

GELOSE TRYPTONE-SOJA (BASE)

BASE POUR GELOSE AU SANG

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Tryptone-soja est utilisée comme milieu de base destiné à être additionné de sang. Elle est préparée avec des matières premières sélectionnées qui ne la brunissent pas. Elle est spécialement conçue pour mettre en évidence les réactions hémolytiques et pour favoriser la croissance des germes particulièrement exigeants aérobies et anaérobies.

Elle permet de réaliser le test d'hémolyse sur les colonies présumées de *Bacillus cereus*, selon la norme ISO 21871.

2 PRINCIPES

L'association entre la Tryptone et la peptone de soja permet l'obtention d'une croissance optimale qui est due à la synergie réalisée entre l'apport protidique de la caséine et l'apport glucidique du soja.

Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.

Le sang de mouton défibriné stérile, utilisé pour enrichir le milieu, favorise l'obtention d'hémolyses bien caractéristiques.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu de base :

- Tryptone	15,0 g
- Peptone papaïnique 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

- Mettre en suspension 40,0 g de milieu déshydraté (BK028) 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 flacons de 100 mL.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Ajouter stérilement 5 à 7 mL de sang défibriné stérile de mouton par flacon.
- Homogénéiser parfaitement.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

✓ **Reconstitution :**
40,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

NOTE :

Pour d'autres applications, utiliser le protocole en vigueur.

5 MODE D'EMPLOI

Recherche de l'hémolyse

- Ensemencer l'inoculum de façon à isoler les colonies.
- Incuber à 30 °C pendant 24 heures pour la croissance de *Bacillus cereus* présumés, ou de 24 à 48 h à 37 °C pour la croissance d'autres microorganismes.

Test de CAMP

- Ensemencer en une seule strie médiane une culture de 10 heures de *Staphylococcus aureus* ATCC® 33862 bêta-hémolytique.
- Perpendiculairement à la strie initiale, faire une strie de culture du microorganisme à déterminer, de façon à s'en rapprocher le plus possible (2 à 3 mm) sans toutefois l'atteindre.

6 LECTURE

Hémolyse bêta

Les streptocoques hémolytiques du groupe A de Lancefield apparaissent sous la forme de petites colonies grises, translucides ou opaques entourées d'une zone d'hémolyse de type bêta. D'autres bactéries peuvent présenter le même type d'hémolyse : les *Listeria*, les staphylocoques hémolytiques, *Escherichia coli* et les *Pseudomonas*.

Les staphylocoques donnent des colonies opaques jaune doré ou blanches avec ou sans zone d'hémolyse de type β. Les *Listeria* présentent de petites zones d'hémolyse bêta.

Les *Bacillus cereus* présentent une zone claire autour des colonies.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

Hémolyse alpha

Les pneumocoques apparaissent sous forme de colonies plates, lisses, grisâtres et parfois muqueuses entourées d'une zone d'hémolyse étroite, verdâtre, de type alpha.

CAMP Factor

Les streptocoques du groupe B produisent une substance extracellulaire thermorésistante (CAMP factor) qui provoque un triangle d'hémolyse totale dans la zone d'hémolyse incomplète du staphylocoque, à la jonction des deux cultures.

7 CONTROLE QUALITE

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

Milieu préparé (avec 5 % de sang de mouton défibriné) : gélose rouge, opaque.

Réponse culturale typique après 48 heures d'incubation à 37 °C en présence de 5 % de sang de mouton défibriné stérile, méthode qualitative d'ensemencement :

Microorganismes		Croissance
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 6303	Bonne, score 2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	Bonne, score 2
<i>Listeria monocytogenes</i>	WDCM 00020	Bonne, score 2
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021	Bonne, score 2
<i>Bacillus cereus</i>	WDCM 00001	Bonne, score 2

8 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu de base préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu complet 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 de base déshydraté :

Flacon de 500 g BK028HA

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Facklam, R.R., and Carey, R.B.. 1985. *Streptococci* and *Aerococci* in Lennette, E.H., Balows, A., Hausler, W.J., and Shadomy, H.J. (ed). Manual of Clinical Microbiology 4 th Ed., ASM Washington DC, 154-175.

McFaddin, J.F.. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Williams & Wilkins, Baltimore, volume 1: 794-806.

NF EN ISO 21871. Juillet 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Bacillus cereus* présumés en petit nombre. Technique du nombre le plus probable et méthode de recherche.

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 TRYPTONE SOJA_FR_V8.

Date création : 01-2003

Date de révision : 10-2015

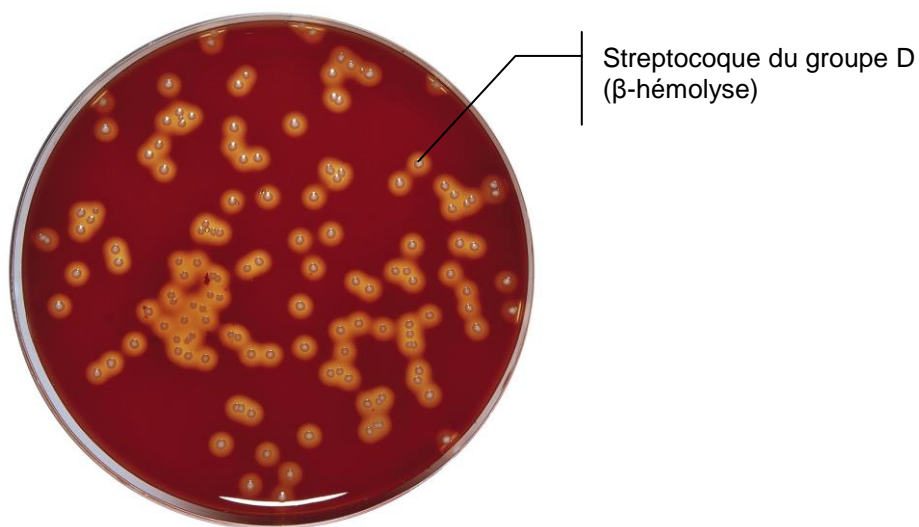
Motif de révision : Révision générale.

Gélose Tryptone-soja (base au sang)

Gélose au sang

Lecture :

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



Caractéristiques : β -hémolytique : zones d'éclaircissement bien définies et claires.
 α -hémolytique : zones d'éclaircissement incomplètes avec une coloration verdâtre.