
GELOSE AU THIOSULFATE-CITRATE-BILE-SACCHAROSE (TCBS)

DETECTION ET ISOLEMENT DES *VIBRIO*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose au Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose (TCBS) constitue un milieu sélectif destiné à l'isolement de *Vibrio cholerae* et des autres *Vibrio* entéropathogènes (en particulier *Vibrio parahaemolyticus*) dans les poissons, les produits de la mer et les autres prélèvements biologiques d'origine animale.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 21872-1.

2 HISTORIQUE

La formule d'origine, mise au point par Nakanishi, a été modifiée ultérieurement par Kobayashy *et al.* pour l'isolement sélectif des *Vibrio* pathogènes.

3 PRINCIPES

Les concentrations élevées en thiosulfate et en citrate de sodium ainsi que la forte alcalinité du milieu inhibent fortement la croissance des entérobactéries.

La bile de bœuf et le cholate de sodium ralentissent la culture des entérocoques et inhibent le développement des germes à Gram positif.

Par acidification du milieu, résultant de la fermentation du saccharose, les *Vibrio* provoquent le virage au jaune de l'indicateur au thymol et au bleu de bromothymol.

A partir du thiosulfate, qui constitue une source de soufre, la production de sulfure d'hydrogène est révélée en présence de citrate ferrique. Tous les *Vibrio* sont H₂S-négatifs.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone	10,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	5,0 g
- Saccharose	20,0 g
- Bile de bœuf bactériologique	5,0 g
- Cholate de sodium	3,0 g
- Citrate de sodium	10,0 g
- Thiosulfate de sodium	10,0 g
- Chlorure de sodium.....	10,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
- Bleu de bromothymol	40,0 mg
- Bleu de thymol	40,0 mg
- Agar agar bactériologique	14,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 8,6 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 88,1 g de milieu déshydraté (B040) 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 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert

✓ **Reconstitution :**
88,1 g/L

✓ **Stérilisation :**
Porter à ébullition

6 MODE D'EMPLOI

- Ensemencer et isoler une anse de chaque bouillon d'enrichissement sur la gélose ainsi préparée et sur un second milieu au choix.
- Incuber à 37 ± 1 °C pendant 24 ± 3 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 ± 3 h à 37 °C

7 LECTURE

Les colonies présentent les aspects suivants :

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies lisses, jaunes, de 2 à 3 mm de diamètre	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio fluvialis</i> , <i>Vibrio furnissii</i>
Colonies lisses, vertes de 2 à 3 mm de diamètre	<i>Vibrio vulnificus</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Vibrio mimicus</i>
Colonies bleues Colonies minuscules, transparentes	<i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> Entérobactériacées ou autres

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige-verdâtre, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose vert foncé.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes	Croissance	Caractéristiques
<i>Vibrio furnissii</i>	Bonne	Colonies jaunes
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Bonne	Colonies vertes
<i>Escherichia coli</i>	Inhibée	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en flacons (*) : Non recommandé

Milieu préparé en boîtes (*) : 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 BK040HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Nakanishi, Y.. 1963. An isolation agar medium for cholera and enteropathogenic halophilic vibrios. *Modern media*, **9** : 246.

Kobayashi, T., Enomoto, S., Sakazaki, R., and Kuwahara, S.. 1963. A new selective isolation medium for pathogenic vibrios: TCBS-agar. *Japanese Journal of Bacteriology*, **18** : 387-391.

Kampelmacher, E.H., Mossel, D.A.A., van Noorle-Jansn, L.M., and Vincentie, H.. 1970. A survey on the occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* on fish and shellfish marketed in the Netherlands. *The Journal of Hygiene*, **68** : 189-196.

Lennette, E.H., Balows, A., Hausler Jr., W.J., and Shadomy, H.J.. 1985. *Manual of Clinical Microbiology*, 4 th Ed. American Society for Microbiology. Washington D.C.

Circulaire DGAL/SVHA/C88/N° 8003 du 28 avril 1988. Méthodes d'analyses bactériologiques pour le contrôle des coquillages.

NF EN ISO 21872-1. Septembre 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire. Méthode horizontale pour la détermination des *Vibrio* spp.. Partie 1 : Recherche des espèces de *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio cholerae* et *Vibrio vulnificus* potentiellement entéro-pathogènes.

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 : GELOSE TCBS_FR_V7.
Date création : 11-2000
Date de révision : 01-2018
Motif de révision : Références bibliographiques.