

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

<b>Lactose Broth (LAC) [Bouillon au lactose]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Extrait de boeuf	3,0 g
Peptone	5,0 g
Lactose	5,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 6,9 ± 0,2	

**Milieu complet:**

Dissoudre les ingrédients dans l'eau distillée. Répartir et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

<b>Lactose Gelatin (LG) [Gélatine lactosée]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Tryptose	15,0 g
Extrait de levure	10,0 g
Lactose	10,0 g
Rouge de phénol (solution à 1% dans l'éthanol à 95%)	5,0 mL
Gélatine *	120 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,5 ± 0,2.	
* On a constaté que certaines sources de gélatine ont donné des résultats insatisfaisants. Le contrôle de la qualité est important pour assurer que la gélatine utilisée est satisfaisante.	

**Milieu complet:**

Chauffer le tryptose, l'extrait de levure et le lactose dans 400 mL d'eau distillée afin de dissoudre. Suspendre la gélatine dans 600 mL d'eau et chauffer à 50-60°C tout en agitant constamment pour dissoudre. Mélanger les 2 solutions et ajuster le pH à 7,5 ± 0,2. Ajouter le rouge de phénol et mélanger. Répartir dans des

éprouvettes munies d'un bouchon qui visse et stériliser à 121 °C pendant 10 minutes. Si le milieu n'est pas utilisé en dedans de 8 heures, éliminer l'air en chauffant à 50-70 °C pendant 2 à 3 heures ou en chauffant pendant 10 minutes dans un bain d'eau bouillante ou à la vapeur.

<b>Lauryl Sulfate Tryptose (LST) Broth [Bouillon au lauryl-sulfate et tryptose (LST)]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Tryptose, tryptone ou trypticase	20,0 g
Lactose	5,0 g
Phosphate dipotassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2,75 g
Phosphate monopotassique (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2,75 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Lauryl-sulfate de sodium	0,1 g
Eau distillée	1,0 L
pH 6,8 ± 0,2	

**Milieu complet:**

Dissoudre les ingrédients dans 1,0 L d'eau distillée (dans 500 mL une double concentration est requise) et répartir en volumes de 10 mL dans des éprouvettes contenant des ampoules de Durham. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

<b>LB Agar, Miller (Luria-Bertani) Agar [Gélose LB, Gélose Miller (Luria-Bertani)]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Tryptone	10,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	10,0 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,5 ± 0,2	

**Milieu complet:**

Suspendre les ingrédients dans l'eau et porter à ébullition pour dissoudre complètement. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes, laisser refroidir à 45-50 °C et verser dans des boîtes de Pétri.

<b>Levine's Eosin Methylene Blue (L-EMB) Agar [Gélose à l'éosine et au bleu de méthylène de Levine]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Peptone	10,0 g
Lactose	10,0 g
Phosphate dipotassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2,0 g
Gélose	15,0 g
Éosine Y	0,4 g
Bleu de méthylène	0,065 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,1 ± 0,2	

**Milieu complet:**

Ajouter tous les ingrédients à l'eau distillée. Porter à ébullition pour dissoudre complètement. Mélanger soigneusement, distribuer de la façon requise (habituellement en volumes de 100 à 200 mL) et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Éviter de surchauffer car la gélose risque de ramollir et de ne plus convenir à l'ensemencement. Lorsque la gélose doit servir de milieu d'ensemencement, il faut la faire fondre à la vapeur ou à l'eau bouillante. Faire tourner doucement le contenu du flacon pour distribuer le précipité flocculant et verser une couche épaisse dans des boîtes de Pétri. Continuer de faire tourner le contenu, par intermittence, tout en versant dans les boîtes. Assécher complètement la surface. Une surface sèche est propice à la croissance de colonies individuelles distinctes et permet une meilleure différenciation. On peut entreposer les boîtes à une température de 2 à 7 °C, dans l'obscurité, pendant un mois. Incuber quelques boîtes non ensemencées dans le cadre des vérifications de contrôle de la qualité.

La gélose EMB de Levine ne contient pas de sucrose mais contient plus de lactose, ce qui permet de bien différencier *Escherichia coli* d'*Enterobacter aerogenes*. Les colonies de coliformes ont habituellement un centre sombre et un reflet métallique verdâtre.

<b>Listeria Enrichment Broth (LEB) (UVM formulation) [Bouillon d'enrichissement Listeria (LEB) (formulation UVM)]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Protéose peptone	5,0 g
Tryptone	5,0 g
Extrait de boeuf	5,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	20,0 g
Phosphate monopotassique (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1,35 g
Phosphate disodique (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	12,0 g
Esculine	1,0 g
Eau distillée	1,0 L

pH 7,4 ± 0,2	
<b>Supplément UVM 1 (disponible dans le commerce) pour 500 mL de bouillon</b>	
Acide nalidixique	10,0 mg
Acriflavine	6,0 mg
Eau distillée stérile	2,0 mL
<b>Supplément UVM 2 (disponible dans le commerce) pour 500 mL de bouillon</b>	
Acide nalidixique	10,0 mg
Acriflavine	12,5 mg
Eau distillée stérile	2,0 mL

**Milieu complet:**

Suspendre les ingrédients dans 1,0 L d'eau distillée. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes et laisser refroidir à 50 °C. Ajouter, de façon aseptique, le supplément UVM 1 ou UVM 2 stérilisé par filtration à 500 mL de base de gélose refroidie (doubler la quantité pour 1,0 L). Mélanger soigneusement et distribuer. Entreposer le milieu au réfrigérateur (2-7 °C) à l'obscurité jusqu'à un mois (l'acriflavine peut être photo-oxydé formant ainsi des composés inhibiteurs pour les *Listeria* spp.).

<b>Lithium Chloride-Phenylethanol-Moxalactam Medium (LPM)</b> <b>[Milieu au chlorure de lithium-phényléthanol-moxalactame]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Glycine anhydre	10,0 g
Chlorure de lithium (LiCl)	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Hydrolysât pancréatique de caséine	5,0 g
Hydrolysât peptique de tissu animal	5,0 g
Extrait de boeuf	3,0 g
Alcool phényléthylique	2,5 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,3 ± 0,2	
<b>Supplément</b>	
Moxalactame (sel d'ammonium ou de sodium)	1,0 g
Tampon au phosphate de potassium, 0,1 M, pH 6,0	100 mL

**Milieu complet:**

Stériliser le milieu de base à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50 °C et ajouter 2,0 mL de

solution de moxalactame. Mélanger soigneusement. Couler dans des boîtes de Pétri à raison de 12-15 mL par boîte et conserver à 4 °C. Le milieu de base ne peut pas être préparé à l'avance pour ensuite être réchauffé.

**Supplément:**

Stériliser par filtration. La solution de moxalactame peut être conservée congelée en volumes de 2 mL.

<b>Liver Veal Agar (LVA) [Gélose au foie de veau]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Infusion de foie de boeuf	50,0 g
Infusion de veau	500 g
Gélatine	20,0 g
Protéose peptone	20,0 g
Hydrolysât enzymatique de protéine	1,3 g
Hydrolysât pancréatique de caséine	1,3 g
Dextrose	5,0 g
Amidon soluble	10,0 g
Caséine	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Nitrate de sodium	2,0 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,3 ± 0,2	

**Milieu complet:**

Ajouter les ingrédients à l'eau distillée. Mélanger soigneusement, chauffer doucement et porter à ébullition. Distribuer de façon à assurer que chaque aliquote contient des particules de foie et des veau. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

<b>Liver Veal Egg-yolk Agar [Gélose au foie de veau et jaune d'oeuf]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Base de gélose au foie de veau - voir LVA ci-dessus.	

**Milieu complet:**

Émulsion de jaune d'oeuf\*

Faire tremper des œufs propres non cassés dans de l'éthanol à 80 % pendant 10 minutes; les enlever avec

une cuillère et éliminer l'alcool à la flamme. Casser les œufs avec précaution, jeter le blanc, briser le sac vitellin, prélever au moins 10 mL de jaune avec une pipette à large ouverture, en évitant de toucher la chalaze (filament qui maintient le jaune) et transférer dans une bouteille stérile. Ajouter un volume égal de solution saline (NaCl à 0,85 %) et mélanger.

Milieu complet:

Ajouter 80 mL de l'émulsion de jaune d'œuf par litre de base de gélose. Mélanger doucement et verser dans des boîtes de Pétri.

\* Les émulsions de jaune d'œuf sont aussi disponibles dans le commerce, mais elles sont généralement de qualité inférieure aux émulsions fraîches.

<b>Long-term Preservation Medium (for Vibrio spp.) [Milieu de conservation à long terme (pour Vibrio spp)]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Extrait de levure, 0.3 %	3,0 g
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	30,0 g
Gélose	3,0 g
Eau distillée	1,0 L

**Milieu complet:**

Ajouter les ingrédients à l'eau distillée et chauffer pour dissoudre. Répartir des volumes de 4,0 mL dans des éprouvettes à bouchons vissés de 13 x 100 mm. Stériliser à 121°C pendant 12 minutes. Refroidir et serrer les bouchons pour l'entreposage. Il n'est pas nécessaire d'ajuster le pH.

<b>Lysine Iron Agar (LIA) [Gélose à la lysine et au fer]</b>	
<b>Milieu de base</b>	
Peptone	5,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Dextrose	1,0 g
L-lysine	10,0 g
Citrate d'ammonium et de fer	0,5 g
Thiosulfate de sodium (Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	0,04 g
Violet de bromocrésol	0,02 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 6,7 ± 0,2	

**Milieu complet:**

Suspendre les ingrédients dans l'eau distillée et faire chauffer jusqu'à ébullition en faisant tourner fréquemment. Répartir le volume approprié de gélose dans les éprouvettes et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir en position inclinée pour former des culots profonds.

<b>Lysostaphin Solution [Solution de lysostaphine]</b>
--

**Milieu complet:**

Dissoudre la lysostaphine dans du tampon au phosphate et sel (0,02M; pH 7,3-7,4) afin d'obtenir une concentration de 50 µg de lysostaphine par mL.