

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

Palcam Agar (PAL) [Gélose Palcam]	
Milieu de base	
Peptone	23,0 g
Amidon	1,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Levure	3,0 g
Gélose	13,0 g
Mannitol	10,0 g
Citrate d'ammonium et de fer	0,5 g
Esculine	0,8 g
Dextrose	0,5 g
Chlorure de lithium (LiCl)	15,0 g
Rouge de phénol	0,08 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	
Suppléments (pour 500 ml de milieu de base)	
Polymyxine-B-sulfate	5,0 mg
Ceftazidime	10,0 mg
Acriflavine	2,5 mg
Eau distillée	5,0 ml

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients du milieu de base dans 1,0 L d'eau distillée et ajuster le pH au besoin. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 50 °C. Ajouter aseptiquement la solution de supplément à 500 ml de base de gélose refroidie (doubler la quantité pour 1,0 L). Mélanger soigneusement et répartir. Entreposer au réfrigérateur dans l'obscurité

(l'acriflavine peut être photo-oxydé et former des composés inhibiteurs pour les *Listeria* spp.).

Solution de supplément: Ajouter les ingrédients du supplément à 5,0 ml d'eau distillée. Stériliser par filtration.

Palcam Broth [Bouillon Palcam]	
Milieu de base	
Peptone	23,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Chlorure de lithium (LiCl)	10,0 g
Esculine	0,8 g
Citrate d'ammonium et de fer (III)	0,5 g
D(-) mannitol	5,0 g
Rouge de phénol	0,08 g
Lécithine de soja	1,0 g
Tween 80	2,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	
Suppléments (pour 500 ml de milieu de base)	
Polymyxine-B-sulfate	5,0 mg
Ceftazidime	10,0 mg
Acridavine	2,5 mg
Eau distillée	5,0 ml

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients du milieu de base dans 1,0 L d'eau distillée et ajuster au besoin le pH. Porter à ébullition pour dissoudre complètement. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 50 °C. Ajouter aseptiquement la solution de suppléments à 500 ml de base de gélose refroidie (doubler la quantité pour 1,0 L). Mélanger soigneusement et répartir. Entreposer au réfrigérateur dans l'obscurité (l'acridavine peut être photo-oxydé et former des composés inhibiteurs pour les *Listeria* spp.).

Solution de supplément: Ajouter les ingrédients du supplément à 5,0 ml d'eau distillée. Stériliser par filtration

Park and Sanders' Enrichment Broth [Bouillon d'enrichissement Park et Sanders]	
Milieu de base (base de bouillon Brucella)	
Hydrolysât pancréatique de caséine	10,0 g
Hydrolysât peptique de tissus animaux	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Glucose	1,0 g
Pyruvate de sodium (facultatif)	0,25 g
Sodium bisulfite (NaHSO ₃)	0,1 g
Eau distillée	950 ml
pH 7,0 ± 0,2	
Suppléments	
Sang de cheval lysé	50,0 ml
Supplément A	
Vancomycine	0,01 g
Triméthoprim lactate	0,01 g
Eau distillée	5,0 ml
Supplément B	
Céfopérazone sodique	0,032 g
Cycloheximide (facultatif)	0,1g
Eau distillée	5,0 ml

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 950 ml d'eau distillée. Mélanger soigneusement. Porter à ébullition pour dissoudre complètement. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Refroidir à 25 °C. Ajouter aseptiquement le sang de cheval lysé et 5,0 ml de supplément A et mélanger soigneusement. Répartir aseptiquement 100 ml dans des flacons de 250 ml. Ajouter aseptiquement 0,5 ml de supplément B à 100 ml de milieu.

Supplément A: Ajouter les ingrédients du supplément dans 5,0 ml d'eau distillée, mélanger soigneusement et stériliser par filtration.

Supplément B: Ajouter les ingrédients du supplément dans 5,0 ml d'eau distillée, mélanger soigneusement et stériliser par filtration.

Note: Si les échantillons ont été soumis à un stress, particulièrement par la congélation, incuber le 100 ml de milieu inoculé pendant 3 à 4 heures avant d'ajouter 0,5 ml de supplément B.

Penicillin-Streptomycin Solution [Solution de pénicilline-streptomycine]	
Milieu de base	
Pénicilline G	500,000 UI
Streptomycine	500,000 µg
Eau distillée	100 ml

Milieu complet:

Dissoudre les antibiotiques dans l'eau distillée et stériliser par filtration. Conserver au réfrigérateur.

Pour *V. cholerae*, utiliser une solution de pénicilline G-streptomycine sulfate disponible dans le commerce. Ajouter 500 ml de solution pour 500 ml de milieu. Conserver à -20°C.

Peptone (1.0%) Salt Diluent [Diluant peptoné (1,0%) avec sel]	
Milieu de base	
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Mélanger soigneusement et répartir. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

Peptone Salt Nitrate Broth [Bouillon peptoné avec sel et nitrate]	
Milieu de base	
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	30,0 g
Nitrate de potassium (KNO ₃)	1,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,6 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Mélanger soigneusement et répartir. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes.

Peptone (0.1%) Water Diluent [Diluant à l'eau peptonée (0,1%)]	
Milieu de base	
Peptone	1,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,0 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter 1,0 g de peptone à 1,0 L d'eau distillée. Mélanger soigneusement et distribuer suffisamment de diluant dans des bouteilles de dilution ou des éprouvettes pour obtenir le volume requis après stérilisation. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes.

Peptone/Tween 80 diluent [Diluant peptone/Tween 80]	
Milieu de base	
Peptone	1,0 g
Tween 80	10,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,4 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée chaude. Mélanger soigneusement jusqu'à dissolution et distribuer suffisamment de diluant dans des bouteilles de dilution ou des éprouvettes pour obtenir le volume requis après stérilisation. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

Peroxidase Substrate Solution (ABTS) (2,2''-Azino-di-[3-ethyl benzthiazoline sulfonate (6)] (ABTS substrate) [Solution de substrat à la peroxidase (ABTS)(2,2-Azino-di-[3-sulfonate déthyl benzthiazoline (6)] (substrat ABTS))]	
Milieu de base	
ABTS	10 mg
Acide citrique (0,05 M)	10 ml
Peroxyde d'hydrogène, 30% (H ₂ O ₂)	30 µL

Milieu complet:

Préparer 5 minutes avant de l'utiliser. Suffisant pour une microplaque de 96.puits.

Peroxidase Substrate Solution (4-chloro-1-naphthol) for Membrane ELISA [Solution de substrat à la peroxidase (4-chloro-1-naphthol) pour membrane ELISA]	
Milieu de base	
Solution A	
4-Chloro-1-naphthol	60,0 mg
Méthanol (froid)	20 ml
Solution B	
Peroxyde d'hydrogène, 30% (H ₂ O ₂)	60 µL
Solution saline tris-tamponnée (TBS)	100 ml

Milieu complet:

Solution A: Dissoudre 4-chloro-1-naphthol dans du méthanol froid. Conserver à -20°C.

Solution B: Mélanger les deux ingrédients ensemble à la température ambiante.

Solution complète: Mélanger la solution A froide avec la solution B à température ambiante immédiatement avant l'utilisation.

Phenol Red Carbohydrate Broth (0.5%) [Bouillon au rouge de phénol et aux glucides (0,5%)]	
Milieu de base	
Trypticase or protéose peptone no. 3	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Extrait de boeuf (facultatif)	1,0 g
Rouge de phénol (ou 7,2 ml d'une solution de rouge de phénol à 0,25%)	0,018 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,4 ± 0,2	
Supplément	
Glucide requis pour l'épreuve	5,0 g

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Dissoudre 5,0 g du glucide requis dans ce bouillon de base. Mélanger soigneusement et répartir dans des éprouvettes contenant des tubes de fermentation inversés. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes.

Phenol Red Sorbitol Agar with MUG [Gélose au sorbitol et au rouge de phénol avec MUG]	
Milieu de base	
Extrait de boeuf	1,0 g
Hydrolysât enzymatique de tissus animaux	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Rouge de phénol	0,018 g
D-sorbitol	20,0 g
4-méthylumbélliferyl- β -D-glucuronide (MUG) (ou supplément MUG)	0,05 g
Gélose	20,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 6,8 - 6,9	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Porter à ébullition pour dissoudre complètement. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Refroidir et répartir (boîtes épaisses)

Phosphate Buffer (Butterfield's) [Solution tampon au phosphate (Butterfield)]	
Solution-mère	
Phosphate monopotassique (KH_2PO_4)	34,0 g
Eau distillée	500 ml
pH à 7,2	

Milieu complet:

Ajuster le pH à 7,2 avec du NaOH 1N et porter le volume à 1,0 L avec de l'eau distillée. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes et conserver au réfrigérateur.

Blancs de dilution :

Prélever 1,25 ml de la solution-mère et porter le volume à 1,0 L avec de l'eau distillée. Distribuer le volume requis et stériliser à 121°C pendant 15 minutes

Phosphate Buffered Saline (PBS) (pH 7.3-7.4, 0.02 M) [Solution saline tamponnée au phosphate (PBS) pH 7,3-7,4, 0,02M]	
Solution-mère 1	
Phosphate disodique anhydre, qualité réactif (Na_2HPO_4)	28,4 g

Chlorure de sodium, qualité réactif (NaCl)	85,0 g
Eau distillée	1,0 L
Le pH est approximativement de 8,2	
Solution-mère 2	
Phosphate monosodique monohydrate, qualité réactif (NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O)	27,6 g
Chlorure de sodium, qualité réactif (NaCl)	85,0 g
Eau distillée	1,0 L
Le pH est approximativement de 5,6	

Milieu complet:

Préparer des dilutions 1 dans 9 de parts aliquotes de chaque solution-mère de façon à obtenir un volume final de 500 ml de la solution 1 diluée et 100 ml de la solution 2 diluée. Utiliser un pH-mètre pour ajuster le pH de la solution 1 diluée à un pH de 7,3-7,4 en ajoutant environ 65,0 ml de la solution 2 diluée. On obtient ainsi une solution saline tamponnée au phosphate 0,02 M.

Note: Ne pas titrer la solution-tampon au phosphate 0,2 M à un pH de 7,3-7,4 pour la diluer ensuite à une concentration de 0,02 M, car cela fait baisser le pH d'environ 0,25. L'ajout de sel à 0,85 % après l'ajustement du pH entraîne aussi une baisse d'environ 0,2.

Phosphate Buffered Saline (PBS for Ridascreen) [Solution saline tamponnée au phosphate (PBS pour Ridascreen)]	
Milieu de base	
Phosphate monosodique monohydrate, qualité réactif (NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O)	0,55 g
Phosphate disodique anhydre, qualité réactif (Na ₂ HPO ₄)	2,85 g
Chlorure de sodium (NaCl)	8,7 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,4	

Milieu complet:

Dissoudre dans 500 ml d'eau distillée. Ajuster le pH à 7,4. Ajouter de l'eau distillée pour compléter à un litre.

Plate Count Agar (PCA) [Gélose pour numération en plaque]	
Milieu de base	
Tryptone	5,0 g
Glucose	1,0 g

Extrait de levure	2,5 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,0 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Porter à ébullition pour dissoudre tous les ingrédients. Répartir dans les contenants appropriés et stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Pour les produits laitiers stables à la température ambiante, l'addition de 1,0 ml de produit restérilisé au milieu tempéré avant la distribution dans les boîtes de Pétri peut aider à la récupération des microorganismes.

Plate Count Agar with Chloramphenicol [Gélose pour numération en plaque avec chloramphénicol]	
Milieu de base	
Gélose pour numération en plaque (voir ci-dessus)	1,0 L
Chloramphénicol	100,0 mg
pH 7,0 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base de la gélose pour numération en plaque à 1,0 L d'eau distillée.. Porter à ébullition pour dissoudre tous les ingrédients et ajouter 100,0 mg de chloramphénicol. Mélanger soigneusement. Répartir dans des contenants appropriés et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

Polymyxin Pyruvate Egg Yolk Mannitol Bromthymol Blue Agar (PEMBA MEDIUM) [Gélose polymyxine, pyruvate, jaune d'oeuf, mannitol, bleu de bromothymol (milieu PEMBA)]	
Milieu de base (Disponible chez Oxoid sous le nom de « Gélose sélective pour <i>Bacillus cereus</i> »)	
Peptone	1,0 g
D-mannitol	10,0 g
Sulfate de magnésium heptahydrate (MgSO ₄ .7H ₂ O)	0,1g
Chlorure de sodium (NaCl)	2,0 g
Phosphate disodique (Na ₂ HPO ₄)	2,5 g
Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄)	0,25 g
Bleu de bromothymol	0,12 g
Pyruvate de sodium (C ₃ H ₃ O ₃ Na)	10,0 g
Gélose	18,0 g
Eau distillée	940 ml

pH 7,4 ± 0,2	
Suppléments	
Solution de polymyxine (10,000 unités/ml)	10,0 ml
Émulsion de jaune d'oeuf 50%	50,0 ml

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 940 ml d'eau distillée. Chauffer jusqu'à ébullition pour dissoudre complètement. Ajuster le pH à 7,4. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 50-55°C. Ajouter de façon aseptique 10,0 ml de la solution de polymyxine B pré chauffée (50-55°C) et 50,0 ml de l'émulsion de jaune d'oeuf pré chauffé (50-55°C) à la suspension du milieu de base tempérée (50-55°C). Mélanger soigneusement mais doucement et répartir dans des boîtes de Pétri. (Si une émulsion commerciale de jaune d'oeuf est utilisée, ajouter le jaune d'oeuf à une concentration finale de 2,5 %).

Solution de polymyxine B: Stériliser la solution par filtration.

Émulsion de jaune d'oeuf (50 %) (disponible dans le commerce comme un enrichissement et contient habituellement environ 50 % de jaune d'oeuf): Faire tremper des œufs frais propres dans de l'alcool à 70 % pendant 15 minutes. Séparer les jaunes d'œuf de façon aseptique et mélanger avec une quantité égale de solution saline pendant environ cinq minutes sur un agitateur magnétique à basse vitesse (ne pas chauffer).

Potato Dextrose Agar (PDA) [Gélose de pomme de terre et dextrose]	
Milieu de base	
Pommes de terre	200,0 g
Dextrose	20,0 g
Gélose	20,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 5,6 ± 0,2	

Milieu complet:

Faire bouillir 200 g de pommes de terre tranchées non pelées dans 1,0 L d'eau distillée pendant 30 minutes. Filtrer au moyen d'un coton et garder l'effluent. Ajouter les autres ingrédients à l'infusion de pommes de terre et chauffer jusqu'à ébullition pour dissoudre complètement.

Ou ajouter 39 g d'un milieu déshydraté commercial et 5,0 g de gélose à 1,0 L d'eau distillée. Porter à ébullition pour dissoudre complètement. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes et répartir dans des boîtes de Pétri stériles. Il ne faut pas faire refondre le milieu plus d'une fois

Potato Dextrose Agar with Chloramphenicol [Gélose de pomme de terre et dextrose avec chloramphénicol]	
Milieu de base	
Gélose PDA (voir ci-dessus)	1,0 L
Chloramphénicol	100,0 mg
pH 5,6 ± 0,2	

Milieu complet:

Préparer 1,0 L de gélose PDA et ajouter 100,0 mg de chloramphénicol. Mélanger soigneusement et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Distribuer dans des boîtes de Pétri.

Potato Dextrose - Salt Agar [Gélose de pomme de terre et dextrose avec sel]	
Milieu de base	
Gélose PDA (voir ci-dessus)	1,0 L
Chlorure de sodium (NaCl)	75,0 g
pH 5,6 ± 0,2	

Milieu complet:

Préparer 1,0 L de gélose PDA et ajouter 75,0 g de chlorure de sodium. Mélanger soigneusement et stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Distribuer dans des boîtes de Pétri stériles.

Potato Dextrose Agar (Acidified) (PDA) [Gélose de pomme de terre et dextrose (acidifié)]	
Milieu de base	
Gélose PDA (voir ci-dessus)	1,0 L
Supplément	
Acide tartarique à 10%	16,0 ml
pH 3,5 ± 0,1	

Milieu complet:

Préparer 1,0 L de PDA et stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50°C. Ajouter de façon aseptique 16,0 ml d'acide tartarique stérile à 10% et mélanger soigneusement. Distribuer dans des boîtes de Pétri stériles. Ne pas faire réchauffer le milieu acidifié car la gélose sera hydrolysée.

Presence-Absence Broth [Bouillon présence-absence]	
Milieu de base	

Extrait de boeuf	3,0 g
Peptone	5,0 g
Lactose	7,46 g
Tryptose	9,83 g
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	1,35 g
Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄)	1,35 g
Chlorure de sodium (NaCl)	2,46 g
Sodium lauryl (dodécyl) sulfate (C ₁₂ H ₂₅ O ₄ SNa)	0,05 g
Violet de bromocrésol	0,0085 g
Eau distillée	1,0 L
pH 6,8 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base (triple concentration) à 1,0 L d'eau distillée. Chauffer doucement pour dissoudre complètement et répartir 50,0 ml dans des bouteilles de dilution de 250 ml. Stériliser à 121°C pendant 12 minutes, pour un temps total d'autoclave ne dépassant pas 30 minutes. Refroidir.

Preston Agar (Campylobacter Selective Medium) [Gélose Preston (Milieu sélectif pour Campylobacter)]	
Milieu de base	
Extrait de boeuf	10,0 g
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Gélose	12,0 g
Eau distillée	940 ml
pH 7,5 ± 0,2	
Supplément d'antibiotiques	
Polymyxine B	5000,0 UI
Rifampicine	0,01 g
Triméthoprime lactate	0,01 g
Cycloheximide	0,1 g
Acétone : eau distillée (50:50)	10 ml
Supplément	
Sang de cheval lysé	50,0 ml

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 940 ml d'eau distillée. Mélanger soigneusement. Porter à ébullition pour dissoudre complètement. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50°C. Ajouter de façon aseptique 50,0 ml de sang de cheval lysé et 10,0 ml du supplément d'antibiotique. Mélanger soigneusement et répartir dans des boîtes de Pétri stériles.

Supplément d'antibiotiques: Ajouter les ingrédients antibiotiques à 10,0 ml d'une solution 50:50 d'acétone et d'eau distillée et stériliser par filtration.

Pseudomonas-CFC Agar [Gélose Pseudomonas-CFC]	
Milieu de base	
Hydrolysât de gélatine	16,0 g
Gélose	11,0 g
Hydrolysât de caséine	10,0 g
Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄)	10,0 g
Chlorure de magnésium hexahydrate (MgCl ₂ . 6H ₂ O)	1,4 g
Glycérol	10,0 ml
Eau distillée	990 ml
Supplément sélectif CFC	
Céphaloridine	0,05 g
Fucidine	0,01 g
Cétrimide	0,01 g
Eau distillée	10 ml

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 990 ml d'eau distillée. Mélanger soigneusement et chauffer doucement jusqu'à ébullition. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50 °C. Ajouter de façon aseptique le supplément sélectif CFC stérile. Mélanger soigneusement et distribuer dans des boîtes de Pétri stériles.

Supplément sélectif CFC: Ajouter les ingrédients sélectifs à l'eau distillée et porter le volume à 10,0 ml. Mélanger soigneusement et stériliser par filtration.

Pseudomonas-CN Agar [Gélose Pseudomonas-CN]	
Milieu de base	
Hydrolysât de gélatine	16,0 g
Gélose	11,0 g

Hydrolysât de caséine	10,0 g
Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄)	10,0 g
Chlorure de magnésium hexahydrate (MgCl ₂ . 6H ₂ O)	1,4 g
Glycérol	10,0 ml
Eau distillée	990 ml
Supplément sélectif CN (pour 500 ml de milieu de base)	
Cétrimide	0,1 g
Nalidixate de sodium	7,5 mg
Eau distillée	1,0 ml
Éthanol	1,0 ml

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 990 ml d'eau distillée. Mélanger soigneusement et chauffer doucement jusqu'à ébullition. Stériliser à 121°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45-50°C. Ajouter de façon aseptique le supplément sélectif CN stérile. Mélanger soigneusement et distribuer dans des boîtes de Pétri stériles.

Purple broth base with cellobiose [Bouillon violet de base avec cellobiose]	
Milieu de base	
Protéose peptone	10,0 g
Extrait de boeuf	1,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Violet de bromocrésol	0,02 g
Eau distillée	1,0 L
pH 6,8 ± 0,2	
Supplément	
Cellobiose	10,0 g

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients du milieu de base à 1,0 L d'eau distillée. Porter à ébullition pour dissoudre complètement. Ajouter 10,0 g de cellobiose. Mélanger soigneusement. Répartir 10,0 ml dans des éprouvettes et stériliser à 121°C pendant 15 minutes.