

GELOSE TRYPTO-CASEINE SOJA (TSA)

MILIEU NUTRITIF

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Trypto-caséine soja (TSA) est un milieu universel convenant pour un large éventail d'emplois. Du fait de son excellente nutritivité, elle peut être utilisée, d'une part pour les culture et isolement des bactéries aérobies et anaérobies, d'autre part pour favoriser la croissance de germes particulièrement exigeants. Coulée en boîtes à fond quadrillé ou sur languettes, elle convient pour les tests rapides d'examen des surfaces. Elle constitue également le milieu de référence utilisé pour l'évaluation des critères de productivité et de sélectivité, pour le contrôle de qualité de certains milieux de culture concernant la chaîne alimentaire et le domaine de l'eau, suivant la norme NF EN ISO 11133.

La formule-type répond notamment à la composition définie dans les Pharmacopée européenne et américaine.

2 PRINCIPES

L'association entre la Tryptone et la peptone papainique de soja réalise une synergie entre l'apport protidique de la caséine et l'apport glucidique du soja, permettant ainsi d'obtenir une croissance optimale pour un nombre élevé de germes exigeants et non exigeants.

Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.

3 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 15,0 g
- Peptone papainique de soja 5,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Agar agar bactériologique 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,3 ± 0,2.

4 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 40,0 g de milieu déshydraté (BK047) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
40,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Utilisation du milieu prêt-à-liquéfier :

- Faire fondre le milieu ainsi préparé ou le milieu prêt-à-liquéfier (BM017, BM049) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.

5 MODE D'EMPLOI

Dénombrement en surface

- Couler le milieu maintenu à 44-47 °C en boîtes de Petri stériles
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- A la surface du milieu préparé ou des boîtes pré-coulées (BM050), étaler 0,1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales, à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber selon le référentiel utilisé :
 - à 30-35 °C pendant 72 ± 6 heures (NF EN ISO 21149, NF EN ISO 18415)
 - à 30-35 °C pendant 3 à 5 jours pour le dénombrement des germes aérobies totaux (Pharmacopée)

✓ **Ensemencement :**
0,1 mL en surface

✓ **Incubation :**
30-35 °C

NOTE :

Le milieu peut aussi être utilisé suite à des filtrations sur membranes (Pharmacopée, NF EN ISO 21149)

Dénombrement en profondeur

- Transférer 1 mL de la suspension et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Incuber selon le référentiel utilisé :
 - à 30-35 °C pendant 72 ± 6 heures (NF EN ISO 21149, NF EN ISO 18415)
 - à 30-35 °C pendant 3 à 5 jours pour le dénombrement des germes aérobies totaux (Pharmacopée)

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
30-35 °C

Pour d'autres utilisations, se reporter au référentiel en vigueur.

6 LECTURE

Après incubation, observer la croissance bactérienne.

Dans le cas d'un dénombrement, tenir compte des boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale après incubation 48 h à 30-35 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00032	$P_R \geq 50 \%$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026	$P_R \geq 50 \%$
<i>Bacillus cereus</i>	WDCM 00001	$P_R \geq 70 \%$
<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>spizizenii</i>	WDCM 00003	$P_R \geq 70 \%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 70 \%$
<i>Listeria monocytogenes</i> 4 b	WDCM 00021	$P_R \geq 70 \%$
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	$P_R \geq 70 \%$

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons : 2-25 °C

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri : 2-8 °C

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en tubes ou en flacons (*) : 180 jours à 2-25 °C.

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK047HA

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :

Coffret de 20 boîtes BM05008

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :

Pack de 10 flacons de 100 mL BM01708

Pack de 10 flacons de 200 mL BM04908

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF EN ISO 9308-1. Septembre 2000. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes. Partie 1 : Méthode par filtration sur membrane.

NF EN 15784. Décembre 2009. Aliments des animaux. Isolement et dénombrement des souches de *Bacillus* spp. présumées.

NF EN ISO 11930. Juin 2012. Cosmétiques - Microbiologie - Évaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture (Tirage 2 (2016-01-01)).

NF EN ISO 21150. Février 2016. Cosmétiques. Microbiologie. Détection d'*Escherichia coli*.

NF EN ISO 22717. Février 2016. Cosmétiques. Microbiologie. Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*.

NF EN ISO 22718. Février 2016. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Staphylococcus aureus*.

ISO 9308-1. Septembre 2014. Qualité de l'eau - Dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes - Partie 1 : méthode par filtration sur membrane pour les eaux à faible teneur en bactéries.

NF EN ISO 22964. Juin 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la détection de *Cronobacter* spp..

NF EN ISO 11731. Juillet 2017. Qualité de l'eau. Dénombrement des *Legionella*.

NF EN ISO 18415. Août 2017. Cosmétiques. Microbiologie. Détection des micro-organismes spécifiés et non spécifiés.

NF EN ISO 21149. Août 2017. Cosmétiques. Microbiologie. Dénombrement et détection des bactéries aérobies mésophiles.

Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés.

11 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : GELOSE TRYPTO CASEINE SOJA_FR_V12.

Date création : 06-2003

Date de révision : 01-2018

Motif de révision : Références bibliographiques.