

Milieu gélosé M (Triple Sugar Iron milieu gélosé)

356-4384

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries en général et des *Salmonella* en particulier lors du contrôle de la contamination des produits non obligatoirement stériles de la Pharmacopée.

Equivalent USP 30/NF 25 : Milieu XVI

REFERENCE(S)

MICROBIOLOGIE PHARMACEUTIQUE
 • **USP 30 - NF 25 - U.S. Pharmacopeia & National Formulary 2007** - < 61 > Microbial Limit Tests/Microbiological Tests : **1815**

• **Pharmacopée Européenne 6.0** – Méthodes biologiques - 2.6.13. Recherche de micro-organismes spécifiés

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude ou l'incapacité des entérobactéries à fermenter le glucose (avec ou sans dégagement de gaz), le lactose, le saccharose et à réduire les sulfates en sulfures qui, en présence de fer, donne un précipité noir de sulfure de fer.

PRESENTATION

Déshydraté

500 g

code 356-4384

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g
Peptone	20 g
Chlorure de sodium	5 g
Lactose	10 g
Saccharose	10 g
Glucose	1 g
Sulfate ferreux ammoniacal	300 mg
Rouge de phénol	24 mg
Thiosulfate de sodium anhydre	300 mg
Agar	11 g
Eau distillée	1000 ml

pH_(25°C) final = 7,4 ± 0,2

NB : Des adaptations de la formule ont pu être réalisées afin d'atteindre les critères de performance requis.

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Diluant(s)
- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Tubes à essais (16 x 160 mm) avec bouchons autoclavables
- Pipettes Pasteur stériles (code 355-0751) ou ôse bouclée
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ±1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation.

Dissoudre 63,5 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Répartir à raison de 10 ml par tube et stériliser à l'autoclave à 115°C ± 1°C pendant 15 minutes.

Laisser reposer en position inclinée de façon à obtenir un culot de 2,5 cm de profondeur.

Taux de reconstitution : 63,5 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 7,9 litres de milieu.

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

A partir de chaque boîte de milieu sélectif, prélever le nombre de colonies préconisé et les réisoler sur une gélose nutritive ordinaire (code 356-4485) afin d'obtenir des souches pures.

Incuber à 37°C ± 1°C pendant 24 heures.
A partir de ces cultures pures, ensemercer la pente du milieu par des stries et le culot par piqûre à l'aide d'une pipette Pasteur ou ôse bouclée préalablement stérilisée à la flamme.

LECTURE ET INTERPRETATION

Interpréter les phénomènes se produisant de la manière suivante :

Culot :

- jaune: glucose positif (fermentation du glucose)
- rouge ou inchangé: glucose négatif
- noir : formation de sulfure d'hydrogène
- bulles ou fissures: formation de gaz à partir du glucose

Pente de la gélose :

- jaune : lactose et/ou saccharose positif (utilisation du lactose et/ou du saccharose)
- rouge ou inchangée: lactose et/ou saccharose négatif

Bactéries	Pente lactose et/ou saccharose	Culot Gaz [1]	H ₂ S
<i>Citrobacter</i>	+	+	+ [-]
<i>Edwardsiella</i>	-	+	+
<i>Hafnia</i>	- +	+ + [2]	- -
<i>Escherichia</i>	+ [-]	+	-
<i>E. coli</i> (biotype A.d.)	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	+	+ [-]	-
<i>Levinea</i>	- or +	+	-
<i>Proteus</i> • <i>vulgaris</i> • <i>mirabilis</i> • <i>morganii</i> • <i>rettgeri</i>	+ or - - or + - -	+ or - + or - + or - -	+ + - -
<i>Providencia</i>	-	- [+]	-
<i>Salmonella sp.</i> <i>S. typhi</i> <i>S. paratyphi A</i> <i>S. arizona</i>	- - - -	+ - + +	+ traces - +
<i>Serratia</i>	+ or -	- or + [3]	-
<i>Shigella</i>	-	-	-
<i>Yersinia</i>	d [4]	-	-

[1] Le culot est obligatoirement jaune (excepté dans le cas où le dégagement d'H₂S provoquerait un noircissement intense) puisque toutes les entérobactéries fermentent le glucose.

[2] Sauf *E. agglomerans*

[3] Le gaz produit par les souches de *Proteus*, *Providencia* et *Serratia* est peu abondant.

[4] d : résultats variables suivant les souches.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la solution mère (ou de la dilution 10⁻¹ dans le cas d'un produit solide) et le moment où les dilutions entrent en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 15 minutes.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

CONTROLE QUALITE

Au regard des travaux préalables à l'harmonisation des pharmacopées actuellement en cours, nous vous recommandons de vous reporter aux certificats de contrôle pour connaître les modalités mises en œuvre pour le contrôle de la qualité (performance et sélectivité) des milieux de culture fabriqués par Bio-Rad.

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis. Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

TSI/ Entérobactéries/*Salmonella*/
Produits alimentaires/Identification/
Trois Sucres/Citrate de Fer/Milieu

BIBLIOGRAPHIE

HAJNA A.A. (1945) : Triple Sugar Iron medium for the identification of the Intestinal group of bacteria. Journal of bacteriology 49 : 516 - 517