

Rosenow Cystéine/Bouillon (avec cervelle et marbre)

355-5683
356-4922

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des spores de *Clostridium* et de *Bacillus thermophiles* dans les conserves (Technique du Nombre le Plus Probable).

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF V 08-405 (Décembre 1986):** Microbiologie alimentaire - Conserves - Recherche de (*Clostridium*) thermophiles (IC: V08-405).

• **NF V 08-407 (Octobre 1989):** Dénombrement des spores thermorésistants de *Bacillus* et *Clostridium thermophiles* spores - Technique du Nombre le plus Probable (IC : V08-407).

PRINCIPE

Le principe du milieu de Rosenow Cystéine repose sur l'aptitude à obtenir une culture rapide et abondante des bactéries particulièrement exigeantes, aéro-anaérobies facultatives et anaérobies strictes.

Le chlorhydrate de Cystéine présent dans le milieu permet en outre d'obtenir un potentiel d'oxydoréduction favorable à la croissance des germes anaérobies.

PRESENTATION

• **Prêt à l'emploi (sur abonnement)**

10 ml x 25 tubes **code 355-5683**

• **Coffret pour 5 litres de milieu :**
code 356 4922

- 1 flacon de 105 g de milieu déshydraté
- 1 flacon de morceaux de marbre blanc
- 1 flacon de morceaux de cervelle lyophilisée

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 2 - 8 °C.
- Déshydraté: + 15 - 25 °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

| | |
|--|--------------------|
| Peptone | 10 g |
| Extrait de viande | 3 g |
| Chlorure de sodium | 5 g |
| Glucose | 2 g |
| Amidon soluble | 2 g |
| Chlorhydrate de cystéine | 0,3 g |
| Indicateur d'Andrade (fuchsine acide à 5 %) | 10 ml |
| Marbre blanc | 1 morceau/tube |
| Cervelle lyophilisée | 1 morceau/par tube |
| Eau distillée | 1000 ml |
| pH (25°C) final = 7,2 ± 0,2 | |

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Diluant(s)
- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI) (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesées stériles
- Tubes à essais (16 x 160 mm)
avec bouchons autoclavables
- Pipettes stériles (1 ml, 10 ml,...)
- Bain-marie avec une précision de ± 1 °C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 21 grammes de poudre dans 1 litre d'eau distillée.

Mélanger et chauffer lentement en agitant fréquemment jusqu'à dissolution complète.

Répartir à raison de 10 ml de milieu par tube de 16 x 160 mm.

Ajouter, dans chaque tube, un morceau de marbre et un morceau de cervelle lyophilisée.

Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

Conserver le milieu entre 0 et 5°C pendant 15 jours au maximum.

Taux de reconstitution : 21 g/l.

500 grammes de poudre permettent de réaliser 23,8 litres de milieu.

Rosenow Cystéine/Bouillon

(avec cervelle et marbre)

PROTOCOLE

• Préparation de l'échantillon

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

Pour la recherche des formes végétatives (spores thermorésistantes de *Bacillus* et *Clostridium*), une épreuve de sélection thermique est nécessaire. Elle s'effectue en traitant la suspension mère à 98 °C pendant 30 mn.

• Ensemencement et incubation

Après régénération et refroidissement des tubes entre 44 - 47 °C, ensemencés avec 1 ml de suspension mère (SM) ou de ses dilutions décimales (3 tubes/dilution ou SM).

Après ensemencement, verser dans chaque tube de l'huile de vaseline pure stérile ou de la paraffine stérile, ou de la gélose blanche, préalablement fondues.

Incuber les tubes à 55 °C (± 1 °C).

LECTURE ET INTERPRETATION

• Lecture

Observer les tubes chaque jour pendant 8 jours et noter les tubes dans lesquels est observé un signe de développement microbien (tubes positifs):

- virage de l'indicateur au rouge carmin (acidification) ou au jaune/vert (alcalinisation)
- ou/et trouble,
- ou/et dégagement gazeux

• Expression des résultats/Calculs

Calculer le nombre de spores thermorésistants en appliquant les tables NPP à partir des tubes sortis positifs au cours des 8 jours d'incubation (Cf. Norme).

PRECAUTION D'EMPLOI

- Eviter toute réoxygénation du bouillon de base après régénération. L'inoculum est mélangé au bouillon par des mouvements circulaires en évitant tout arrivée d'air dans le bouillon. Il est recommandé de ne pas utiliser d'agitateur type Vortex.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

(Tableaux ci-contre)

| MICRO-ORGANISMES | Culture à 37 °C en anaérobiose après 24 à 48 h |
|--|--|
| <i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124 | + Réduction |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> CIP 602 | + Réduction |
| <i>Bacteroides fragilis fragilis</i> ATCC 25285 | + Acidification |

| MICRO-ORGANISMES | Culture à 37 °C en anaérobiose après 24 h |
|--|---|
| <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 | + Acidification |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303 | + Acidification |

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Rosenow Cysteine / *Clostridium* / Spores *thermophiles* / Produits alimentaires / Eaux / Recherche / Dénombrement / NPP / Milieu.