

GELOSE RCM DE HIRSCH ET GRINSTED

DENOMBREMENT DES ANAEROBIES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose RCM (Reinforced Clostridial Medium) est un milieu non sélectif utilisé pour la culture, l'isolement et la numération des *Clostridia*, des autres germes anaérobies, des lactobacilles dans les prélèvements biologiques, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

2 HISTORIQUE

Ce milieu fut décrit par Hirsch et Grinsted pour l'isolement de *Clostridium butyricum* en milieu gélosé. Barnes l'utilisa pour dénombrer les *Clostridia* dans les aliments. Attenborough et Scarr l'employèrent pour dénombrer *Clostridium saccharolyticum* dans le sucre.

3 PRINCIPES

Ce milieu non sélectif laisse pousser également streptocoques et lactobacilles.

Les facteurs nutritifs sont apportés par la Tryptone, les extraits de viande et de levure, le glucose et la cystéine, qui agit aussi comme substance réductrice.

L'amidon favorise la germination des spores.

Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	10,0 g
- Extrait de viande	10,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Cystéine (chlorhydrate)	0,5 g
- Glucose	5,0 g
- Amidon soluble.....	1,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Acétate de sodium	3,0 g
- Agar agar bactériologique	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 6,8 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 52,5 g de milieu déshydraté (BK090) 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 à 44-47 °C.

✓ **Reconstitution :**
52,5 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

6 MODE D'EMPLOI

- Transférer 1 mL de l'échantillon à contrôler 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 froide.
- Incuber les boîtes en jarre, sous anaérobiose.
- Incuber à 30, 37 ou à 55 °C pendant 1 à 10 jours selon le protocole analytique à respecter.

✓ **Ensemencement :**
1 mL en profondeur

✓ **Incubation :**
Selon protocole

7 LECTURE

Réaliser le dénombrement en retenant les boîtes dont le nombre de colonies est compris entre 15 et 150.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale après 48 heures d'incubation en anaérobiose à 37 °C

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	$P_R \geq 70 \%$
<i>Clostridium bifermentans</i>	ATCC® 19299	$P_R \geq 70 \%$
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	CNRZ 500	$P_R \geq 70 \%$

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK090HA

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hirsch, A. and Grinsted, E.. 1954. Methods for the growth and enumeration of anaerobic sporeformers from cheese, with observations on the effect of nisin. Journal of Dairy Research, 21 : 101-110.

Barnes, E.M. and Ingram, M.. 1956. The effect of redox potential on the growth of *Clostridium welchii* strains isolated from horse muscle. Journal of Applied Bacteriology, 19 : 117-122.

Munoa, F.J. and Pares, R.. 1988. Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobactericum* spp. Applied and Environmental Microbiology, 54 : 1715-1718.

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 RCM HIRSCH GRINSTED_FR_V5.

Date création : 01-2003

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.