

1) Introduction :

L'examen microscopique n'est pas suffisant pour caractériser et identifier un germe, le plus souvent on a recours à l'ensemencement de l'échantillon à examiner ou le microbe sur des milieux de culture.

2) Milieux de culture :

Leur composition est variable d'un milieu à un autre

* Milieux empiriques :

des milieux dont la composition chimique n'est pas bien définie, l'exemple le plus simple et celui du bouillon nutritif, qui comprend de l'extrait de viande de bœuf, de la peptone, du chlorure de sodium et de l'eau. Ce milieu permet la préparation des autres milieux.

* Milieux synthétiques :

Leur composition est connue, ils sont utilisés dans un but diagnostique. Exemple milieu de citrate de simmons

* Milieux sélectifs et d'enrichissement :

Sont des milieux solides pour les premiers et liquides pour les seconds, en pratique médicale ces milieux sont utilisés pour favoriser la croissance des microorganismes pathogènes aux dépens des espèces saprophytes, fréquemment présentes dans les produits soumis à l'analyse. Pour sélectionner l'agent responsable de la maladie, on a recours à des agents sélectifs ou des antibiotiques. Exemple le chlorure de sodium à la concentration de 7,5% permet la croissance des staphylocoques, l'azide de sodium inhibe la croissance de tous les bacilles à Gram positif et enrichit la culture des streptocoques fécaux, le milieu liquide au sélénite de sodium s'oppose au développement des bactéries à Gram positif et favorise celui de *Salmonella* dans les coprocultures.

La gélose ordinaire additionnée de 5% de sang (mouton ou cheval) permet la croissance des streptocoques. Cette gélose au sang peut être sélective par addition d'aminosides pour favoriser par exemple l'isolement du streptocoque beta hémolytique du groupe A à partir de la gorge et ce de *Streptococcus agalactiae* à partir des prélèvements vaginaux.

La gélose au sang cuit ou gélose chocolat permet la croissance des bactéries plus exigeantes comme *Haemophilus influenzae* qui exige le facteur V (nicotinamide) et le facteur X (hémine).

* Milieux d'isolement :

Sont des milieux solides sur lesquels de nombreuses espèces bactériennes peuvent se développer, la gélose nutritive est le milieu le plus connu, elle est préparée à partir d'un bouillon nutritif et d'un agent de solidification ; l'agar ou la gélose. Les bactéries disséminées à la surface d'une gélose nutritive forment autant de colonies qu'ils y avaient initialement de cellules dans l'échantillon, chaque colonie, lorsqu'elle est bien séparée de ses voisines peut être prélevée et inoculée dans un milieu unique donnant naissance à une culture pure. Les milieux sélectifs solides sont de plus en plus utilisés parce qu'ils facilitent et accélèrent la recherche d'une espèce bactérienne dans un prélèvement plurimicrobien

* Milieux d'identification :

Ils sont appelés ainsi parce qu'ils servent à mettre en évidence une ou plusieurs propriétés chez un microorganisme précédemment isolé. Certains de ces milieux permettent de rechercher l'utilisation ou la fermentation d'un sucre, la formation d'indole, d'acétylméthylcarbinol (acétoïne) ; d'autres servent à démontrer la présence d'une enzyme (décarboxylase, désaminase, gélatinase, nitratase, hémolysine).

3. Caractères culturels :

L'aspect macroscopique des cultures sur milieu solide constitue encore une part importante de l'identification d'un micro-organisme. Les bactéries peuvent donner sur milieux de cultures trois types de colonies.

* **Colonies S** : sont des colonies lisses ou (smooth), elles ont un contour régulier, une surface lisse et correspondent à des bactéries virulentes isolées surtout en primo-culture. Ces bactéries ont un LPS complet.

* **Colonies M** : sont des colonies muqueuses ayant un aspect gras et coulant (exemple : *Klebsiella*).

* **Colonies R** : sont des colonies rugueuses ou (rough) à surface irrégulière. Elles correspondent à des bactéries devenues moins virulentes ou avirulentes parce qu'elles ont perdu une partie de leur LPS. Les colonies de *Mycobacterium tuberculosis* et *Bacillus anthracis* font l'exception ; elles sont rugueuses mais ces bactéries sont virulentes.