouter au reste du milieu quelques gouttes de soude (ou potasse) et d'α-naphtol. Incliner le tube et attendre au moins 15min.

VP + : coloration rouge en surface

VP - : rien

Milieu Mannitol Mobilité Nitrate

Caractères lus: utilisation du mannitol, mobilité en gélose semi-molle, recherche des nitrates réductases

Composition (g.L⁻¹) :

Peptone tryptique de caséine 10g; mannitol 7,5g; rouge de phénol à 1% 4mL; nitrates de potassium 1g; agar 3,5g.

Utilisation :

Ensemencer par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée.

Lecture :

Rappel :

La présence de nitrites est révélée par une coloration rouge lors de l'ajout des réactifs nit 1 et nit 2.

La poudre de zinc réduit les nitrates en nitrites.

Milieu de Hajna Kligler

Milieu utilisé principalement pour l'identification des bactéries à métabolisme fermentaire.

Caractères lus: utilisation du glucose, du lactose, production d'H₂S, production de gaz.

Composition (g.L⁻¹) :

Peptone 20g; extrait de viande 3g; extrait de levure 3g; glucose 1g; lactose 10g; rouge de phénol; NaCl

5g; sulfate de fer 0,2g; thiosulfate de sodium 0,3; agar 11g.

Utilisation :

Gélose avec pente et culot.

Ensemencer la pente avec des stries ou par inondation, puis le culot par piqûre centrale à partir d'une suspension. Ne pas visser à fond. Incuber 18 à 24h à 37°C (pas plus).

Milieu Urée-Indole

Composition (g.L⁻¹) :

L-tryptophane 3g; phosphate monopotassique 1g; phosphate bipotassique 1g; chlorure de sodium 5g; urée 20g; alcool à 95°C 10mL; rouge de phénol 25mg.

Lecture :

Lire directement l'utilisation de l'urée qui se traduit par une alcalinisation du milieu.

La présence d'une TDA libère l' α -céto-acide correspond qui donne un précipité marron en présence de chlorure de fer III.

L'indole est révélé par le réactif de Kovacs (coloration orange en surface, car l'indole formé est un composé apolaire et soluble seulement dans le solvant organique présent dans le réactif).

BCP Lactosée

Gélose de base + lactose + bromocrésol pourpre

Bouillon LDC

Composition (en g/L) :

Extrait de levure 3g; Glucose 1g; NaCl 5g; Bromocrésol pourpre 1mL; (solution à 1,6%) pH = 6,4 ; + acide aminé à 0,5% (avant la stérilisation)

Le tube LDC témoin ne contient pas d'acides aminés.

Lecture :

Le glucose dans un premier temps mais rapidement épuisé. L'utilisation de l'acide aminé nécessite la présence d'une décarboxylase se traduit par la libération d'une aminé.

Gélose LB : Luria Bertoni

tryptone 10g; extrait de levure 5g; NaCl 10g; agar 15g (gélose en boîte) ou 4g (top agar).

Gélose Drigalski

Extrait de viande 3g; extrait de levure 3g; peptone 15g; thiosulfate de sodium 1g; désoxycholate de sodium 1g; lactose 15g; cristal violet 0,005g; Bleu de Bromothymol 0,08g; agar 11g; pH = 7,4 à 7,5