

GELOSE SIM (MOBILITE INDOLE SULFITE)

CONFIRMATION DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose SIM (mobilité, indole, sulfite) est utilisée comme milieu de confirmation dans le cadre du dénombrement de *Clostridium perfringens*. Elle s'utilise après une étape de purification, sur gélose au sang ou gélose nutritive, des colonies présumées isolées sur la gélose TSC.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 15213-2, pour le dénombrement de *Clostridium perfringens* dans les aliments, les aliments pour animaux, les échantillons environnementaux et les échantillons prélevés au stade de la production primaire.

2 PRINCIPES

Le principe de ce milieu repose sur la production de sulfite, qui en combinaison avec les ions de Fer forme un précipité noir de sulfure. Il se base également sur la formation d'indole ainsi que sur la mobilité. C'est un milieu différentiel permettant la confirmation de *Clostridium perfringens*.

Enfin, la présence d'indole dans le milieu met en évidence la transformation du tryptophane en présence de la tryptophanase. En ajoutant le réactif de Kovacs à la surface du milieu, l'apparition d'un anneau rouge à la surface indique la présence d'indole.

La concentration réduite d'agar dans la gélose permet d'évaluer la mobilité par diffusion de la croissance. Si un microorganisme est mobile, il présentera une croissance en dehors du point d'inoculation.

Clostridium perfringens est positif à la production de sulfite, négatif à la production d'indole et immobile.

3 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu complet :

- Peptone	6,0 g
- Digestat enzymatique de soja	20,0 g
- Sel de Mohr	0,2 g
- Thiosulfate de sodium	0,2 g
- Agar agar bactériologique	2,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,6 ± 0,2.

4 PREPARATION

A partir du milieu déshydraté (BK241)

- Mettre en suspension 28,9 g de milieu déshydraté (BK241) 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.
- Répartir à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir en position verticale.
- Si utilisation immédiate, s'assurer de la bonne reprise en masse.

✓ **Reconstitution :**
28,9 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

A partir du milieu préparé ou prêt-à-l'emploi (BM241)

- Avant utilisation, régénérer les tubes en les portant 10 minutes à 100°C.
- Refroidir à température ambiante.
- S'assurer de la bonne reprise en masse avant utilisation.

5 MODE D'EMPLOI

- À partir d'une colonie purifiée sur gélose au sang ou gélose nutritive en anaérobiose, ensemercer par une piqûre centrale, droite et profonde dans les tubes.
- Incuber à 37 ± 1 °C pendant 22 ± 2 heures en anaérobiose.

✓ **Ensemencement :**
Piqûre centrale

✓ **Incubation :**
 22 ± 2 h à 37 ± 1 °C en anaérobiose

6 LECTURE

Clostridium perfringens présente les aspects suivants :

Croissance avec un noircissement au niveau de la piqûre d'inoculation. Absence de l'anneau rouge après l'ajout du réactif de Kovacs.

Les *Clostridium* spp. autres que *Clostridium perfringens* peuvent présenter les aspects suivants :

Croissance avec un noircissement sur l'ensemble du tube. Présence d'un anneau rouge après l'ajout du réactif de Kovacs.

(Voir Annexe 1 : SUPPORT PHOTO)

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige, fluide et homogène.

Milieu préparé complet : gélose ambrée, homogène et limpide.

Réponse culturale après 22 ± 2 heures d'incubation à 37 ± 1 °C (NF EN ISO 15213-2) :

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques des colonies
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	Bonne croissance Score 2	Noircissement au niveau de la piqûre d'inoculation. Croissance uniquement sur la piqûre d'ensemencement. Absence d'anneau rouge après ajout du réactif de Kovacs.
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Bonne croissance Score 2	Absence de noircissement du tube. Possibilité de diffusion de la croissance à partir de la piqûre d'ensemencement. Possibilité d'anneau rouge après ajout du réactif de Kovacs.

8 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-20 °C.

Milieu prêt-à-l'emploi en tubes : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu complet préparé en tubes (*) : 30 jours à 2-20 °C .

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

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK241HA

Milieu prêt-à-l'emploi :

Pack de 50 tubes de 10 mL BM24108

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF EN ISO 15213-2. Novembre 2023. Microbiologie de la chaîne alimentaire – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Clostridium* spp. – Partie 2 : Dénombrement de *Clostridium perfringens* par la technique de comptage des colonies.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau. Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 11133/A1. Mars 2018. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture - Amendement 1.

NF EN ISO 11133/A2. Mai 2020. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture - Amendement 2.

11 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 : SIM GELOSE_BK241_BM241_V5(fr)

Date création : 04-2024

Date de révision : 02-2026

Motif de révision : Corrections mineures

ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

Gélose SIM

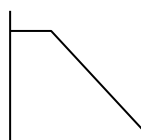
Confirmation de *Clostridium perfringens*

Lecture :

Croissance obtenue après 22 ± 2 h d'incubation à 37 ± 1 °C, en anaérobiose

Clostridium perfringens

Noircissement au niveau de la
piqûre d'inoculation
(Sulfite +, Mobilité -)

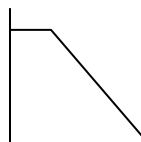


Clostridium spp. sulfite-réducteurs
autres que *Clostridium perfringens* :
Noircissement dans le tube
(Sulfite +, Mobilité +)

Figure 1 : Avant ajout du réactif de Kovacs

Clostridium perfringens

Incolore après ajout du réactif de
Kovacs
(Indole -)



Clostridium spp. sulfite-réducteurs
autres que *Clostridium perfringens* :
Présence d'un anneau rouge à la
surface après ajout du réactif de
Kovacs
(Indole +)

Figure 2 : Après ajout du réactif de Kovacs (test d'indole)