

# GELOSE TSN

## DENOMBREMENT DES MICROORGANISMES SULFITO-REDUCTEURS

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose TSN est principalement destinée au dénombrement à 46 °C des anaérobies sulfito-réducteurs dans les produits alimentaires et notamment dans les plats cuisinés.

### 2 HISTORIQUE

La gélose Tryptone-Sulfite-Néomycine (TSN) avait été recommandée par Mossel et développée par Marschall *et al.* en 1965 pour l'isolement sélectif et le dénombrement de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires et les autres prélèvements, principalement lorsque ceux-ci étaient contaminés par une microflore secondaire importante. La mise en évidence de *Clostridium perfringens* était fondée sur les 3 caractéristiques suivantes :

- croissance optimale à 46°C,
- tolérance à la Néomycine et à la Polymyxine,
- forte capacité à réduire le sulfite.

### 3 PRINCIPES

La présence simultanée de Néomycine et de Polymyxine B rend le milieu inhibiteur vis-à-vis des entérobactéries.

La Néomycine inhibe la croissance de la plupart des souches de *Clostridium bifermentans*.

Les microorganismes sulfito-réducteurs réduisent le sulfite en sulfure provoquant, avec le citrate ferrique, un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies.

### 4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- |                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| - Tryptone .....                     | 15,0 g |
| - Extrait autolytique de levure..... | 10,0 g |
| - Sulfite de sodium.....             | 1,0 g  |
| - Citrate ferrique ammoniacal .....  | 0,5 g  |
| - Sulfate de Néomycine .....         | 50 mg  |
| - Sulfate de Polymyxine B .....      | 20 mg  |
| - Agar agar bactériologique .....    | 13,5 g |

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,2 ± 0,2.

### 5 PREPARATION

- Mettre en suspension 40,0 g de milieu déshydraté (BK001) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**  
40,0 g/L

✓ **Stérilisation :**  
15 min à 121 °C

## 6 MODE D'EMPLOI

### Utilisation en tubes :

- Chauffer le produit à analyser afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores.
- Transférer 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales successives dans les tubes, en évitant au maximum d'incorporer de l'air au milieu.
- Homogénéiser parfaitement par retournement complet.
- Refroidir dans un bain d'eau glacée.
- Incuber à  $46 \pm 1$  °C pendant  $24 \pm 2$  heures.

✓ **Ensemencement :**  
**En profondeur**

✓ **Incubation :**  
**24 h à 46°C**

**Note :** Ne pas surchauffer le milieu. Le chauffage des tubes après ensemencement doit être évité.

### Utilisation en boîtes :

- Transférer 1 mL de l'inoculum et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler environ 15 mL de milieu, par boîte.
- Homogénéiser parfaitement et laisser solidifier sur une surface plane.
- Incuber les boîtes en jarre d'anaérobiose en présence d'un mélange gazeux d'hydrogène et de dioxyde de carbone.

## 7 LECTURE

Pour les boîtes, effectuer les lectures aussitôt après ouverture de la jarre, sinon les colonies risquent de pâlir par suite de l'oxydation du sulfure de fer.

Dénombrer les colonies entourées d'un halo noir.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

## 8 CONTROLE QUALITE

**Milieu déshydraté :** poudre beige, fluide et homogène.

**Milieu préparé :** gélose ambrée.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation en anaérobiose à 46 °C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : $P_R$ )	Caractéristiques
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	$P_R \geq 70$ %	Colonies noires
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00080	$P_R \geq 70$ %	Colonies noires
<i>Bacillus cereus</i>	WDCM 00001	Inhibée	-
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée	-

## 9 CONSERVATION

**Milieu déshydraté :** 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

**Milieu préparé :** Non recommandé, utiliser immédiatement après préparation.

## 10 PRESENTATION

**Milieu déshydraté :**

Flacon de 500 g ..... BK001HA

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Mossel, D.A.A.. 1959. Enumeration of sulphite-reducing clostridia occurring in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **10** :662-669.

Arbuckle, R. E.. 1960. The influence of temperature on the growth of *Clostridium perfringens*. M.A. Thesis, Indiana Univ., Bloomington.

Collee, J.G., Knowlden, J.A., and Hobbs, B.C.. 1961. Studies on the growth, sporulation and carriage of *Clostridium welchii* with special reference to food poisoning strains. *Journal of Applied Bacteriology*, **24** : 326-339.

Marschall, R.S., Steenbergen, J.F., and McClung, L.S.. 1965. Rapide technique for the enumeration of *Clostridium perfringens*. *Applied Microbiology*, **13(4)** : 559-563.

RODIER, J.. 1984. L'analyse de l'eau. Recherche et dénombrement des *Clostridium perfringens*. Dunod 7ème Ed., 855-857.

## 12 AUTRES INFORMATIONS

---

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : GELOSE TSN\_FR\_V10.

Date création : 04-2003

Date de révision : 10-2015

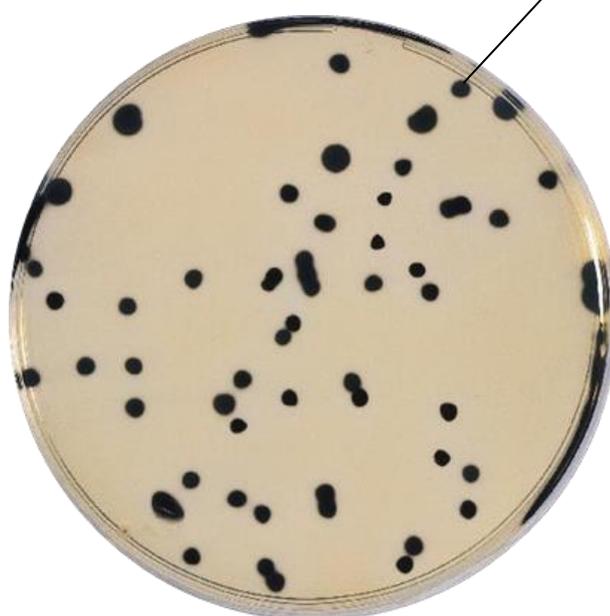
Motif de révision : Révision générale.

## Gélose TSN

Dénombrement des microorganismes sulfito-réducteurs

### Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 46 °C.



*Clostridium perfringens*

Colonie caractéristique :  
couleur noire