
GÉLOSE TSI (NF EN ISO 6579-1)

IDENTIFICATION DES ENTEROBACTERIES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) est utilisée pour la confirmation et l'identification des entérobactéries. Elle permet de déterminer les caractères biochimiques suivants : fermentation du lactose, du glucose et du saccharose ; production de sulfure d'hydrogène.

La formule-type répond à la composition de la gélose TSI définie dans les normes NF EN ISO 6579-1 et NF EN ISO 19250 pour la recherche de *Salmonella* spp..

2 HISTORIQUE

Hajna a développé la formulation de cette gélose à trois sucres en ajoutant du saccharose au milieu à deux sucres (lactose et glucose) de Kligler. L'addition de saccharose permet d'accroître la sensibilité du milieu en permettant la détection précoce des coliformes qui, fermentant le lactose lentement, dégradent plus rapidement le saccharose. Le milieu favorise également la différenciation de certaines souches de *Proteus* (lactose-négatif) qui fermentent le saccharose en 24 heures d'incubation.

3 PRINCIPES

Les fermentations sucrées se traduisent par une acidification qui fait virer au jaune le rouge de phénol (indicateur pH).

Pour faciliter la détection des germes qui fermentent uniquement le glucose, la concentration de ce sucre a été abaissée au 1/10ème de celle du lactose ou du saccharose, de telle façon que la faible quantité d'acide produite sur la pente pendant la fermentation s'oxyde rapidement, ce qui entraîne un retour rapide à la coloration rouge ou bien à une ré-alcalinisation plus prononcée. Par contre, la réaction acide (couleur jaune) est maintenue en profondeur dans le culot du tube.

Les germes qui fermentent le lactose ou le saccharose font virer au jaune la pente du tube.

Les microorganismes ne fermentant aucun des trois sucres ne modifient pas la couleur du milieu.

La production de sulfure d'hydrogène se manifeste dans le culot par l'apparition d'une coloration noire de sulfure de fer qui est due à la réduction du thiosulfate en présence de citrate ferrique.

La production de gaz (hydrogène, dioxyde de carbone) résultant des fermentations sucrées se traduit ou bien par l'apparition de bulles ou bien par la fragmentation de la gélose.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Extrait de viande	3,0 g
- Peptone	20,0 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Lactose.....	10,0 g
- Saccharose	10,0 g
- Glucose	1,0 g
- Thiosulfate de sodium	0,3 g
- Citrate de fer (III)	0,3 g
- Rouge de phénol.....	24,0 mg
- Agar agar bactériologique.....	9,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,4 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 61,6 g de milieu déshydraté (BK221) 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.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Incliner les tubes de manière à obtenir un culot de 3 cm de hauteur et une pente oblique.

✓ **Reconstitution :**
61,6 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

Note : Lorsque le milieu n'est pas utilisé dans les 8 jours qui suivent sa préparation, il est recommandé de le régénérer au bain-marie bouillant et de le solidifier à nouveau en bonne position.

6 MODE D'EMPLOI

- A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, ensemercer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées.
- Incuber à 37 ± 1 °C pendant 24 ± 3 heures (capsules desserrées) de manière à favoriser les échanges gazeux.

✓ **Ensemencement :**
Piqûre centrale et stries en surface

✓ **Incubation :**
24 h à 37 °C

Note : Pour l'analyse des échantillons d'eau, incuber à 36 ± 2 °C pendant 24 ± 3 heures.

7 LECTURE

L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification (virage au jaune du rouge de phénol). Une alcalinisation se révèle par une coloration rouge foncé. La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire.

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

Fermentation de glucose :

- Culot rouge : glucose non fermenté
- Culot jaune : glucose fermenté

Fermentation du lactose et/ou du saccharose :

- Pente rouge : lactose et saccharose non fermentés
- Pente jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s)

Production de gaz :

- Apparition de gaz dans le culot.

Formation d'H₂S :

- Formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre

Les réactions typiques obtenues sont présentées dans le tableau suivant :

Microorganismes	Pente	Culot		H ₂ S
	Lactose / Saccharose	Glucose	Gaz	
<i>Salmonella</i> Typhi ⁽²⁾	-	+	-	+
<i>Salmonella</i> Paratyphi A ⁽²⁾	-	+	+	-
<i>Salmonella</i> Choleraesuis ⁽²⁾	-	+	+	-
<i>Salmonella</i> Pullorum ⁽²⁾	-	+	+	+
<i>Salmonella</i> Paratyphi B ⁽²⁾	-	+	+	+
<i>Salmonella</i> Typhimurium ⁽²⁾	-	+	+	+
<i>Salmonella</i> Enteritidis ⁽²⁾	-	+	+	+
<i>Salmonella</i> Gallinarum ⁽²⁾	-	+	-	+
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	+	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	+	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	+	-	-
<i>Shigella boydii</i>	-	+	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	[-]	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	+	+
<i>Proteus morgani</i>	-	+	+	-
<i>Proteus rettgeri</i>	-	+	-	-

Microorganismes	Pente	Culot		H ₂ S
	Lactose / Saccharose	Glucose	Gaz	
<i>Serratia marcescens</i>	-	+	-	-
<i>Enterobacter hafniae</i>	-	+	+	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	+	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	-
<i>Escherichia coli</i> ⁽¹⁾	+	+	+	-
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-
<i>Alcaligenes faecalis</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	-

(1) Certaines souches d'*Escherichia coli* ne fermentent le lactose que très tardivement.

(2) Au cas où l'interprétation peut laisser suspecter la présence de salmonelles, il est possible d'effectuer, à partir des cultures sur milieu TSI, la recherche de la β-galactosidase, de l'uréase et de la lysine-décarboxylase.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre rosée, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rouge-orangé.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 36 °C (FD T 90-461)

Microorganismes	Croissance	Pente	Culot	H ₂ S	Gaz
<i>Salmonella</i> Enteritidis WDCM 00030	Bonne, score 2	Rouge	Jaune	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WDCM 00026	Bonne, score 2	Rouge	Rouge	-	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en tubes non inclinés (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu préparé en tubes inclinés (*) : 8 jours à 2-8 °C.

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK221HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sulkin, E.S., and Willet, J.C. 1940. A Triple Sugar Ferrous Sulfate Medium for use in Identification of Enteric Organisms. J. Lab. Clin. Med., 25: 649-653.

Hajna, A.A. 1945. Triple Sugar Iron Medium for the Identification of the Intestinal groups of Bacteria. J. Bact. 49: 516-517.

NF EN ISO 21567. Mai 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

NF ISO 19250. Juin 2013. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp.

FD T90-461. Août 2016. Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture.

12 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 : TSI AGAR ISO 6579-1_FR_V1.

Date création : 06-2018

Gélose TSI (NF EN ISO 6579-1)

Identification des entérobactéries

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37°C.

