

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

Baird-Parker (BP) Medium [Milieu Baird-Parker]	
Milieu de base	
Tryptone	10,0 g
Extrait de boeuf	5,0 g
Extrait de levure	1,0 g
Glycine	12,0 g
Chlorure de lithium (LiCl)	5,0 g
Pyruvate de sodium	10,0 g
Gélose	20,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,0 ± 0,2	
Suppléments	
Solution de tellurite de potassium à 1 % stérilisée par filtration	
Émulsion de jaune d'oeuf (50%)	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients à l'eau. Chauffer doucement jusqu'à ébullition. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50 °C et répartir.

L'émulsion de jaune d'œuf/tellurite est disponible dans le commerce et contient habituellement environ 50 % de jaune d'œuf. Suivre les instructions du fabricant. *

* Exemple: Ajouter aseptiquement 50,0 mL d'une émulsion commerciale de jaune d'oeuf/tellurite pré-chauffée au milieu de base. Mélanger soigneusement et répartir.

Note: Il faut assécher la surface de la gélose avant l'ensemencement. On a observé que le milieu BP fraîchement préparé peut être toxique pour les cellules endommagées. Il est donc conseillé d'entreposer les boîtes toute la nuit à la température de la pièce avant l'ensemencement. Le milieu doit être opaque; ne pas utiliser des géloses non-opaques. Les géloses BP peuvent avoir une durée de vie utile d'une à plusieurs semaines dans des conditions précises d'entreposage. La sélectivité et les caractéristiques diagnostiques des éléments constituant du milieu complet peuvent toutefois se dégrader avec le temps, surtout si les géloses ne sont pas préparées à partir de produits commerciaux de bonne qualité. Il incombe à chaque laboratoire de valider la durée d'entreposage appropriée de leurs géloses BP en fonction de la capacité du produit à rencontrer les caractéristiques relatives à la sélectivité, au taux de récupération et au rendement attendu.

Bismuth Sulfite Agar (BS) [Gélose au sulfite de bismuth]	
Milieu de base	
Peptone	10,0 g
Extrait de boeuf	5,0 g
Dextrose	5,0 g
Phosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	4,0 g
Sulfate ferreux (FeSO ₄)	0,3 g
Indicateur de sulfite de bismuth	8,0 g
Vert brillant	0,025 g
Gélose	20,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,6 ± 0,2	

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans un litre d'eau distillée et mélanger soigneusement. Chauffer uniformément le milieu presque jusqu'à ébullition à l'aide d'une plaque chauffante plutôt qu'au-dessus d'une flamme. Ne pas stériliser à l'autoclave et ne pas surchauffer. Faire tourner le milieu fréquemment pendant le chauffage. Refroidir à 45-50 °C et faire tourner le milieu pour disperser de façon uniforme le précipité lourd juste avant de couler la gélose dans les boîtes.

Note: Avant usage, entreposer les boîtes pour la nuit au réfrigérateur, dans l'obscurité. Les boîtes peuvent être entreposées jusqu'à 4 jours. Si les géloses non ensemencées deviennent vert foncé, elles doivent être jetées. Ce changement de couleur est un indice d'oxydation. La probabilité et le degré d'oxydation augmentent avec une durée d'entreposage prolongée et est accéléré par l'exposition à la lumière. De telles géloses peuvent inhiber certaines *Salmonella*.

Blood agar - (Trypticase Blood Agar Base) [Gélose Sang - (base de gélose sang à la trypticase)]	
Milieu de base	
Trypticase	10,0 g
Extrait de boeuf	3,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,1	
Supplément	
Sang défibriné stérile	50,0 mL

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans 1,0 L d'eau distillée. Porter à ébullition pour dissoudre les ingrédients. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50 °C et ajouter de façon aseptique le sang défibriné stérile. Mélanger soigneusement, mais éviter d'introduire des bulles d'air. Répartir. On ne peut liquéfier à nouveau le milieu complet solidifié.

Gélose sang - Listeria

Préparer les géloses sang aussitôt que possible après avoir reçu le sang frais. Utiliser la base pour gélose sang ou, de préférence, de la gélose trypticase-soja contenant 7 % de sang de cheval défibriné. Réhydrater et stériliser en suivant les instructions du fabricant. La gélose et le sang doivent tous deux avoir atteint une température de 45-50 °C avant d'être mélangés et coulés dans des boîtes de Pétri. Les géloses peuvent être conservées à 4 °C pendant un mois. Préparer et conserver de la même manière les géloses au sang de mouton utilisées pour l'épreuve de CAMP.

Brain Heart Infusion (BHI) Broth [Bouillon infusion de cervelle et coeur]	
Milieu de base	
Infusion de cervelle de veau	200,0 g
Infusion de coeur de boeuf	250,0 g
Protéose peptone	10,0 g
Dextrose	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Phosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	2,5 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,4 ± 0,2	

Milieu complet:

Dissoudre les ingrédients dans 1,0 L d'eau distillée. Répartir selon les besoins (éprouvettes ou fioles) et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

Brain Heart Infusion Broth with 0.6% Yeast Extract (BHI-YE) [Bouillon infusion de cervelle et coeur avec 0.6% d'extrait de levure]	
Milieu de base	
Infusion de cervelle de veau	200,0 g
Infusion de coeur de boeuf	250,0 g
Protéose peptone	10,0 g
Dextrose	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Phosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	2,5 g
Extrait de levure	6,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,4 ± 0,2	

Milieu complet:

Dissoudre les ingrédients dans 1,0 L d'eau distillée. Répartir selon les besoins (éprouvettes ou fioles) et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Ajouter l'extrait de levure au BHI avant de stériliser.

Brilliant Green-lactose Bile (2%) (BGLB) Broth [Bouillon lactosé au vert brillant et sels biliaires à 2%]	
Milieu de base	
Peptone	10,0 g
Lactose	10,0 g
Sels biliaires (Ox-gall)	20,0 g
Vert brillant	0,0133 g
pH 7,2 ± 0,2	

Milieu complet:

Dissoudre la peptone et le lactose dans 500 mL d'eau et y ajouter les sels biliaires dissous auparavant dans 200 mL d'eau. Ajouter de l'eau pour diluer à environ 975 mL et ajuster le pH. Ajouter 13,3 mL d'une solution aqueuse de vert brillant à 1 %, porter le volume total à 1,0 L, agiter et filtrer au besoin avec du coton pour clarifier. Répartir en volumes de 10,0 mL dans des éprouvettes contenant des ampoules de Durham et stériliser à 121 °C pendant 12 minutes.

Brillant Green Sulfa Agar (BGS) [Gélose à la sulfapyridine additionnée de vert brillant]	
Milieu de base	
Extrait de levure	3,0 g
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Lactose	10,0 g
Sucrose	10,0 g
Rouge de phénol	0,08 g
Vert brillant	0,0125 g
Sulfapyridine de sodium	1,0 g
Gélose	20,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 6,9 ± 0,2	

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans 1,0 L d'eau distillée. Faire chauffer jusqu'à ébullition en faisant tourner fréquemment. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes et laisser refroidir à 45-50 °C. Couler la gélose dans les boîtes de Pétri et laisser sécher en retirant partiellement les couvercles.

Brillant Green Water (0,002% w/v) [Solution aqueuse au vert brillant (0,002% p/v)]	
Milieu de base	
Colorant vert brillant	1,0 g
Eau distillée stérile	100 mL

Milieu complet:

Dissoudre 1,0 g de vert brillant dans 100 mL d'eau stérile (1 % p/v). Ajouter 2,0 mL de la solution de vert brillant 1 % à 1,0 L d'eau stérile (0.002%p/v).

Brucella Broth [Bouillon Brucella]	
Milieu de base	
Tryptone	10,0 g
Peptamine	10,0 g
Dextrose	1,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Bisulfite de sodium (NaHSO ₃)	0,1 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,0 ± 0,2	

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans 1,0 L d'eau distillée et faire bouillir pour dissoudre complètement. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes et répartir.

Brucella Semi-solid Medium [Milieu Brucella semi-solide]	
Milieu de base	
Tryptone	10,0 g
Peptamine	10,0 g
Dextrose	1,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Bisulfite de sodium (NaHSO ₃)	0,1 g
Rouge neutre	0,02 g
Gélose	1,6 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,0 ± 0,2	

Milieu complet:

Mélanger les ingrédients ci-dessus dans l'eau distillée et chauffer en agitant fréquemment. Faire bouillir pendant une minute environ. Distribuer de 5,0 à 7,0 mL dans des éprouvettes (16 x 125 mm) munies d'un bouchon vissant et stériliser à 121°C pendant 15 minutes

Buffered Glucose Broth (MR-VP medium) [Bouillon de glucose tamponné (milieu MR-VP)]	
Milieu de base	
Peptone	5,0 g
Glucose	5,0 g
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	5,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,5 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients à 1,0 L d'eau distillée. Chauffer doucement en agitant pour dissoudre complètement les ingrédients. Répartir dans les éprouvettes et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

Buffered Glucose Salt Broth (MR-VP medium) [Bouillon de glucose tamponné avec sel, milieu MR-VP]	
Milieu de base	
Peptone	5,0 g
Glucose	5,0 g
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	2,0 - 3,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,5 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients à 1,0 L d'eau distillée. Chauffer doucement en agitant pour dissoudre complètement les ingrédients. Répartir dans les éprouvettes et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. (pour les *Vibrio* halophiles).

Buffered Peptone Water (BPW) [Eau peptonée tamponnée]	
Milieu de base	
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Phosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	3,5 g
Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄)	1,5 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	

Milieu complet:

Dissoudre les ingrédients dans 1,0 L d'eau distillée. Verser dans des contenants appropriés et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.