

---

## GELOSE AU SULFITE DE BISMUTH

---

DETECTION DES *SALMONELLA* TYPHI, PARATYPHI ET AUTRES SALMONELLES.

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

---

La gélose au sulfite de bismuth est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des *Salmonella* dans les eaux, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

Ce milieu est utilisé, plus particulièrement, pour la détection des sérovars Typhi et Paratyphi de *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* dans les produits d'alimentation humaine et animale, les échantillons au stade de production primaire et les échantillons de l'environnement de production.

La gélose au sulfite de bismuth peut être utilisée dans les méthodes normalisées pour la recherche de *Salmonella*, comme second milieu d'isolement.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 6579-1.

### 2 HISTORIQUE

---

En 1926, Wilson et Blair utilisèrent l'association du bismuth et du sulfite de sodium dans un milieu destiné à l'isolement des *Salmonella* des groupes Typhi et Paratyphi. Puis en 1956, Hajna et Damon décrivirent une formule modifiée qui a été recommandée dans la Pharmacopée américaine.

### 3 PRINCIPES

---

Les concentrations en vert brillant et sulfite de bismuth provoquent l'inhibition de la flore secondaire à Gram-positif et de la plupart des entérobactéries à l'exception des *Salmonella* et de quelques *Shigella*.

A partir des composés soufrés du milieu, les *Salmonella* dégagent du sulfure d'hydrogène qui produit en présence de sulfate ferreux un précipité métallique conférant aux colonies une couleur noire ou parfois verte.

Il est particulièrement recommandé de réaliser au préalable un enrichissement sur un milieu au tétrathionate, sur un bouillon au sélénite ou sur un bouillon de Rappaport-Vassiliadis et d'ensemencer simultanément d'autres milieux moins sélectifs : gélose de MacConkey, gélose XLD ou gélose Hektöen.

En raison de son pouvoir inhibiteur élevé, ce milieu permet la mise en œuvre d'un inoculum fortement contaminé.

### 4 FORMULE-TYPE

---

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

Pour 1 litre de milieu :

- Digestat enzymatique des tissus animaux.....	10,00 g
- Extrait de viande .....	5,00 g
- Dextrose .....	5,00 g
- Hydrogénophosphate disodique Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	4,00 g
- Sulfate de fer .....	0,30 g
- Sulfite de bismuth.....	8,00 g
- Vert brillant .....	25,0 mg
- Agar agar bactériologique .....	20,0 g

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

## 5 PREPARATION

- Mettre en suspension 52,3 g de milieu déshydraté (BK223) 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.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir et maintenir le milieu à 47-50 °C.
- Homogénéiser le milieu de façon à disperser le précipité.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

✓ **Reconstitution :**  
52,3 g/L

✓ **Stérilisation :**  
Porter à ébullition

## 6 MODE D'EMPLOI

- Ensemencer en stries l'inoculum dans les boîtes, à partir des milieux d'enrichissement utilisés.
- Incuber entre 34 et 38 °C pendant 24 et 48 heures.

✓ **Ensemencement :**  
En surface

✓ **Incubation :**  
24 h et 48 h entre 34 et 38°C

## 7 LECTURE

Les colonies caractéristiques de *Salmonella* Typhi apparaissent noires, plates, sèches habituellement entourées d'une zone brun noir avec reflet métallique.

Les colonies vertes ou brunâtres sans zone brun noir sont caractéristiques de *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Choleraesuis.

Les coliformes, les *Proteus* et les *Shigella* sont fortement inhibés, mais peuvent parfois donner des colonies verdâtres ou brunâtres.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

## 8 CONTROLE QUALITE

**Milieu déshydraté :** poudre beige à verdâtre, fluide et homogène.

**Milieu préparé en boîtes :** gélose jaune-vert.

Réponse culturale après 48 heures d'incubation à 37 °C:

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	Bonne	Colonies noires, à reflets métalliques
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030	Bonne	Colonies verdâtres à brunâtres
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Partiellement inhibée	Colonies verdâtres
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée	-

## 9 CONSERVATION

**Milieu de base déshydraté :** 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

**Milieu préparé en boîtes (\*) :** 4 jours à 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

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

## 10 PRESENTATION

---

### Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g ..... BK223HA

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Wilson, J.W., and Blair, E.M. 1931. Further experience of the Bismuth Sulphite Media in the isolation of *Bacillus typhosus* and *Bacillus paratyphosus* B from faeces, sewage and water. J. Hyg., 31: 138.

Wilson, J.W. 1938. Isolation of *Bact. typhosum* by means Bismuth Sulphite Medium in water and milk born epidemics. J.Hyg., 38: 507-519.

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

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : Recherche des *Salmonella* spp.

NF EN ISO 6579-1/A1. Mars 2020. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : Recherche des *Salmonella* P spp. - Amendement 1 : Extension de la plage de températures pour l'incubation, amendement du statut de l'Annexe D et correction de la composition des milieux MSRV et SC.

## 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 : SULFITE BISMUTH AGAR\_FR\_V2.

Date création : 03-2018

Date de révision : 06-2020

Motif de révision : Mise en conformité avec la NF EN ISO 6579-1/A1

---

**Gélose AU SULFITE DE BISMUTH**

Détection de *Salmonella* Typhi et Paratyphi

**Lecture :**

Croissance obtenue après 48 heures d'incubation à 37 °C (ensemencement en surface).

***Salmonella* Typhi**  
Colonie caractéristique :  
couleur noire, plate, sèche  
entourée d'une zone brun-noir  
avec reflets métalliques

