

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

## GELOSE TRYPTONE SULFITE NEOMYCINE

### PRINCIPE

La gélose Tryptone Sulfite Néomycine (T.S.N.) est recommandée pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium perfringens* et des germes anaérobies sulfito-réducteurs dans certains aliments.

### FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau purifiée.

Tryptone	15,00	Sulfate de néomycine	0,05
Extrait de levure	10,00	Sulfate de polymyxine B	0,02
Sulfite de sodium	1,00	Agar	13,50
Citrate ferrique ammoniacal	0,50		

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

### CONDITIONS DE CONSERVATION avant ouverture

Tubes : 2 - 8°C

Base déshydratée : 2 - 30°C

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

### PREPARATION

#### Pour le milieu déshydraté :

1. Dissoudre 40 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 et maintenir à 45-47°C.

### UTILISATION

Se conformer aux protocoles en vigueur. D'une façon générale, un des protocoles suivant 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 tubes ensemencés.
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.

**CRITERES ATTENDUS**

Aspect du milieu prêt à l'emploi : gélose ambrée

Physico-chimie : pH 7,3 ± 0,2 à 25°C

Activité microbiologique

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 <sup>2</sup> UFC	24 h à 46°C	Croissance, colonies noires
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 12916 • WDCM 00080	10-10 <sup>2</sup> UFC	24 h à 46°C	Croissance, colonies noire
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 • WDCM 00012	10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup> UFC	24 h à 46°C	Inhibition

Exemple de tests de performances recommandés pour ce milieu

**BIBLIOGRAPHIE**

1. Mossel D.A.A. 1959. Enumeration of sulphite reducing clostridia occurring in foods. J. Sci. Food Agr. 662-669.
2. Marshall R.S., Steenbergen J.F., Mc Clung L.S. 1965. Rapid technic for the enumeration of *Clostridium perfringens*. Appl. Microbiol. **13**:559-563.
3. J.O du 19 janvier 1980. Critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire certaines denrées animales ou d'origine animale. Méthodes générales d'analyse bactériologique. (arrêté du 21 décembre 1979 modifié). Dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs (à 46°C).