

Tryptose Lauryl Sulphate/Bouillon

356-4774

DOMAINE D'APPLICATION

Le Tryptose Lauryl Sulphate est un milieu sélectif pour la recherche des *Escherichia coli* et des coliformes dans les eaux et les eaux usées, le lait et les produits laitiers, et autres aliments, selon la technique du nombre le plus probable.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

- **American Public Health Association (1980)**
Standard methods for the examination of Water and Wastewater, 15th Edn, APHA Inc. Washington DC.
- **American Public Health Association (1978)**
Standard methods for the examination of Dairy Products, 14th Edn, APHA Inc. Washington DC
- **American Public Health Association (1976)**
Standard methods for the microbiological examination of Food, APHA Inc. Washington DC
- **NF ISO 4831 (Octobre 2006)** : Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des coliformes. Technique du nombre le plus probable (IC : V08-016)
- **NF ISO 7251 (Juillet 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés - Technique du nombre le plus probable (IC : V08-020PR)
- **NF ISO 11866-2 (Septembre 2006)** : Lait et produits laitiers. Dénombrement d'*Escherichia coli* présumés. Partie 2 : technique du nombre le plus probable avec utilisation de 4-méthylumbelliferyl-bêta-Dglucuronide (MUG).

EAUX

- **NF T90-413 (Octobre 1985)** : Essais des eaux - Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants - Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP).

PRINCIPE

Le Tryptose Lauryl Sulphate a été créé par Mallmann & Darby en 1941.

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des coliformes à fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz.

Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries que les coliformes par le sodium Lauryl Sulphate. Les bactéries aérobies sporulées sont totalement inhibées.

Ce milieu peut également être utilisé avec utilisation de 4-méthylumbelliferyl-bêta-Dglucuronide (MUG) pour la recherche d'*Escherichia coli*.

PRESENTATION

- **Déshydraté** **code 356-4774**
500 g

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Déshydraté : + 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

Tryptose	20 g
Lactose	5 g
Hydrogénomonophosphate de potassium (K ₂ HPO ₄)	2,75 g
Dihydrogénophosphate de potassium (KH ₂ PO ₄)	2,75 g
Chlorure de sodium	5 g
Lauryl sulphate de sodium	0,1 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 6,8 ± 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
- Agitateur-homogénéisateur

Tryptose Lauryl Sulphate/Bouillon

- Tubes à essais (16 x 160 mm et 20 x 200 mm) avec bouchons autoclavables et cloches de Durham
- Pipettes stériles (1 ml, 10 ml,....)
- Etuves ou enceintes thermostatées avec une précision de $\pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ et $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Milieu simple concentration

Dissoudre 35,6 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée.

Attendre 10 minutes. Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Repartir 10 ml de milieu par tube (16 x 160 mm) et contenant préalablement une cloche de Durham, dans le cas du milieu simple concentration.

Taux de reconstitution : 35,6 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 14 litres de milieu simple concentration.

Milieu double concentration

Dissoudre 71,2 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Attendre 10 minutes.

Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène et répartir 10 ml de milieu par tube (20 x 200 mm), sans cloche de Durham, dans le cas du milieu double concentration .

Taux de reconstitution : 71,2 g/l.

500 grammes de poudre permettent de réaliser 7 litres de milieu double concentration.

Stériliser à l'autoclave à $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) pendant 15 minutes.

Ajuster si nécessaire le pH à $6,8 \pm 0,2$.

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

- Inoculer 3 tubes de milieu Tryptose Lauryl Sulphate simple concentration avec 1 ml de la solution mère et/ou 1 ml de chacune des dilutions décimales.

- Inoculer 3 tubes de milieu Tryptose Lauryl Sulphate simple concentration avec 1 ml de la solution mère et/ou 1 ml de chacune des dilutions décimales.

- Incuber à 35°C ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) pendant 24 heures ($\pm 2\text{ h}$). Si à ce stade , on n'observe pas de formation de gaz, ni de trouble empêchant d'apprécier un dégagement gazeux, incuber pendant 48 heures ($\pm 2\text{ h}$)

• Confirmation

A partir d'un milieu présomptif positif , prélever une goutte à l'aide d'une öse bouclée ou une pipette Pasteur préalablement stérilisée à la flamme et inoculer le bouillon BLBVB simple concentration (**code 357-8025/code 356-4054**)
Voir Fiche(s) Technique(s) correspondantes

LECTURE ET INTERPRETATION

• Lecture

Après la période d'incubation, considérer comme tubes positifs, ceux qui présentent un trouble et un dégagement gazeux (1/3 du volume total de la cloche).

• Expression des résultats/Calculs

A l'aide des tables NPP, exprimé le résultat selon la norme spécifique.

PRECAUTION D'EMPLOI

- Bien éliminer l'air présent dans la cloche de Durham avant inoculation.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Production de gaz après 24-48 h d'incubation à 35°C	
	CROISSANCE	GAZ
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+
<i>C. freundii</i> ATCC 43864	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	-	NA

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

Tryptose Lauryl Sulphate / Coliformes / *Escherichia coli* / Thermotolérant / Produits Alimentaires / Eaux / Cloche / Durham / Gaz / NPP / Bouillon.

Tryptose Lauryl Sulphate/Bouillon

BIBLIOGRAPHIE

- **American Public Health Association (1980):**
Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 15th Edn. APHA Inc. Washington DC.
- **American Public Health Association (1978):**
Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 14th Edn. APHA Inc. Washington DC.
- **American Public Health Association (1976):**
Standard Methods for the examination of Foods. 15th Edn. APHA Inc. Washington DC.