

**Egalement nommé**

Gélose thiosulfate citrate bile saccharose

**Principe**

 Milieu solide pour l'isolement sélectif de *Vibrio* spp et *Vibrio parahaemolyticus* selon la norme ISO.

**Formule \* en g/L**

Protéose peptone.....	10.000		
Extrait de levure.....	5.000	Ferric citrate.....	1.000
Sodium citrate.....	10.000	Thymol blue.....	0.040
Sodium thiosulphate.....	10.000	Bromthymol blue.....	0.040
Ox bile.....	8.000	Agar.....	14.000
Sucrose.....	20.000		
Chlorure de sodium.....	10.000		
		pH final	8,6 ±0,2 à 25 °C

\*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

**Préparation**

Mettre en suspension 88 g de poudre dans 1 L d'eau purifiée. Chauffer en remuant constamment jusqu'à ébullition. Versez immédiatement dans des assiettes. Ne stérilisez pas et évitez de refondre.

**Description**

 La gélose TCBS est universellement acceptée comme milieu de choix pour l'isolement différentiel des vibrions entéropathogènes, tout en inhibant tous les organismes qui les accompagnent. Cette formulation permet une croissance élevée de *Vibrio cholerae* et *V. parahaemolyticus*. *V. alginolyticus* et NAG-vibriosis. Les entérobactéries sont fortement inhibées par des concentrations élevées de citrate, thiosulfate, bile et chlorure de sodium.

 Bien que certaines bactéries entériques puissent également se développer dans ce milieu, leur morphologie de colonie est assez différente de celle de *Vibrio* spp.

 Les organismes qui peuvent être confondus avec les vibrions sont quelques biotypes de *Proteus* et *Pseudomonas*. Il existe des entérocoques résistants qui peuvent former des colonies exceptionnellement petites et jaunes sur ce milieu. Habituellement, les colonies sont sélectionnées ou choisies puis identifiées par des tests primaires [réactions d'oxydase dans Kligler fer Agar, bouillon MRVP et test de sensibilité aux antibiotiques] avant d'effectuer l'identification sérologique et le typage des phages.

En raison de sa sélectivité élevée, le milieu peut être ensemencé avec un grand inoculum de matériel pathologique. Une fois solidifié et refroidi, le milieu est trouble, mais les observations ne sont pas affectées.

Ce milieu est très thermolabile et ne doit donc pas être autoclavé, surchauffé ou refondu.

Aspect colonial sur gélose TCBS après 24 heures à 37 ° C:

- *Vibrio alginolyticus* et *Vibrio cholerae*: grandes colonies jaunes.
- *Vibrio parahaemolyticus*: petit, jaune, sans halo et avec un noyau vert.
- *Streptococcus faecalis*: Très petit et convexe, jaune avec un halo jaune.
- Entérobactéries en général: petites et transparentes.
- *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Proteus*: colonies de tailles moyenne ou grandes et bleues.
- Certaines souches de *Vibrio cholerae* et de *Vibrio parahaemolyticus* effectuent une fermentation retardée du saccharose afin de produire des colonies de taille moyenne, et sont incolores ou jaune sale avec un noyau foncé.

**Contrôle qualité**
**Température d'incubation:** 37°C ±1.0

**Temps d'incubation:** 24±3 h

**Inoculum:** Préalablement enrichit. 6 ± 1 h (ASPW). Isolement des stries. (ISO 11133: 2014 / Amd 1: 2018)

**Micro-organismes**

*Vibrio parahaemolyticus* ATCC® 17802  
*Vibrio alginolyticus* ATCC® 17749  
*Vibrio furnissii* NCTC® 11218  
*Escherichia coli* ATCC® 8739

**Croissance**

Bonne  
 Bonne  
 Bonne  
 Inhibée

**Remarques**

Colonies bleu-vertes 3-5mmØ  
 Colonies jaunes 3-5mmØ  
 Colonies jaunes 3-5mmØ  
 -

---

### Références

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media CRC Press. BocaRaton. Fla. USA.
- BHATTACHARYA, M.K., S.K. BATTACHARYA, S. GARG, P.K. SAHA, D. DUTTA, G.B. NAIR, B.C. DEB & K.P. DAS (1993) Outbreak of *Vibrio cholerae* non-01 in India and Bangladesh. *Lancet*, 341:1345-1347.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington. DC. USA.
- FORBES, B.A., D.F SAHM & A.S. WEISSFELD (Eds) (1998) Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology 10th ed. Mosby. St. Louis, MO. USA.
- HORWITZ, W. (Ed) (2000) Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed. Gaithersburg. MD. USA.
- ISO 21872-1 Technical Specification (2017) Microbiology of Food chain- Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp. - Part 1: Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus*.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- KOBAYASHI, T., ENOMOTO, S. SAKAZARI, R. and KUWAHARA, S. (1963) A new selective medium for pathogenic vibrios: TCBS (modified Nakanishi Agar) *Jap. J.Bact.* 18:387.
- MacFADDIN, J.F. (1985) Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Williams & Wilkins. Baltimore. MD. USA.
- MURRAY, P.R., E.J. BARON, J.H. JORGENSEN, M.A. PFALLER & R.H. YOLKEN (Eds) (2003) Manual of Clinical Microbiology 8th ed. ASM Press. Washington. DC. USA.
- PASCUAL ANDERSON, M<sup>ª</sup>R<sup>a</sup> (1992) Microbiología Alimentaria. Díaz de Santos, S.A. Madrid.
- US FDA (Food and Drug Administration) (1998) Bacteriological Analytical Manual 8th ed. Revision A. AOAC International Inc. Gaithersburg. MD. USA.

### Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).