

## mTSB/ Bouillon (Bouillon Tryptone Soja modifié)

355-5426  
356-4426

### DEFINITION

Bouillon d'enrichissement sélectif pour la recherche des *Escherichia coli* O157 dans les aliments.

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

#### • MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

#### • NF EN ISO 16654 (juillet 2001) :

Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157

### PRINCIPE

Le bouillon tryptone soja a été modifié en augmentant ces propriétés tampons afin de favoriser la récupération et la croissance des *Escherichia coli* O157. L'ajout de sels biliaires N°3 permet l'inhibition des bactéries Gram positives. La novobiocine permet l'inhibition des *Proteus* spp et d'autres bactéries Gram négative.

Les tryptones, peptones de soja et Dextrose sont respectivement des sources d'azote et de sucres permettant la croissance bactérienne. Le Chlorure de Sodium maintient l'équilibre osmotique, tandis que le phosphate de potassium agit comme un agent tampon.

### PRESENTATION

#### Prêt à l'emploi mTSB + Novobiocine

- 225 ml x 6 flacons **code 355-5426**

#### Base déshydraté (sans novobiocine)

- 500 g **code 356-4426**

#### Supplément Novobiocine :

- 1g **code 356-4610**

### CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi: + 2° à 8°C à l'obscurité.
- Base déshydratée : + 15 - 25 °C, flacon soigneusement fermée dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.
- Milieu préparé au laboratoire à partir du déshydraté : 1 mois à + 2° à 8°C à l'obscurité.

### FORMULE THEORIQUE

#### Déshydraté

Tryptone	17 g
Chlorure de sodium	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4 g
Dextrose	2.5 g
Peptone de soja	3 g
Sels biliaires N°3	1.5 g
Eau distillée	1,000 ml
pH(25°C) final = 7.2 ± 0.2	

#### Prêt à l'emploi avec novobiocine

Tryptone	17 g
Chlorure de sodium	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4 g
Dextrose	2.5 g
Peptone de soja	3 g
Sels biliaires N°3	1.5 g
Novobiocine	20 mg
Eau distillée	1,000 ml
pH(25°C) final = 7.2 ± 0.2	

### AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) NON FOURNI(S)

- Diluant(s)
- Eau distillée
- Kits d'IMS.

### MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons et tubes stériles
- Pipettes stériles (0,1 ml ; 1 ml.....)
- Etaleurs stériles
- Pipettes Pasteur stériles
- Bains-marie avec une précision de ± 1 °C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Tout matériel courant d'un laboratoire
- Equipement pour l'IMS

## mTSB/Bouillon (Bouillon Tryptone Soja modifié)

### PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

#### Toujours agiter avant chaque utilisation

Peser 33 grammes de poudre et ajouter 1 litre d'eau distillée. Laisser tremper 10 minutes puis agiter pour homogénéiser. Passer à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir le milieu à 47°C et ajouter 0.2 ml de supplément novobiocine (afin d'avoir 20 mg/l de novobiocine dans le milieu complet). Bien mélanger et distribuer stérilement dans des récipients stériles.

**Taux de reconstitution: 33 g/l**

**500 g de poudre permettent de préparer 15.1 litres de milieu.**

#### Supplément novobiocine (code 356-4610) :

Dissoudre 100 mg de novobiocine dans 1 ml d'eau distillée stérile. Stériliser par filtration à l'aide d'un filtre absolu de 0,2 µm et d'une seringue à usage unique.

Ajouter ensuite 0,2 ml de cette solution de novobiocine à la préparation de 1 litre de mTSB maintenu à 47°C.

Cette solution peut se conserver plusieurs mois dans une bouteille brune à 4°C.

### PROTOCOLES

#### Préparation des échantillons

Ajouter une prise d'essai de 25g ou 25 ml à 225 ml de mTSB avec novobiocine.

#### Méthode normalisée

##### Incubation

Incuber la suspension mère à 41.5°C pendant 6h, puis pendant encore 12 à 18h (i.e. pour une durée totale de 18h à 24 h).

*Une incubation de 6h suivie par une séparation immunomagnétique et un ensemencement sur les géloses sélectives peut donner un résultat positif puis négatif après une incubation supplémentaire de 18h.*

##### Séparation Immuno-magnétique (IMS)

L'IMS doit être effectuée après 6h d'incubation et si nécessaire, après une incubation supplémentaire de 12 à 18 h.

*Il convient de suivre les instructions du fabricant concernant le mode opératoire et la méthode pour l'utilisation des kits d'immunocapture et du matériel nécessaire.*

##### Ensemencement

- A l'aide d'une micropipette avec cône à filtre stérile, transférer 50 µl de billes magnétiques lavées et resuspendues sur une boîte pré-séchée de gélose MacConkey au sorbitol cefixime tellurite (CT-SMAC) et également 50 µl de billes sur le second milieu d'isolement tel le RAPID'E. coli O157: H7 (code 356-4747)

- Incuber la gélose CT-SMAC à 37°C pendant 18 à 24h et incuber la seconde gélose sélective à température recommandée et pendant la durée spécifiée.

#### Méthodes alternatives

Le bouillon mTSB avec novobiocine est aussi utilisé dans le cadre de méthodes alternatives. Pour le protocole d'utilisation voir la fiche technique ou la notice de ces méthodes :

**RAPID'E. coli O157:H7**

500g

**code 356-4747**

**iQ-Check™ E.coli 0157:H7 code 357-8114**

#### PRECAUTION D'EMPLOI

- Les précautions d'usage relatives à la manipulation de produits potentiellement contaminés, dans un laboratoire de microbiologie doivent être observées.

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

#### PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturelles sont contrôlées à l'aide de souches spécifiques. Se reporter au certificat de contrôle de chaque produit:

#### 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

mTSB / *Escherichia coli* O157 / Produits alimentaires / Détection.