



## 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.

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.

### FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

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

pH final à 25°C :  $7,6 \pm 0,2$

### CONSERVATION

Tubes ou flacons : 2 - 8°C

Milieu déshydraté : 2 - 30°C

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

### PREPARATION

#### Pour le milieu déshydraté :

1. Dissoudre 45 grammes dans 1 litre d'eau pure.
2. Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.
3. Répartir en tubes de 20 ml ou flacons de 100 ml.
4. Autoclaver 15 minutes à 121°C.

#### Pour le milieu en tubes ou flacons :

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. Si désiré, ajouter une solution stérile de jaune d'œuf à raison de 80ml par litre (1,6 ml pour 20 ml).
4. Alternativement le milieu peut être répartie immédiatement en boîtes de Petri et laissé à solidifier sur une surface froide. La D-cyclosérine est thermolabile et se conserve de façon aléatoire dans les boîtes de Petri. Ne pas fabriquer plus de boîtes que nécessaire à la recherche en cours.

### 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.

- 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 :

- Chauffer le produit à tester afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores.
- Introduire dans des boîtes de Petri stériles, 1 ml du produit à examiner ou de ces dilutions décimales.
- Ajouter dans les 15 minutes, dans chaque boîte, 15 ml de gélose TSC liquéfiée, mélanger soigneusement et laisser solidifier.
- Incuber en anaérobiose à 37 ou 46°C pendant 24 heures.
- 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.

#### CONTROLE DE QUALITE

Selon ISO 11133, ajout de D-Cyclosérine, inoculum : 10-10<sup>2</sup> CFU/ml (productivité), 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU/ml (sélectivité), incubation en anaérobiose à 37°C pendant 20 heures.

	Souche ATCC®	Croissance en 20 heures à 37°C en anaérobiose
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	Bonne, productivité ≥ 0.7, colonies noires
<i>Clostridium perfringens</i>	12916	Bonne, productivité ≥ 0.7, colonies noires
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibée

#### BIBLIOGRAPHIE

- Downes, F.P. & K. Ito. 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4<sup>th</sup> ed. APHA. Washington DC. USA.
- Horwitz, W. 2000. Official Methods of Analysis. AOAC International. Gaithersburg. MD. USA.
- U.S. Food and Drug Administration. 1998. Bacteriological analytical manual, 8<sup>th</sup> ed. AOAC International, Gaithersburg, Md. USA.
- ISO 7937. 2005. Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens* - Technique par comptage des colonies.
- ISO 11133:2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.
- ISO 15213. 2003. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries sulfito-réductrices se développant en conditions anaérobies.
- NF EN 26461-1. 1993. 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.
- NF EN 26461-2. 1993. Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (*clostridia*) - Partie 2 : méthode par filtration sur membrane.

#### PRESENTATION

Code	Description
31435	10 flacons de 100 ml
25435	100 tubes 18 x 180 mm de 20 ml
80435	500 g
	Autre présentation : nous consulter