

## TSI / Gélose (Triple Sugar Iron)

356-4384

### DOMAINE D'APPLICATION

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

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

#### MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

- **NF EN ISO 10272-1 (Avril 2006)**  
Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche de *Campylobacter spp.* Partie 1 : méthode de recherche. (IC : V 08-026)
- **NF ISO 8914 (Mai 1991)** : Microbiologie - Directives générales pour la recherche de *Vibrio parahaemolyticus* (IC : V 08-024)
- **NF V 08-301 (Juin 1983)** : Microbiologie alimentaire - Produits déshydratés - Examen microbiologique (IC : V08-301)
- **NF V 59-104 (Octobre 1982)** : Gélatine alimentaire - Recherche des *Salmonella* (IC : V59-104)
- **FIL 93B (1995)** : Lait et produits laitiers - Recherche des *Salmonella*
- **NF EN ISO 6579 (Décembre 2002)**  
Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella spp.*

#### EAUX

- **NF V45-111 (Juillet 1985)** : Produits de la pêche - Recherche de *Vibrio parahaemolyticus* dans les eaux conchylicoles et dans les coquillages marins vivants (IC: V45-111)
- **ISO 19250 (Juillet 2010)** : Qualité de l'eau - Recherche de *Salmonella*

### 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

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

# TSI / Gélrose

## (Triple Sugar Iron)

Répartir à raison de 10 ml par tube et stériliser à l'autoclave à  $115 \pm 1^\circ\text{C}$  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**

### PROTOCOLÉ

#### • 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  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 24 heures.

A partir de ces cultures pures, ensemencer 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.

**[1]** Le culot est obligatoirement jaune (excepté dans le cas où le dégagement d' $\text{H}_2\text{S}$  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

MICRO-ORNAISMES	Pente lactose et /ou saccharose	Culot GAZ [1]	H <sub>2</sub> 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>	- ou +	+	-
<i>Proteus</i> • <i>vulgaris</i> • <i>mirabilis</i> • <i>morganii</i> • <i>rettgeri</i>	+ ou - - ou + - -	+ ou - + ou - + ou - -	+ + - -
<i>Providencia</i>	-	- [+]	-
<i>Salmonella sp.</i> <i>S. typhi</i> <i>S. paratyphi A</i> <i>S. arizona</i>	- - - -	+ - + +	+ traces - +
<i>Serratia</i>	+ ou -	- ou + [3]	-
<i>Shigella</i>	-	-	-
<i>Yersinia</i>	d [3]	-	-

### PRECAUTION 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.

# TSI / Gélose

## (Triple Sugar Iron)

### PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Caractères biochimiques observés en 24h à 37°C				
	Glc	Lac	Sac	Gaz	H <sub>2</sub> S
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	-	+	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	+	+	-	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC12883	+	+	+	+	-
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	+	-	-	+	+
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	+	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-	-	-

### 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

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.