

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

M Broth [Bouillon M]	
Milieu de base	
Extrait de levure	5,0 g
Tryptone	12,5 g
D-mannose	2,0 g
Citrate de sodium	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	5,0 g
Chlorure de manganèse (MnCl ₂)	0,14 g
Sulfate de magnésium (MgSO ₄)	0,8 g
Sulfate ferreux (FeSO ₄)	0,04 g
Tween 80™	0,75 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,0 ± 0,2	

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans l'eau distillée et porter à ébullition une à deux minutes. Distribuer et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes.

MacConkey Agar [Gélose MacConkey]	
Milieu de base	
Peptone	20,0 g
Lactose	10,0 g

Sels biliaires no. 3	1,5 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Rouge neutre	0,03 g
Violet de gentiane	0,001 g
Gélose	13,5 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,1 ± 0,2	

Milieu complet:

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

Malachite Green (5%) [Vert de malachite (5%)]	
Milieu de base	
Vert de malachite	5,0 g
Eau distillée	100 mL

Milieu complet:

Dissoudre 5,0 g de vert de malachite dans l'eau distillée pour produire 100 mL de solution. Agiter.

Malt Extract* [Extrait de malt*]	
Milieu de base	
Extrait de malt	30,0 g
Protéine mycologique	5,0 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 5,4 ± 0,2	

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans l'eau distillée. Faire bouillir pour dissoudre complètement. Stériliser à 115°C pendant 10 minutes.

* Au besoin, pour les organismes osmophiles, ajouter 500 g de sucrose / litre avant la stérilisation

mA-Mannitol (MAM) Agar [Gélose mA-mannitol]	
Milieu de base	
Tryptone	5,0 g
Mannitol	5,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	3,0 g
Chlorure de potassium (KCl)	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO ₄ .7H ₂ O)	0,2 g
Chlorure ferreux hexahydraté (FeCl ₃ . 6H ₂ O)	0,1 g
Bleu de bromothymol	0,08 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 8,0 ± 0,2	
Supplément	
Désoxycholate de sodium	100 mg

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients de base, sauf la gélose, à 1,0 L d'eau. Dissoudre à la température de la pièce et ajuster le pH à 8,0. Ajouter la gélose et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir et ajouter le désoxycholate de sodium. Mélanger soigneusement et distribuer dans des boîtes de Pétri. Ce milieu peut se garder deux mois à 4 °C.

Mannitol Maltose Agar [Gélose mannitol maltose]	
Milieu de base	
Phytone™ (Hydrolysât papaique de farine de soja)	5,0g
Polypeptone™ (mélange égal d'hydrolysâts de caséine et de tissu animal)	5,0 g
Extrait de boeuf	5,0 g
D-mannitol	10,0 g
Maltose	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	20,0 g
Gélose	13,0 g
Solution-mère de colorant 1000X *	1,0 mL
Eau distillée	1,0 L

pH 7,8 ± 0,2	
Supplément: * solution-mère de colorant 1000X	
Bleu de bromothymol	4,0 g
Rouge de crésol	4,0 g
Éthanol à 95%	100 mL

Milieu complet:

Mettre les ingrédients en suspension et faire bouillir pour dissoudre. Ajuster le pH et stériliser pendant 15 minutes à 121°C

mA-Trehalose (MAT) Agar [Gélose mA-tréhalose]	
Milieu de base	
Tryptone	5,0 g
Tréhalose	5,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	3,0 g
Chlorure de potassium (KCl)	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0,2 g
Chlorure ferreux hexahydraté (FeCl ₃ · 6H ₂ O)	0,1 g
Bleu de bromothymol	0,04 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 8,0 ± 0,2	
Suppléments	
Éthanol	1,0 mL
Ampicilline	20,0mg
Désoxycholate de sodium	100 mg

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients de base, sauf la gélose, à 1,0 L d'eau. Dissoudre à la température de la pièce et ajuster le pH à 8,0. Ajouter la gélose et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir et ajouter les suppléments. Mélanger soigneusement et distribuer dans des boîtes de Pétri. Ce milieu se garde deux mois à 4 °C.

Methyl Red test reagent [Réactif pour l'épreuve du rouge de méthyle]	
Milieu de base	
Rouge de méthyle	0,10 g
Éthanol à 95%	300 mL
Eau distillée	200 mL

Milieu complet:

Dissoudre le rouge de méthyle dans 300 mL d'éthanol et diluer à 500 mL avec de l'eau distillée. Entreposer au réfrigérateur

Microbial Content Test Agar (also known as Tryptic Soy Agar with Lecithin and Polysorbate 80 [TSALT], and Casein Soy Peptone with Polysorbate 80 and Lecithin) [Gélose d'épreuve de contenu microbien] (aussi appelée gélose tryptique-soja avec lécithine et polysorbate 80 et peptone caséine-soja avec polysorbate 80 et lécithine)	
Milieu de base	
Hydrolysât pancréatique de caséine	15,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Tween 80™ (polysorbate 80)	5,0 g
Hydrolysât enzymatique de farine de soja	5,0 g
Lécithine	0,7 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. Laisser bouillir pendant 1 à 2 minutes. Distribuer dans des flacons ou des éprouvettes et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Verser dans des boîtes de Pétri stériles ou laisser dans les éprouvettes

m-FC agar (without rosolic acid*) [Gélose m-FC] (sans acide rosolique*)	
Milieu de base	
Tryptose	10,0 g
Protéose peptone no.3	5,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Lactose	12,5 g
Sels biliaires no.3	1,5 g

Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Bleu d'aniline	0,1 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,4 ± 0,2	

Milieu complet:

Porter le mélange à ébullition, laisser refroidir à 50-55 °C et ajuster le pH. Ne pas stériliser à l'autoclave. Verser de 15,0 à 20,0 mL de gélose dans des boîtes de Pétri. Les boîtes de Pétri se gardent 4 semaines à 4 °C.

* On a observé que la formulation sans acide rosolique fonctionne mieux avec la méthode MFQH pour les coliformes. Si l'acide rosolique est ajouté au milieu, utiliser 10,0 mL d'une solution à 1% dans du NaOH à 0,2N. Ajouter après que les autres ingrédients aient été dissous par chauffage et continuer à bouillir pour une minute supplémentaire. Ce supplément est aussi disponible dans le commerce. Suivre les instructions du fabricant.

Milk agar [Gélose au lait] (Il y a plusieurs milieux sous les noms de Gélose au lait, Gélose au lait écrémé, Gélose au lait pour numération en plaque. La formulation suivante est spécifiée pour utilisation avec la méthode MFLP-61, une méthode MFQH pour <i>P. aeruginosa</i>)	
Milieu de base: Mélange A	
Lait écrémé en poudre instantané	100 g
Eau distillée	500 mL
Milieu de base: Mélange B	
Bouillon nutritif	12,5 g
Chlorure de sodium (NaCl)	2,5 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	500 mL

Milieu complet:

Stériliser les mélanges A et B séparément, laisser refroidir à 50°C. Combiner aseptiquement les deux mélanges et verser 20,0 mL par boîte.

Modified CCDA Preston - see Campylobacter Agar with Charcoal and Deoxycholate (CCDA) [Gélose CCDA Preston modifié - voir Gélose pour Campylobacter avec charbon de bois et désoxycholate (CCDA)]

Modified Cellobiose - Polymyxin B - Colistin Agar (mCPC) [Gélose cellobiose - polymyxine B - colistine modifiée]	
Milieu de base Solution 1	
Peptone	10,0 g
Extrait de boeuf	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	20,0 g
Solution-mère de colorant 1000x*	1,0 mL
Gélose	15,0 g
Eau distillée	900 mL
pH 7,6	
Milieu de base Solution 2	
Cellobiose	10,0 g
Colistine	400,000 unités
Polymyxine B	100,000 unités
Eau distillée	100 mL
Supplément * <u>Solution de colorant 1000x</u>	
Bleu de bromothymol	4,0 g
Rouge de crésol	4,0 g
Éthanol à 95%	100 mL

Milieu complet:Solution 1

Ajuster le pH à 7,6. Porter à ébullition pour dissoudre la gélose. Refroidir à une température de 48-55°C.

*Solution de colorant 1000x

Pour une coloration uniforme du milieu, utiliser la solution-mère plutôt que de peser chaque fois les colorants individuels. Dissoudre les colorants dans l'éthanol de façon à obtenir une solution-mère de 4 % (p/v). En utilisant 1 mL de cette solution par litre de gélose de mCPC, on obtient 40 mg de bleu de bromothymol et 40 mg de rouge de crésol par litre.

Solution 2

Dissoudre la cellobiose dans l'eau distillée en chauffant doucement. Laisser refroidir. Ajouter les antibiotiques.

Milieu complet :

Ajouter la solution 2 à la solution 1 refroidie, mélanger et couler en boîtes de Pétri. La couleur finale varie du vert foncé au brun-vert.

NOTE : Ce milieu, comme le milieu TCBS, est très inhibiteur et n'a pas besoin d'être stérilisé. On peut entreposer le milieu deux semaines au réfrigérateur.

Modified E. coli Broth with Novobiocin (mEC-n) [Bouillon E. coli modifié avec novobiocine]	
Milieu de base	
Tryptone	20,0 g
Sels biliaires no. 3	1,5 g
Lactose	5,0 g
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	4,0 g
Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄)	1,5 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Eau distillée	1,0 L
Supplément	
Novobiocine	100 mg
Eau distillée	1,0 mL

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients, sauf la novobiocine, à l'eau distillée. Mélanger soigneusement et distribuer en portions de 225 mL. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir. Distribuer en portions de 225 mL. Ajouter 50,0 µL de solution de novobiocine (stérilisée par filtration à l'aide d'un filtre de 0,45 µm) immédiatement avant d'ajouter l'échantillon.

Modified Fraser Broth (MFB) - see Fraser Broth [Bouillon Fraser modifié] - voir Bouillon Fraser
--

Modified HC Agar (mHC) [Gélose HC modifiée]	
Milieu de base	
Tryptone	20,0 g
Sels biliaires no. 3	1,12 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Sorbitol	20,0 g
4-méthylumbélliferyl- β -D-glucuronide (MUG) (facultatif)	0,10 g
Violet de bromocrésol à 1.6%	0,94 mL
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,4 ± 0,2	
Suppléments	

*Cefsulodine à 1% (1.0 g/100 mL)	1,0 mL
Tellurite de potassium à 0,1% (0.1g/100mL)	2,5 mL

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients de base dans 1,0 L d'eau distillée tout en agitant pour dissoudre les ingrédients (sauf la gélose) et ajuster le pH. Chauffer jusqu'à ébullition pour dissoudre la gélose. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45- 50 °C. Stériliser les suppléments par filtration et ajouter au milieu de manière aseptique. Faire tourner doucement le milieu (sans créer de bulles d'air) afin de bien répartir les suppléments. De manière aseptique, distribuer la gélose dans des boîtes de Pétri et laisser solidifier. Faire sécher les géloses sous une hotte à flux laminaire afin d'enlever l'excès d'humidité. Conserver les géloses à 4°C pendant 2 semaines.

* La cefsulodine n'est pas nécessaire si l'on utilise le bouillon d'enrichissement BEE.

Note: Les suppléments sont disponibles commercialement. Si l'on achète un produit reconstitué (forme liquide), assurer que la concentration finale dans le milieu ci-dessus est adéquate. Pour la **gélose mHC**, la concentration du tellurite de potassium est de 2.5 mg/L.

Modified Oxford Agar (MOX) [Gélose Oxford modifiée]	
Milieu de base	
Base de gélose au sang Columbia (selon la marque utilisée)	39,0 - 44,0 g
Gélose	2,0 g
Esculine	1,0 g
Citrate d'ammonium ferrique	0,5 g
Chlorure de lithium (LiCl)	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	
Suppléments	
Moxalactame	0,015 g
Sulfate de colistine	0,01 g
Eau distillée	10,0 mL

Milieu complet:

La gélose Oxford modifiée est une Gélose sélective pour *Listeria* qui a été légèrement modifiée (Formulation Oxford).

Ajouter les ingrédients, sauf le supplément, à l'eau distillée. Chauffer doucement jusqu'à dissolution. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Faire refroidir rapidement à 46°C dans un bain-marie. Ajouter le supplément stérilisé par filtration au milieu de base, mélanger soigneusement et répartir.

Modified PE-2 Medium (PE2) [Milieu PE-2 modifié]	
Milieu de base	
Peptone	20,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Solution de violet de bromocrésol à 2% dans l'alcool	2,0 mL
Eau distillée	1,0 L
Supplément	
Pois de semence d'Alaska non traités	8-10/éprouvette

Milieu complet:

Faire dissoudre les ingrédients en chauffant doucement au besoin et répartir des portions de 19,0 mL dans des éprouvettes de 20 x 150 mm munies d'un bouchon qui visse et contenant chacune de 8 à 10 pois de semence d'Alaska non traités. Stériliser pendant 30 minutes à 121°C ou l'équivalent. On peut habituellement conserver le milieu préparé stérilisé à une température de 0 à 4 °C sans détérioration, jusqu'à 4 semaines. Avant de l'utiliser, il faut désaérer le milieu réfrigéré en chauffant à 100°C pendant 10 minutes. Laisser refroidir à la température de la pièce avant de l'utiliser.

Modified Semi-Solid Rappaport Vassiliadis (MSRV) Medium [Milieu semi-solide de Rappaport Vassiliadis modifié]	
Milieu de base	
Tryptose	4,59 g
Hydrolysât de caséine	4,59 g
Chlorure de sodium (NaCl)	7,34 g
Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄)	1,47 g
Chlorure de magnésium (MgCl ₂)	10,93 g
Oxalate de vert de malachite	0,037 g
Gélose	2,7 g
Eau distillée	1,0 L
pH 5,2 ± 0,2	
Supplément	
Novobiocine	20,0 mg
Eau distillée	10,0 mL

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients de base à l'eau distillée. Chauffer jusqu'à dissolution pour dissoudre. Ne pas stériliser à l'autoclave. Laisser refroidir à 50 °C et ajouter 10 mL de la solution de novobiocine. Mélanger

soigneusement et distribuer 18,0 mL par boîte de Pétri stérile. Les boîtes doivent être complètement sèches (1 à 3 heures) avant de remettre les couvercles en place. Elles peuvent être laissées à la température de la pièce pour la nuit avant d'être réfrigérées. Les boîtes de MSR/V préparées doivent être conservées debout. On peut les conserver jusqu'à 2 semaines au réfrigérateur, dans l'obscurité. Examiner les boîtes aussitôt que possible après l'incubation car des réactions de mobilité faussement positives peuvent se développer à la température de la pièce.

Supplément:

Dissoudre la novobiocine dans l'eau et stériliser par filtration. Distribuer en quantités suffisantes et conserver au congélateur.

Modified Sorbitol MacConkey Agar (TCCSMAC) [Gélose MacConkey sorbitol modifiée (MACSTCC)]	
Milieu de base (Gélose MacConkey sorbitol) Voir la Note ci-dessous	
Peptone	Difco: 15,5 g [Oxoid: 20 g]
Protéose peptone	Difco: 3,0 g [Oxoid: 0 g]
Sorbitol	10,0 g
Sels biliaire no 3	1,5 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Rouge neutre	0,03 g
Violet de gentiane	0,001 g
Gélose	15,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,1 ± 0,2	
Suppléments	
* Cefsulodine à 1% (1,0 g/100mL)	1,0 mL
Cefixime (1,0 mg/mL)	50,0 µL
Tellurite de potassium à 0,1% (0,1g/100mL)	2,5 mL

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients de base dans 1,0 L d'eau distillée en agitant pour dissoudre tous les ingrédients (sauf la gélose) et ajuster le pH. Chauffer jusqu'à ébullition pour dissoudre la gélose. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45- 50 °C. Stériliser les suppléments par filtration et ajouter au milieu de manière aseptique. Faire tourner doucement le milieu (sans créer de bulles d'air) afin de bien répartir les suppléments. De manière aseptique, distribuer la gélose dans les boîtes de Pétri et laisser solidifier. Faire sécher les boîtes sous une hotte à flux laminaire afin d'enlever l'excès d'humidité. Conserver les géloses à 4°C pendant 2 semaines.

* La cefsulodine n'est pas nécessaire si l'on utilise le bouillon d'enrichissement BEE.

Note: Le milieu de base (gélose MacConkey sorbitol) est disponible commercialement chez plusieurs fabricants tels que BD-Difco et Oxoid. La formulation du milieu de base peut varier légèrement (comme ci-dessus) et peut être interchangeable. Si un milieu de base d'une autre source est utilisé, il incombe au superviseur du laboratoire d'en assurer l'équivalence.

Les suppléments sont disponibles commercialement. Si l'on achète un produit reconstitué (forme liquide), assurer que la concentration finale dans le milieu ci-dessus est adéquate. Pour la **gélose MACSTCC**, la concentration de tellurite de potassium est de 2,5 mg/L et de cefixime est de 0,050 mg/L.

Modified TSB with Novobiocin (mTSB-n) [TSB modifié avec novobiocine]	
Milieu de base	
Bouillon de trypticase-soja ou bouillon de tryptone-soja	30,0 g
Sels biliaires no. 3	1,5 g
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	1,5 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,4 ± 0,2	
Supplément solution de novobiocine (100mg/mL)	
Novobiocine (sel sodique)	100 mg
Eau distillée	1,0 mL

Milieu complet:

Dissoudre les ingrédients, sauf la novobiocine, dans l'eau distillée. Chauffer jusqu'à ébullition et répartir. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Après refroidissement, conserver à 4 °C. Avant usage, ajouter 0,2 mL de solution de novobiocine.

Supplément: Dissoudre la novobiocine. Stériliser par filtration à l'aide d'un filtre de 0,2 µm et d'une seringue. Se conserve pendant plusieurs mois dans une bouteille brune à 4 °C.

Motility Test Medium [Milieu pour l'épreuve de mobilité]	
Milieu de base	
Extrait de boeuf	3,0 g
Hydrolysât pancréatique de gélatine	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Gélose	4,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans l'eau et mélanger soigneusement. Chauffer en agitant fréquemment et faire bouillir pendant une minute pour dissoudre complètement. Répartir et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes

Motility Test Medium with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) [Milieu pour l'épreuve de mobilité avec 2,3,5-chlorure de triphényltétrazolium (TTC)]	
Milieu de base	
Hydrolysât pancréatique de gélatine	10,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Extrait de boeuf	3,0 g
Gélose	3,5 g
TTC	0,05 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans l'eau et mélanger soigneusement. Chauffer en agitant fréquemment et faire bouillir pendant une minute pour dissoudre complètement. Répartir et stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Ce milieu doit être conservé en position debout à 4°C et à l'abri de la lumière. Dans ces conditions, le milieu se conserve 26 semaines à partir de la date de la fabrication.

Note: Ce milieu peut être préparé en ajoutant le TTC au milieu commercial régulier pour l'épreuve de mobilité.

mPAC Agar [Gélose mPAC]	
Milieu de base	
Gélose	12,0 g
L-lysine HCl	5,0 g
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0 g
Thiosulfate de sodium (Na ₂ S ₂ O ₅)	5,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	1,5 g
Lactose	1,25 g
Sucrose	1,25 g
Xylose	1,25 g
Citrate d'ammonium et de fer	0,80 g

Rouge de phénol	0,08 g
Acide nalidixique	0,037 g
Kanamycine	8,0 mg
Eau distillée	1,0 L
pH 7,2 ± 0,2	

Milieu complet:

Ajouter les ingrédients à l'eau distillée et porter le volume à 1,0 L. Mélanger soigneusement. Chauffer doucement et porter à ébullition. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes et répartir.

MR-VP medium - See Buffered Glucose Broth and Buffered Glucose Salt Broth (*Vibrio*)
[Milieu MR-VP - voir Bouillon de glucose tamponné et Bouillon de glucose et sel tamponné (*Vibrio*)]

Mueller-Hinton Agar (MH)* [Gélose Mueller-Hinton *]**Milieu de base**

Infusion de boeuf	300 g
Hydrolysât acide de caséine, technique	17,5 g
Amidon soluble	1,5 g
Gélose	17,0 g
Eau distillée	1,0 L
pH 7,3 ± 0,2	

Milieu complet:

Suspendre les ingrédients dans l'eau distillée. Chauffer jusqu'à ébullition pour dissoudre complètement. Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir et répartir.

* Ajouter du NaCl à une concentration finale de 2 à 3% lorsqu'utilisé pour les *Vibrio* spp halophiles.

Mueller-Hinton Agar with Blood [Gélose Mueller-Hinton avec sang]**Milieu complet:**

Ajouter 50,0 mL de sang de cheval défibriné stérile pour 950 mL de gélose Mueller-Hinton (concentration finale du sang de 5%).