

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Salah BOUBNIDER – Constantine**

**Faculté de Médecine**  
**Département de Pharmacie**



Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de

**DOCTEUR EN PHARMACIE**

# **LES MILIEUX DE CULTURE EN BACTERIOLOGIE**

**Encadré par:**

➤ Dr. ALLAG.H  
Maitre Assistant en  
Microbiologie

**Présenté par :**

- BOUCHELOUKH Inchirah  
- CHEBBAH Ibtissem  
- GRABSI Kaoutar  
- HARBI Hanene

**Membre de jury:**

➤ Dr. ZEKRI.S  
➤ Dr. BASLI.H

**Année universitaire: 2021-2022**

## Table des matières

Liste des figures.....	VIII
Liste des tableaux.....	X
Liste des abréviations.....	XI
Introduction générale.....	1
1 Historique.....	3
2 Les composants chimiques des milieux de culture .....	7
2.1 Nutriment .....	8
2.2 Facteurs de croissances.....	9
2.3 Substances plus ou moins facultatives .....	9
2.4 Produits biologiques .....	11
3 Préparation des milieux de culture .....	13
4 Classification des milieux de culture.....	18
4.1 Classification selon la composition chimique.....	18
4.1.1 Milieux naturels ou empiriques.....	18
4.1.2 Milieux synthétiques .....	19
4.1.3 Milieux semi-synthétiques.....	20
4.2 Classification selon leur nature physique .....	20
4.2.1 Milieu de culture liquide.....	20
4.2.2 Milieu de culture gélosé ou solide .....	20
4.2.3 Milieu semi –solide, semi-liquide ou faiblement gélosé .....	20
4.2.4 Milieu bi-phasique.....	20
4.3 Classification Selon l’Utilisation .....	21
4.3.1 Milieux Ordinaire (de base).....	21
4.3.1.1 Le Bouillon Nutritif .....	21
4.3.1.2 Gélose Nutritif.....	22
4.3.2 Milieux sélectif .....	23
4.3.2.1 Milieu Chapman (MSA) .....	24
4.3.2.2 Milieu Hektoen.....	25
4.3.2.3 Milieu Dirgalski:.....	27
4.3.2.4 Milieu Mac Conkey .....	28

4.3.2.5	Gélose SS .....	29
4.3.2.6	Milieu Gélose au Cétrimide .....	30
4.3.2.7	Milieu Loweinstein Jensen.....	31
4.3.3	Milieux non sélectifs enrichis .....	33
4.3.3.1	Gélose au sang frais .....	33
4.3.3.2	Gélose chocolat, gélose au sang cuit .....	36
4.3.3.3	Milieux enrichis avec divers liquides biologiques .....	39
4.3.4	Milieux non selective, non enriches .....	40
4.3.4.1	Gélose CLED .....	40
4.3.4.2	Gélose BCP .....	43
4.3.5	Milieu Electif .....	44
4.3.6	Milieux d'enrichissement .....	44
4.3.6.1	Le bouillon cœur-cervelle .....	45
4.3.6.2	Bouillon glucosé tamponnée .....	46
4.3.6.3	Bouillon SELENITE CYSTINE.....	47
4.3.6.4	Eau peptonée alcaline .....	47
4.3.7	Milieux de culture pour l'identification .....	49
4.3.7.1	Les testes biochimiques utilisés couramment « Galerie classique » .....	50
4.3.7.1.1	Gélose viande-foie .....	50
4.3.7.1.2	Bouillon nitraté.....	51
4.3.7.1.3	Mannitol-mobilité.....	52
4.3.7.1.4	Milieu Clark et Lubs.....	53
4.3.7.1.5	Milieu urée –indole .....	55
4.3.7.1.6	Milieu TSI (trois sucres et fer)/Triple Suger Iron .....	58
4.3.7.1.7	Milieu MEVAG (milieu de Hugh et Leifson) .....	59
4.3.7.1.8	Citrate de Simmons .....	61
4.3.7.2	Microméthodes, Galeries miniaturisées .....	62
4.3.8	Milieu pour l'antibiogramme: .....	69
4.3.9	Milieux de conservation: .....	71
4.3.10	Milieux chromogènes .....	72

4.4	Classification selon le mode de stérilisation.....	76
5	Qualité exigibles d'un milieu de culture.....	77
6	Contrôle de qualité des milieux de culture .....	78
	Conclusion générale.....	79
	Références bibliographiques	
	Annexes	
	Résumé	
	Abstract	
	ملخص	

## Résumé

Un milieu de culture est une préparation solide ou liquide au laquelle les microorganismes peuvent se multiplier en leur apportant les exigences nutritives à la survie des bactéries, il doit par ailleurs posséder les propriétés physico-chimiques convenant à une culture optimale (pH, isotonicité, potentiel oxydoréduction).

Les travaux de Pasteur et Koch ont conduit à l'emploi des milieux de culture pour cultiver les germes. Robert Koch réussit à isoler *Bacillus anthracis* de charbon dans les dix années qui suivent et par l'emploi systématique des milieux de culture solide, la plupart des bactéries pathogènes peuvent être isolées et obtenues en culture pure.

La composition d'un milieu de culture varie, elle est choisie en fonction du but à atteindre et des besoins requis par la bactérie.

La préparation d'un milieu de culture peut se faire soit à partir d'une poudre lyophilisée, soit directement prêt à l'emploi, l'on peut couler telle quelle, ou l'enrichir en boîtes de Pétri.

Il existe une grande variété des milieux de culture selon leur composition chimique (synthétique, empirique, semi-synthétique), selon leur nature physique (milieux liquide, solide, semi-solide, biphasique), selon leur utilisation soit: pour isoler les bactéries du milieu qu'il est contenu, pour les identifier, pour étudier les propriétés (sensibilité aux antibiotiques) éventuellement pour conserver.

Pour s'assurer que les milieux sont de bonne qualité et capables de donner des résultats satisfaisants un système de gestion de la qualité approprié est essentiel.

Avec la multiplication des analyses bactériologiques se sont développés des systèmes permettant d'associer rapidité, reproductibilité: les galeries API, les milieux chromogènes.

**Mots clés:** Milieu de culture, bactérie, empirique, isoler, identifier, galerie API, milieux chromogènes.

## **Abstract**

A culture medium is a solid or liquid preparation in which microorganisms can multiply by providing them with the nutrient requirements for bacterial survival. It must also have the physico-chemical properties suitable for optimal cultivation (PH, isotonic, redox potential).

The work of Pasteur and Koch led to the use of culture media to cultivate germs. Robert Koch succeeded in isolating bacillus from anthrax within ten years and through the systematic use of solid culture media, most pathogenic bacteria can be isolated and obtained in pure culture.

The composition of a culture medium varies and is chosen according to the purpose and requirements of the bacteria.

The preparation of a culture medium can be done either from a freeze-dried powder, or directly ready to use, it can be poured as is, or enriched in Petri dishes.

There is a great variety of culture media according to their chemical composition (synthetic, empirical, semi-synthetic), according to their physical nature (liquid, solid, semi-solid, biphasic media), according to their use, i.e. to isolate bacteria from the medium it contains, to identify them, to study their properties (antibiotic sensitivity), and possibly to preserve them.

To ensure that media are of good quality and capable of giving satisfactory results an appropriate quality management system is essential.

With the increase in bacteriological analyses, systems have been developed that combine speed and reproducibility: API System, chromogenic media.

**Keywords:** culture medium, bacterial, empirical, isolate, identify, API System, chromogenic media.

## ملخص

وسط الاستزراع عبارة عن مستحضر صلب أو سائل يمكن أن تتكاثر فيه الكائنات الحية الدقيقة من خلال تزويدها بالمتطلبات الغذائية لبقاء البكتيريا ، كما يجب أن تتمتع أيضاً بالخصائص الفيزيائية والكيميائية المناسبة للتكاثر الأنسب (معدل الحموضة، التوتر، الأكسدة).

أدى عمل باستور وكوخ إلى استخدام وسائط الاستزراع لزراعة الجراثيم. نجح روبرت كوخ في عزل العصيات من الجمرة الخبيثة في غضون عشر سنوات ، ومن خلال الاستخدام المنتظم لوسائل الاستزراع الصلبة ، يمكن عزل معظم البكتيريا المسببة للأمراض والحصول عليها في مزرعة نقية.

يختلف تكوين وسط الاستزراع ، ويتم اختياره وفقاً للهدف المراد تحقيقه والاحتياجات التي تتطلبها البكتيريا.

يمكن تحضير وسط استزراع إما من مسحوق مجفف بالتجميد ، أو جاهز للاستخدام مباشرة ، ويمكن سكبها كما هو ، أو إثرائه في أطباق بنري.

توجد مجموعة متنوعة من وسائط الاستزراع وفقاً لتركيبها الكيميائي (التركيب ، التجريبي ، شبه اصطناعي) ، وفقاً لطبيعتها الفيزيائية (سائل ، صلب ، شبه صلب ، وسط ثنائي الطور) ، وفقاً لاستخدامها إما: لعزل البكتيريا من البيئة التي تحتوي عليها ، للتعرف عليها ، لدراسة الخصائص (حساسية المضادات الحيوية) التي يمكن الاحتفاظ بها.

لضمان أن تكون الوسائط ذات نوعية جيدة وقادرة على إعطاء نتائج مرضية، من الضروري وجود نظام إدارة جودة مناسب.

مع انتشار التحليلات البكتريولوجية ، تم تطوير أنظمة للجمع بين السرعة وقابلية التكاثر: نظام API، الوسائط الصبغية.

## الكلمات المفتاحية:

وسط الاستزراع، البكتيريا، التجريبي، لعزل البكتيريا ، للتعرف عليها، نظام API، الوسائط الصبغية.



BOUCHLOUKH Inchirah ; CHEBBAH Ibtissem

GRABSI Kaouter ; HARBI Hanene

## MILIEUX DE CULTURE EN BACTERIOLOGIE

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de

### DOCTEUR EN PHARMACIE



#### Résumé

Un milieu de culture est une préparation solide ou liquide au laquelle les microorganismes peuvent se multiplier en leur apportant les exigences nutritives à la survie des bactéries, ils doivent par ailleurs posséder les propriétés physico-chimiques convenant à une culture optimale (PH, isotonicité, potentiel oxydoréduction).

Les travaux de Pasteur et Koch ont conduit à l'emploi des milieux de culture pour cultiver les germes. Robert Koch réussit à isoler bacillus de charbon dans les dix années qui suivent et par l'emploi systématique des milieux de culture solide, la plupart des bactéries pathogènes peuvent être isolées et obtenues en culture pure.

La composition d'un milieu de culture varie, elle est choisie en fonction du but à atteindre et des besoins requis par la bactérie.

La préparation d'un milieu de culture peut se faire soit à partir d'une poudre lyophilisée, soit directement prêt à l'emploi, l'on peut couler telle quelle, ou l'enrichir en boîtes de Pétri.

Il existe une grande variété des milieux de culture selon leur composition chimique (synthétique, empirique, semi-synthétique), selon leur nature physique (milieux liquide, solide, semi-solide, bi-phasique), selon leur utilisation soit: pour isoler les bactéries du milieu qu'il est contient, pour les identifier, pour étudier les propriétés (sensibilité des antibiotiques) éventuellement pour conserver.

Pour s'assurer que les milieux sont de bonne qualité et capable de donner des résultats satisfaisants un système de gestion de la qualité approprié est essentiel.

Avec la multiplication des analyses bactériologiques se sont développés des systèmes permettant d'associer rapidité, reproductibilité: les galeries API, les milieux chromogènes.

**Mots clés:** Milieu de culture, bactérie, empirique, isoler, identifier, galerie API, milieux chromogènes.

**Directeur de thèse:** Docteur Hamoudi ALLAG

**Année universitaire:** 2021/2022