ANNEXE A : Composition des milieux de culture utilisés

- **Gélose nutritive**

Peptone pepsique de viande.....**5g**

Extrait de viande.....**1g**

Extrait de levure **2g**

Chlorure de sodium **5g**

Agar **15g**

Eau distillée.....**1000ml**

- **Gélose Mac Conkey**

Peptone de caséine **17g**

Peptone de viande **3g**

Selsbiliares **1,5g**

Cristal violet **0, 0075**

Lactose **10g**

Rouge neutre **0,03g**

NaCl **5g**

Agar **12g**

Eau distillée.....**1000ml**

- **Gélose Mueller-Hinton**

Viande de bœuf **300.0g/l**

Hydrolysat de caséines.....**17,5g/l**

Amidon **1,5g/l**

Gélose.....**17.0g /l**

Eau distillée **1000ml**

- **Gélose *Salmonella-Shigella* (SS)**

Peptone ……...…….**5,0 g**

Extrait de viande…….....…….**5,0 g**

Lactose…….....**10,0 g**

Citrate de sodium…….....……..**10,0 g**

Citrate de fer III…….....……..**1,0 g**

Sels biliaires….....**8,5 g**

Rouge neutre……..…….…..….**25mg**

Thiosulfate de sodium…….…..…….**8,5 g**

Vert brillant…….....…….**3,3mg**

Agar-agar…….....…..….**12,0 g**

Eau distillée **1000ml**

- **Gélose Désoxycholate Citrate Lactose Sucrose (DCLS)**

Peptone …….....…… **7,0 g**

Extrait de viande.....**3,0 g**

Lactose .....**5,0 g**

Citrate de sodium .....**10,5 g**

Désoxycholate de sodium .....**2,5 g**

Rouge neuter.....**0, 03 g**

Thiosulfate de sodium.....**5,0 g**

Agar-agar.....**12, 0 g**

Eau distillée..... **1000ml**

- **Bouillon SFB**

Enzymatic Digestif of Casein ……**2.5g**

EnzymaticDigestif of Animale Tissue……..…**2.5g**

Lactose ……**4g**

Soduim Phosphate ……..**10g**

Soduim Selenite ……..….**4g**

Eau distillée…….……...**1000ml**

- **Tryptone- sel**

Tryptone (peptone de caséine)……..**1,0g**

Chlorure de sodium ……**8,5g**

Eau distillée…….…... **1000ml**

ANNEXE B : Coloration de Gram

Principe : La coloration permet de distinguer les bactéries GRAM+ des GRAM- grâce à leurs différences de nature de paroi

ETAPES	MODE OPERATOIRE	TEMPS	PRINCIPE
COLORATION PRIMAIRE	Recouvrir la lame de **violet de gentiane** - Rincer à l'eau distillée	1 minute	Le colorant violet pénètre dans les cellules bactériennes
MORDANÇAGE	- Recouvrir de **Lugol** - Rincer à l'eau distillée et l'égoutter	1 minute	Il se forme un complexe chimique entre le violet et le Lugol qui fixe le violet et colore le cytoplasme de toutes les bactéries en violet
DECOLORATION	-Tenir la lame inclinée et faire couler pendant **quelques secondes** de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore. - Rincer immédiatement à l'eau distillée et égoutter	1 minute	L'alcool dissout le violet de gentiane, si la paroi bactérienne est perméable à l'alcool (les lipides sont dissous par l'alcool), celui-ci pénètre dans les bactéries et décolore leur cytoplasme : les bactéries deviennent incolores. Si les bactéries ont une paroi imperméable à l'alcool (épaisse et sans lipides), elles restent colorées en violet et elles sont dites GRAM + ou positif
COLORATION SECONDAIRE	- Recouvrir la lame de **fuschine** - Rincer à l'eau distillée	1 minute	La fuschine recolore en rose les bactéries précédemment décolorées : les bactéries Gram à négatif.
SECHAGE	- Egoutter entre 2 morceaux de papier-filtre et laisser sécher		

ANNEXE C : Réactifs utilisés

Réactif de Kovacs :

- P-diméthylaminobenzaidéhyde**7 g**
- Alcool amylique **75 ml**
- Acide chlorhydrique concentré**20 ml**

Réactifs de Voges-Proskauer (VP) :

VP I :

- Hydroxyde de potassium**40 g**
- Eau **100 ml**

VP II :

- α naphtol**6 g**
- Ethanol **100 ml**

Réactif de la recherche du tryptophane désaminase (TDA) :

- Perchlorure de fer **3,4 g**
- Eau distillée stérile**100 ml**

Réactifs pour la recherche du nitrate réductase (NR) :

Réactif 01 :

- Acide sulfamilique**0,8 g**
- Acide acétique 5N **100 ml**

Réactif 02 :

- Naphtylamine**0,5 g**
- Acide acétique 5N**100 m**

ANNEXE D: Tableau de la lecture de la galerie miniaturisée API 20^E

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-Galactosidase	Beta- galactosidase	Incolore	ONPG
ADH	L-arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	ADH
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	LDC
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	ODC
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	CIT
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	H2S
URE	Urée	Uréase	Jaune	URE
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / immédiat	
			Jaune	
IND	L-tryptophane	Production d'indole	James/ immédiat	
			Incolore/ vert pâle-jaune	
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP 1 + VP 2/ 10mn	
			Incolore	
GEL	Gélatine de kohn	Gélatinase	Non diffusion	GEL
GLU	D-glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	GLU
MAN	D-mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	MAN
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	INO
SOR	D-sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	SOR
RHA	L-rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	RHA
SAC	D-saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	SAC
MEL	D-melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	MEL
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	AMY
ARA	L-arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	ARA
Nitrate réductase Tube GLU	Potassium nitrate	Production de NO_2	NIT1 + NIT2 / 2-3 mn	
			Jaune	
		Réduction au stade N_2	Zinc / 5mn	
			Rouge/orangé	

ANNEXE E : Classification des principaux antibiotiques à usage vétérinaire

Principales familles d'antibiotiques à usage vétérinaire	Sous-familles d'antibiotiques	Modes d'action	Exemples de principes actifs à usage vétérinaire
Bêta-lactamines	Pénicillines Céphalosporines	Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, en particulier de la synthèse du peptidoglycane, ce qui modifie la rigidité de la structure et la forme de la bactérie. L'enveloppe externe est alors fortement fragilisée. La bactérie devient très sensible aux stress extérieurs (pression osmotique, température, stress mécanique) provoquant la lyse cellulaire.	Pénicillines G, M et A Céphalosporines (1re, 2e, 3e, 4e générations*)
Polymyxines		Perturbation de la structure de la membrane plasmique, en s'insérant parmi les phospholipides externes, ce qui désorganise son intégrité. La perméabilité n'est alors plus assurée. Des métabolites et ions fuient en dehors de la cellule, provoquant la mort de la bactérie.	Colistine Polymyxine B
Aminosides		Inhibition de la synthèse protéique en agissant sur les ribosomes et donc en bloquant leur action de synthèse des protéines. Cela empêche la formation de nouvelles protéines, donc la multiplication des bactéries voire, pour les aminosides, engendre leur destruction en provoquant la synthèse de protéines aberrantes	Gentamicine Apramycine
Macrolides & apparentés	Macrolides LincosamidesPleuromutilines		Erythromycine Spiramycine Clindamycine Tiamuline
Cyclines			Chlortétracyclines Doxycycline
Phénicolés			FlorfénicolThiamphénicol
Quinolones	Quinolones Fluoroquinolones	Perturbation de la structure de l'ADN, en se fixant sur des enzymes majeures de régulation : la topoisomérase et l'ADN gyrase.	FuméquineEnrofloxacineMarbofloxacine
Sulfamides		Inhibition compétitive de la synthèse des bases de l'ADN. Les sulfamides sont des analogues structurels de l'acide folique, intermédiaire de leur synthèse. Ce blocage conduit à un arrêt de croissance bactérienne.	Sulfadiazine SulfadiméthoxineSulfaméthoxazole + Triméthoprime