

T.C.B.S./Gélose

(Thiosulfate - Citrate - Bile - Saccharose)

355-5933

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Vibrio parahaemolyticus* dans les eaux conchylicoles et dans les coquillages marins vivants.

Bleu de thymol	0,04 g
Agar	14 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 8,6 ± 0,2	

REFERENCE(S) NORMATIVE(S) MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF ISO 8914 (Mai 1991)** : Microbiologie - Directives générales pour la recherche de *Vibrio parahaemolyticus* (IC : V 08-024).

• **NF V 45-111 (Juillet 1985)** : Produits de la pêche - Recherche de *Vibrio parahaemolyticus* dans les eaux conchylicoles et dans les coquillages marins vivants.

• Méthodes d'analyses bactériologiques pour le contrôle des coquillages (Circulaire DGAL / SVHA/C 88/N° 8003 du 28 avril 1988).

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur la non-aptitude des *Vibrio parahaemolyticus* à fermenter le saccharose. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries par la bile de boeuf et les concentrations élevées en thiosulfate et en citrate de sodium.

PRESENTATION

• **Prêt à l'emploi**
100 ml x 6 flacons

code 355-5933

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : à + 2 - 8 °C.
- Déshydraté : + 15 - 25 °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Peptone	10 g
Extrait de levure	5 g
Citrate de sodium	10 g
Thiosulfate de sodium	10 g
Chlorure de sodium	10 g
Bile de boeuf	8 g
Citrate ferrique	1 g
Saccharose	20 g
Bleu de bromothymol	0,04 g

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
- Flacons de 100 ml en Pyrex avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes Pasteur stériles (**code 355-0751**) ou øse bouclée
- Bain-marie avec une précision de ± 1 °C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Enrichissement en milieu sélectif

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

Après incubation du milieu d'enrichissement, isoler sur le milieu T.C.B.S. Incuber 18 à 24 heures à 37 °C ± 1 °C.

LECTURE ET INTERPRETATION

- *Vibrio parahaemolyticus* : colonies bleu-vert de 3 à 5 mm de diamètre.
- *V. Alginolyticus* : colonies jaunes de 3 à 5 mm de diamètre.
- *Enterococcus sp* : colonies jaunes de 1 mm de diamètre.

T.C.B.S./Gélose

(Thiosulfate - Citrate - Bile - Saccharose)

- *Proteus sp* : colonies jaune-vert de 1 mm de diamètre.
- *Pseudomonas sp*: colonies bleu-vert de 1 mm de diamètre.

L'identification des diverses espèces de vibrions sur T.C.B.S. est présomptive et doit être confirmée par des tests supplémentaires.

Remarques :

1. *E. coli*, *S. Typhi*, *Klebsiella*, *Shigella*, *P. aeruginosa*, *Proteus*, susceptibles de pousser sur ce milieu, n'y présentent pas de coloration jaune.

2. Les souches de vibrions isolées doivent être transmises au :

CENTRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE
des VIBRIONS
INSTITUT PASTEUR
75015 PARIS
Tél : 01.43.06.19.19

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.

- La plupart des bactéries autres que les *Vibrio* sont inhibées sur ce milieu au moins pendant 24 heures. Toutefois, certaines colonies de *Proteus* et de *Streptococcus faecalis* peuvent y apparaître mais elles sont facilement reconnaissables par rapport aux colonies de *Vibrio*.

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24-48h à 37 °C
<i>Vibrio cholerae</i>	Bonne croissance Colonies jaunes
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Absence de croissance ou très faible
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> CIP 75.2	Bonne croissance Colonies bleu-vert

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

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

T.C.B.S./ *Vibrio parahaemolyticus* / Coquillages marins / Eaux conchylicoles / Recherche / Dénombrement / Milieu.

BIBLIOGRAPHIE

• **DODIN A. (10-11 Novembre 1982) :** Diagnostic du vibron cholérique au laboratoire. Réunion internationale sur les infections intestinales. Grenade (Espagne).