

The logo for ClearLine, featuring the brand name in a white, italicized sans-serif font on a red, slanted rectangular background.

GELOSE TRYPTONE SULFITE CYCLOSERINE

PRINCIPE

La gélose Tryptone Sulfite Cyclosérine (T.S.C.) est recommandée pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium perfringens* et des germes anaérobies sulfito-réducteurs dans les eaux et les produits alimentaires.

La D-cyclosérine, ajoutée extemporanément au milieu de base, apporte une bonne sélectivité pour *Clostridium perfringens* et elle réduit la taille des halos noirs autour des colonies.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau purifiée.

Tryptone	15,00	Bisulfite de sodium	1,00
Peptone de soja	5,00	Citrate ferrique ammoniacal	1,00
Extrait de levure	5,00	Agar	18,00

Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés

CONDITIONS DE CONSERVATION avant ouverture

Tubes et flacons : 2 - 8°C

Base déshydratée : 2 - 30°C

La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

PREPARATION

Pour le milieu déshydraté :

1. Dissoudre 41 grammes dans 1 litre d'eau purifiée. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
2. Répartir en tubes de 20 ml ou flacons de 100 ml.
3. Autoclaver 15 minutes à 121°C.

Pour le milieu en tubes :

1. Liquéfier le milieu à 100°C au bain-marie.
2. Bien mélanger, laisser refroidir à 45-47°C. Ajouter dans chaque tube 0,2 ml (ou 1 ml/100 ml) d'une solution stérile à 4% de D-cyclosérine. Bien homogénéiser.
3. Répartir immédiatement en boîtes de Petri et laisser solidifier sur une surface froide.

UTILISATION

Se conformer aux protocoles en vigueur. D'une façon générale, un des protocoles suivants peut être appliqué :

Pour le milieu en tube :

1. Chauffer le produit à tester afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores.
2. Pipeter 1 ml du produit chauffé et de ses dilutions décimales dans les tubes en évitant l'incorporation de bulles d'air. Ne jamais chauffer les tubesensemencés.
3. Homogénéiser par retournement, refroidir les tubes dans un bain d'eau glacée, puis incubé à 46°C ou 37°C pendant 24 heures selon le protocole.
4. Dénombrer les colonies entourées d'un halo noir, dû à la réduction du sulfite en précipité de sulfure de fer.

Pour le milieu en boîte :

1. Chauffer le produit à tester afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores.
2. Introduire dans des boîtes de Petri stérile, 1 ml du produit à examiner ou de ces dilutions décimales.
3. Ajouter dans les 15 minutes, dans chaque boîte, 15 ml de gélose TSC liquéfiée, mélanger soigneusement et laisser solidifier.
4. Incuber en anaérobiose à 37°C pendant 24 heures.
5. Dénombrer les colonies entourées d'un halo noir, dû à la réduction du sulfite en précipité de sulfure de fer. Faire la lecture très rapidement après la sortie de la jarre.

Ce milieu peut également être additionné de jaune d'œuf pour la recherche de la lécithinase ou sans D-cyclosérine pour le contrôle des eaux.

CRITERES ATTENDUS

Aspect du milieu prêt à l'emploi : gélose ambrée

Physico-chimie : pH 7,6 ± 0,2 à 25°C

Activité microbiologique

Ajout de D-Cyclosérine selon recommandations, incubation en anaérobiose en boîte de Petri

Référence des souches	Inoculum requis	Durée et T° d'incubation	Résultat attendu
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124 • WDCM 00007	10 ⁻¹⁰ ² UFC	20 h ± 2 h à 37°C ± 1°C	Croissance, colonies noires
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 12916 • WDCM 00080	10 ⁻¹⁰ ² UFC	20 h ± 2 h à 37°C ± 1°C	Croissance, colonies noires
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 • WDCM 00012	10 ³ -10 ⁴ UFC	20 h ± 2 h à 37°C ± 1°C	Inhibition

Exemple de tests de performances recommandés pour ce milieu

BIBLIOGRAPHIE

1. Downes, F.P. & K. Ito. 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington DC. USA.
2. Horwitz, W. 2000. Official Methods of Analysis. AOAC International. Gaithersburg. MD. USA.
3. U.S. Food and Drug Administration. 1998. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md. USA.
4. ISO 7937. Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens* - Technique par comptage des colonies.
5. ISO 15213. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries sulfito-réductrices se développant en conditions anaérobies.
6. NF EN 26461-1. Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (*clostridia*) - Partie 1 : méthode par enrichissement dans un milieu liquide.
7. NF EN 26461-2. Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (*clostridia*) - Partie 2 : méthode par filtration sur membrane.