

**ANNEXE G**Glossaire des milieux
janvier 2006**GLOSSAIRE DES BOUILLONS, GÉLOSES ET AUTRES RÉACTIFS****SECTION O**

O-Nitrophenyl-beta-D-galactoside (ONPG) [O-Nitrophényl-beta-D-galactoside (ONPG)]	
Solution de phosphate monosodique, 1,0 M	
Phosphate monosodique (NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O)	6,9 g
Eau distillée	45,0 ml
Hydroxyde de sodium (NaOH 30% p/v)	3,0 ml
pH 7,0	
ONPG	
ONPG	80,0 g
Eau distillée	15,0 ml
Solution de phosphate monosodique	5,0 ml

Milieu complet:

Solution de phosphate monosodique: Ajouter le phosphate monosodique à l'eau distillée et agiter pour dissoudre. Ajouter le NaOH et ajuster le pH à 7,0. Porter le volume à 50,0 ml avec l'eau distillée et réfrigérer.

ONPG: Dissoudre l'ONPG dans l'eau distillée réchauffée (37°C) et ajouter la solution de phosphate monosodique. La solution devrait être incolore. Conserver au réfrigérateur. Avant d'utiliser, réchauffer à 37°C le volume de solution d'ONPG requis.

Orange Serum Agar (OSA) [Gélose au sérum et à l'orange]	
Milieu de base	
Tryptone ou trypticase	10,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Dextrose	4,0 g
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	2,5 g

Gélose	17,0 g
Cystéine	0,001 g
Sérum à l'orange	200 ml
Eau distillée	800 ml
pH 5,5 ± 0,2	
Sérum à l'orange	
Jus d'orange fraîchement pressé ou concentré de jus d'orange congelé reconstitué	1,0 L
Adjuvant de filtration	30,0 g

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 800 ml d'eau distillée. Chauffer jusqu'à ébullition avec agitation constante pour dissoudre tous les ingrédients. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Ne pas surchauffer car ceci pourrait donner un milieu ramolli.

Sérum à l'orange: Préparer le sérum à l'orange en faisant chauffer 1,0 L de jus d'orange fraîchement pressé ou de concentré de jus d'orange congelé reconstitué, jusqu'à ce que la température atteigne environ 93°C (200°F). Ajouter 30,0 g "d'adjuvant de filtration" et mélanger soigneusement. Filtrer par succion dans un entonnoir Buchner sur un papier filtre recouvert au préalable « d'adjuvant de filtration ». Jeter les premiers millilitres de sérum filtré.

Oxford Agar (OXA) [Gélose Oxford]	
Milieu de base	
Milieu de gélose au sang Columbia	39,0 g
Esculine	1,0 g
Citrate d'ammonium et de fer	0,5 g
Chlorure de lithium (LiCl)	15,0 g
Gélose	2,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	
Supplément par 10 ml (disponible dans le commerce)	
Cycloheximide	400 mg
Sulfate de colistine	20,0 mg
Acridavine	5,0 mg
Céfotétan	2,0 mg
Fosfomycine	10,0 mg

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Chauffer jusqu'à ébullition avec agitation constante pour dissoudre les ingrédients. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes et laisser refroidir à 45-50 °C. Ajouter aseptiquement 10 ml de supplément et répartir. Entreposer au réfrigérateur dans l'obscurité (l'acriflavine peut être photo-oxydé et former des composés inhibiteurs pour les *Listeria* spp.).

Supplément: Dissoudre les ingrédients du supplément dans 10 ml d'un mélange 1:1 d'éthanol et d'eau distillée. Stériliser par filtration.

Oxidase Reagent [Réactif pour l'épreuve de l'oxidase]	
Milieu de base	
N,N,N',N'-Tétraméthyl-p-phénylènediamine.2HCl	1,0 g
Eau distillée	100 ml

Milieu complet:

Le réactif peut être conservé jusqu'à sept jours s'il est gardé réfrigéré dans une bouteille de verre foncé; sinon, il faut l'utiliser le jour même de la préparation.

Alternative: L'épreuve de l'oxidase peut être effectuée à l'aide d'une solution composée de chlorhydrate de N,N-diméthyl-p-phénylènediamine à 1 %.

Oxidative-Fermentative (OF) Glucose Media , Semisolid [Milieu glucosé oxydant-fermentatif (OF), semi-solide]	
Milieu de base	
Tryptone	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	0,3 g
Bleu de bromothymol	0,03 g
Gélose	2,0 g
Glucose	10,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 6,8 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Chauffer jusqu'à ébullition avec agitation constante pour dissoudre les ingrédients. Répartir en portions de 5 ml et stériliser à 121°C pendant 15 minutes.

Note : Pour les *Vibrio* spp. halophiles, ajouter 15,0 g de NaCl supplémentaire (concentration finale de 2 % de NaCl).

Note : Pour utiliser le milieu OF avec des glucides autres que le glucose, préparer le milieu sans glucose dans 900 ml d'eau distillée, stériliser à l'autoclave tel que décrit ci-dessus et laisser refroidir à 45-50°C. Ajouter au milieu de base 100 ml d'une solution de glucide à 10% stérilisée par filtration et répartir.

Oxytétracycline Glucose Yeast Extract Agar (OGYE) [Gélose oxytétracycline, glucose et extrait de levure]	
Milieu de base	
Extrait de levure	5,0 g
Dextrose	20,0 g
Gélose	12,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,0 ± 0,2	
Supplément oxytétracycline GYE (disponible dans le commerce)	
Oxytétracycline	0,1 g
Eau distillée	10,0 ml

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Chauffer jusqu'à ébullition avec agitation constante pour dissoudre tous les ingrédients. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes et refroidir à 45-50°C. Ajouter de façon aseptique la solution stérile d'oxytétracycline et mélanger soigneusement. Répartir dans des boîtes de Pétri.

Supplément: Ajouter l'oxytétracycline à l'eau distillée et porter le volume à 10,0 ml. Mélanger soigneusement et stériliser par filtration.