

TSN / Gélose (Tryptone-Sulfite-Néomycine)

356-4724

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des Anaérobies-Sulfite-Réductrices (A.S.R.) par ensemencement en profondeur lors du contrôle des produits alimentaires.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

- Critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale - Méthodes générales d'analyse bactériologique (Arrêté du 21 décembre 1979 paru au JO du 19 janvier 1980, modifié par l'arrêté du 17 septembre 1984 paru au JO du 29 septembre 1984 par l'arrêté du 5 mars 1985 paru au JO du 23 mars 1985 par l'arrêté du 2 juin 1988 paru au JO du 8 juillet 1988 et par l'arrêté du 13 mars 1989 paru au JO du 20 avril 1989).

- Viandes de volailles séparées mécaniquement - Prélèvement et méthode d'analyse (Circulaire DQ/N° 171C du 25 novembre 1977).

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des bactéries Anaérobies-Sulfite-Réductrices à réduire les sulfites en sulfure qui, avec le citrate de fer, donne un précipité noir de sulfure de fer (colonies noires). Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis de la flore secondaire par la néomycine, la polymyxine et le sulfite.

PRESENTATION

- **Déshydraté**
500 g

code 356-4724

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- + 15 - 25 °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Tryptone	15 g
Extrait de levure	10 g
Sulfite de sodium	1 g
Sulfate de néomycine	50 mg
Sulfate de polymyxine	20 mg
Citrate de fer	500 mg
Agar	13,5 g
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 pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Tubes à essais (16 x 160 mm) avec bouchons autoclavables
- Flacons de 125 ml en Pyrex avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (1 ml,...)
- Bain-marie avec une précision de ± 1 °C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 40 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée.

Attendre 5 minutes. Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution.

Répartir 19 ml par tube ou 100 ml par flacon. Stériliser à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 10 minutes.

Taux de reconstitution : 40 g/l.

500 grammes de poudre permettent de réaliser 12,5 litres de milieu.

TSN / Gélose

(Tryptone-Sulfite-Néomycine)

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

En tube :

Inoculer 5 ml de l'échantillon à analyser ou de ses dilutions décimales dans un tube de milieu fondu et refroidi à 44 - 47°C.

Homogénéiser en évitant d'incorporer des bulles d'air.

Incuber à 37°C ± 1°C et à 46°C ± 1°C pendant 24 heures.

En boîtes de Pétri :

Inoculer 1 ml de l'échantillon à analyser ou de ses dilutions décimales dans une boîte de Pétri, couler le milieu fondu et refroidi à 44 - 47°C.

Homogénéiser en évitant d'incorporer des bulles d'air.

Incuber à 37°C ± 1°C et à 46°C ± 1°C pendant 24 heures.

La température de 46°C permet de rechercher plus spécifiquement *Clostridium perfringens*.

LECTURE ET INTERPRETATION

Dénombrer les colonies noires et ramener le résultat par gramme ou millilitre de produit examiné.

N.B. : En tubes : Seuls les tubes présentant des colonies noires, bien isolées seront pris en compte pour la numération.

En boîtes de Pétri : Effectuer les lectures rapidement

après l'ouverture des jarres, car l'oxydation par l'air peut décolorer les colonies.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la solution-mère (ou de la dilution 10⁻¹ dans le cas d'un produit solide) et le moment où les dilutions sont en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 15 minutes.

- Ne pas agiter violemment le milieu régénéré pour éviter toute réoxygénation de celui-ci.

- Respecter les Bonnes Pratiques de laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Culture en 24h à 37°C
<i>Clostridium perfringens</i> (3 souches dont ATCC 13124)	Bonne croissance
<i>Clostridium sporogenes</i>	Bonne croissance
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibition

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.

KEY WORDS

T.S.N. / *Clostridium perfringens* / Anaérobies-Sulfite-Réductrices / Produits alimentaires / Recherche / Dénombrement / Sulfite / Néomycine / Polymyxine / Milieu.

BIBLIOGRAPHIE

• **RODIER J. (1984):** L'analyse de l'eau. Recherche et dénombrement des *Clostridium perfringens* 7^{ème} Ed. Dunod: 855-857.

• **MOSSEL, D.A.A. (1959):** Enumeration of sulphite-reducing *Clostridia* occurring in foods. J. Sci. Food Agr.: 662-669.