

Viande Foie Sulfite Fer/Gélose

356-9654
355-4777
355-4770 / 355-4794

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu gélosé pour la recherche et le dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices dans les produits alimentaires et les eaux.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

EAUX

- **ISO/DIS 6461-2 (Juin 2005)** : Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des *Clostridium perfringens* - Part 2 : Méthode par filtration sur membrane (Révision ISO 6461-2:1986)
- **NF EN 26461-2 (Juillet 1993)** : Qualité de l'eau - Recherche et Dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfite - réducteurs (*Clostridia*) - Partie 2 : Méthode par filtration sur membrane
- **NF T90-415 (Octobre 1985)** : Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices et des *Clostridium* sulfite-réducteurs - Méthode générale par incorporation en gélose et en tubes profonds
- **NF T90-461/A2 (Mai 2007)** : Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture

PRINCIPE

Le principe du milieu Viande-Foie Sulfite Fer repose sur l'aptitude des bactéries anaérobies sulfite-réductrices à réduire les sulfites d'ammonium en sulfures de fer, responsable de la coloration noire des colonies, en anaérobiose à 37 °C.

L'incubation à 46°C permet de cultiver préférentiellement *Clostridium perfringens*.

PRESENTATION

- **Prêt à l'emploi - milieu complet**

100 ml x 6 flacons	code 355-4770
20 ml x 25 tubes	code 355-4777
7,5 ml x 25 tubes	code 355-4794
- **Déshydraté**

500 g (complet)	code 356-9654
-----------------	----------------------

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 du lot sont indiqués sur le conditionnement

FORMULE THEORIQUE

Base viande foie	30 g
Glucose	2 g
Amidon	2 g
Agar	11 g
Sulfite de sodium	2,5 g
Sels de fer	0,5 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25°C) avant autoclavage = 7,7 ± 0,1

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 avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Jarre d'anaérobiose
- Catalyseur d'anaérobiose
- Pipettes stériles (1 ml, 10 ml,....)
- Pipettes Pasteur stériles (code 355-0751)
- Bain-marie avec une précision de ± 1°C
- Etuves ou enceintes thermostatées avec une précision de ± 1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation.

Dissoudre 46,5 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution.

Répartir le milieu à raison de 100 ml par flacon ou 20 ml ou 7,5 ml par tube et stériliser à l'autoclave à 121 ± 3°C pendant 15 minutes.

Taux de reconstitution : 45 g/l
500 g de poudre permettent de reconstituer approximativement 11,1 litres de milieu

Viande Foie Sulfite Fer/Gélose

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons / Destruction des formes végétatives

A effectuer conformément à la norme du produit concerné. Pour la destruction des formes végétatives, l'échantillon doit être passé au bain-marie à $80 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 10 minutes et refroidi rapidement entre $44 - 49^\circ\text{C}$.

• Régénération des tubes

Régénérer les tubes à 100°C pendant 20 minutes, puis les maintenir en surfusion entre $44 - 49^\circ\text{C}$ avant ensemencement.

• Ensemencement

En tube de 20 ml

Ensemencer 5 ml de prise d'essai dans un tube de 20 ml de milieu complet, en homogénéisant par mouvements de vrille de bas en haut.

En tube de 7,5 ml

Ensemencer les tubes à l'aide d'une öse en homogénéisant par mouvements de vrille de bas en haut.

En boîte de Pétri

Déposer 1 ml de prise d'essai dans la boîte. Ajouter 18 ml de milieu complet en surfusion. Mélanger. Laisser solidifier, puis ajouter une deuxième couche de quelques millilitres de gélose.

• Incubation

Après solidification, les tubes et les boîtes sont incubés à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ et/ou $46 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 h et 48 h (en anaérobiose pour les boîtes de Pétri).

LECTURE ET INTERPRETATION

- Les spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices sont noires entourées d'un halo noir.
- Il est indispensable de procéder à une lecture après 24 heures d'incubation. En présence de nombreuses colonies, une diffusion des halos peut conduire à une coloration noire uniforme du tube et tout dénombrement devient impossible après 48 heures d'incubation.
- Par contre, s'il y a une faible quantité de colonies à la première lecture et si les colonies sont petites, il peut y avoir un développement de nouvelles colonies dans les 24 heures suivantes.
- L'identification des *Clostridium* sulfito-réducteurs, peut être effectuée par repiquage de ces colonies entourées d'un halo noir (se référer à la norme NF T90-415 pour le protocole détaillé).

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Ne pas agiter violemment les milieux régénérés pour éviter toute ré-oxygénation de ceux-ci.

NB: Les milieux régénérés peuvent présenter un très léger trouble qui n'altère pas les performances culturales des milieux.

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES / CONTROLE QUALITE DU TEST

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

MICRO-ORGANISMES	Aspect des colonies après 24 h à 37°C	
	CROISSANCE	COULEUR
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	+	Noires
<i>Clostridium perfringens</i> CIP 60.60	+	Noires
<i>E. coli</i> RIVM WR1 *	-	Colonies atypiques

* RIVM WR1 équivalent à NCTC 13167

MICRO-ORGANISMES	Aspect des colonies après 24 h à 46°C	
	CROISSANCE	COULEUR
<i>Clostridium perfringens</i> CIP 60.60 **	+	Noires

** Rendement de fertilité : $R = [66\% - 150\%]$

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

Viande-Foie Sulfite Fer / ASR / Spores / *Clostridium* / Produits alimentaires / Eaux / Recherche / Dénombrement / Milieu.