

Thioglycolate/Bouillon (avec Résazurine)

356-3613
356-4084

DOMAINE D'APPLICATION

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

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF EN ISO 7937 (Février 2005)**
Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens*. Technique par comptage des colonies.

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

Hydrolysate 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	500 mg
Eau distillée	1000 ml

pH (25°C) final = 7,1 ± 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
- Pipettes Pasteur stériles (**code 355-0751**) ou øse 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 16,9 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 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.

Thioglycolate/Bouillon

(avec Résazurine)

• Contrôles de stérilité :

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

LECTURE ET INTERPRETATION

• Confirmation de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires: l'apparition d'un trouble montre que la colonie a bien été prélevée. Les tests de confirmation doivent alors être mis en oeuvre.

• Contrôles de stérilité :

Les tubes présentant un trouble bactérien seront considérés comme positifs.

PRECAUTION 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.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 h à 37°C
Productivité	
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Bonne croissance

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

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