

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 Pharmacopées européenne (EP), américaine (USP) et japonaise (JP).

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)
 - à 30-35 °C pendant 48 à 72 heures (NF EN ISO 18415)
 - à 30-35 °C jusqu'à 3 jours pour des bactéries et jusqu'à 5 jours pour des levures et moisissures (Pharmacopées)

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

✓ **Incubation :**
30-35 °C

NOTE :

Le milieu peut aussi être utilisé suite à des filtrations sur membranes (Pharmacopées, 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)
 - à 30-35°C pendant 48 à 72 heures (NF EN ISO 18415)
 - à 30-35 °C jusqu'à 3 jours pour des bactéries et jusqu'à 5 jours pour des levures et moisissures (Pharmacopées)

✓ **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.

Milieus prêts-à-liquéfier en flacons : 2-25 °C

Milieus pré-coulés 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

Milieus pré-coulés en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :

Coffret de 20 boîtes..... BM05008

Coffret de 120 boîtes..... BM17808

Milieus prêts-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 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 9308-1/A1. Janvier 2017. 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 – Amendement 1.

NF EN 15784. Novembre 2021. Aliments des animaux : méthodes d'échantillonnage et d'analyse - Détection et dénombrement des souches de Bacillus spp. utilisées comme additifs pour l'alimentation animale.

NF EN ISO 11930. Février 2019. Cosmétiques - Microbiologie - Évaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique.

NF EN ISO 11930/A1. Septembre 2022. Cosmétiques - Microbiologie - Évaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique – Amendement 1.

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 11133/A1. Mars 2018. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture - Amendement 1

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

NF EN ISO 21150/A1. Septembre 2022. Cosmétiques. Microbiologie. Détection d'Escherichia coli – Amendement 1.

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

NF EN ISO 22717/A1. Septembre 2022. Cosmétiques. Microbiologie. Recherche de Pseudomonas aeruginosa – Amendement 1.

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

NF EN ISO 22718/A1. Septembre 2022. Cosmétiques - Microbiologie - Détection de Staphylococcus aureus - Amendement 1.

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 18415/A1. Septembre 2022. Cosmétiques. Microbiologie. Détection des micro-organismes spécifiés et non spécifiés – Amendement 1.

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

NF EN ISO 21149/A1. Septembre 2022. Cosmétiques. Microbiologie. Dénombrement et détection des bactéries aérobies mésophiles – Amendement 1.

Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.12. Contrôle microbiologique des produits non stériles : essais de dénombrement microbien et Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés. Textes harmonisés.

The United States Pharmacopeia. Chapter <61> Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests and Chapter <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products.

The Japanese Pharmacopoeia. Chapter 4.05 Microbial Limit Test I. Microbiological examination of non-sterile products: Total viable aerobic count and II. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products.

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_v13(fr).

Date création : 06-2003

Date de révision : 12-2023

Motif de révision : Revue générale