

# Milieu liquide Thioglycolate avec Résazurine

356-3613  
356-4084

## DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé dans les tests de confirmation lors du dénombrement de *Clostridium perfringens* dans les contrôles de stérilité en industries pharmaceutiques et cosmétiques.

## REFERENCE(S)

### MICROBIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

- **USP 30/NF 25 U.S. Pharmacopeia and National Formulary (2007) : Sterility Tests (71)** - Microbiological Tests

- **Pharmacopée Européenne 6.0 – Méthodes Biologiques - 2.6.1.: Stérilité**

## PRINCIPE

La formule du milieu permet la croissance d'une grande variété de micro-organismes anaérobies stricts ou facultatifs ayant des exigences de croissance diverses.

Le thioglycolate de sodium abaisse le potentiel d'oxydo-réduction du milieu et neutralise le pouvoir antibactérien des dérivés mercuriques utilisés comme conservateurs de produits biologiques. La résazurine est utilisé comme indicateur d'oxydo-réduction: incolore en milieu réducteur, elle revient rose en milieu oxydé.

## PRESENTATION

- **Prêt à l'emploi**  
10 ml x 25 tubes **code 356-3613**
- **Déshydraté**  
500 g **code 356-4084**

## CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : à +15-20°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

Hydrolysats pancréatique de caséine	15 g
Extrait de levure	5 g
Thioglycolate de sodium	500 mg
Chlorure de sodium	2,5 g
L-cystine	500 mg
Glucose	5,5 g
Résazurine	1 mg
Agar	750 mg
Eau distillée	1000 ml

pH (25 °C) final = 7,1 ± 0,2

*NB: Des adaptations de la formule ont pu être réalisées afin d'atteindre les critères de performance requis.*

## 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
- Pipettes Pasteur stériles (code 355-0751) ou ôse bouclée
- 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 29,5 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Répartir à raison de 14 ml par tube ou de 100 ml par flacon et stériliser à l'autoclave à 121°C ± 1°C pendant 15 minutes.

**Taux de reconstitution : 29,5 g/l**

**500 grammes de poudre permettent de réaliser 11,5 litres de milieu.**

## PROTOCOLE

### • Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme ou aux recommandations du produit concerné.

### • Ensemencement et incubation

- Confirmation de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires:

Après isolement sur gélose Tryptose-sulfite à

## Milieu liquide Thioglycolate avec Résazurine

la cyclosérine (code 356-9644), sélectionner 10 colonies caractéristiques et ensemencer le milieu au thioglycolate.

Incuber en anaérobiose à 35°C ou 37°C ± 1°C pendant 18 à 24 heures

- Contrôles de stérilité :

Inoculer la quantité recommandée du produit à examiner et incuber à 30-35°C pendant 14 jours.

### LECTURE ET INTERPRETATION

• Contrôles de stérilité :

Les tubes présentant un trouble bactérien seront considérés comme positifs.

### PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Eviter toute réoxygénation du bouillon après régénération. L'inoculum est mélangé au bouillon par des mouvements circulaires en évitant toute arrivée d'air. Il est recommandé de ne pas utiliser d'agitateur mécanique (type Vortex, par exemple).

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

### CONTROLE QUALITE

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 18-24 h à 32,5°C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Bonne croissance

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 3 jours à 32,5°C
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	Bonne croissance

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 5 jours à 32,5°C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Bonne croissance

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 5 jours à 30-35°C
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	Bonne croissance

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

Thioglycolate + résazurine/*Clostridium perfringens*/Produits alimentaires/  
Dénombrement/Test de confirmation/  
Contrôle de stérilité/Milieu