

## TP N°1 : préparation des milieux de culture pour analyses microbiologiques

### Introduction :

Le but de ce TP est de préparer des milieux de culture qui vont servir à l'isolement de quelques micro-organismes (bactéries et *Fungi*) présents dans le petit-lait (*l'ben*) et dans le yaourt.

### Mode opératoire :

Préparation des milieux de culture :

- **eau peptonnée** : est un milieu utilisé comme diluant et bouillon d'enrichissement nutritif pour la réanimation et la croissance d'une grande variété de microorganismes, notamment *Cronobacter*, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* et *Salmonella*, dans tous les produits alimentaires.
  - dissoudre 10 g de peptone et 8,5 g de NaCl dans un litre d'eau distillée,
  - bien mélanger,
  - stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.
- **gélose MRS (deMan, Rogosa, Sharpe)** : est un milieu qui permet la culture et l'isolement des bactéries lactiques (*Lactobacillus*).
  - peser 62 g par litre d'eau distillée,
  - faire bouillir 2 minutes,
  - stériliser à l'autoclave.
- **gélose DCLA (Désoxycholate Citrate Lactose Agar)** : est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des bactéries coliformes dans les eaux, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.
  - dissoudre 50 g dans un litre d'eau distillée stérile,
  - faire bouillir 2 minutes,
  - Ne pas autoclaver.
- **gélose Chapman** : est un milieu d'isolement sélectif utilisé pour la recherche des *Staphylococcus*.
  - mettre 111 grammes de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée,
  - mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène.
  - chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète,
  - stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes.
- **gélose Sabouraud** : est un milieu d'isolement des *Fungi* (moisissures et levures).
  - dissoudre 20 g de glucose, 10 g de peptone, 3 g d'extrait de levure, et 20 g de l'agar dans un litre d'eau distillée,
  - faire bouillir 2 minutes,
  - stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave.