

## TP3 Quelques manipulations relatives à la recherche de Salmonella dans un bioproduit

### 1. Étude d'un milieu d'enrichissement pour Salmonella : le bouillon sélénite-cystine

On se propose de tester la « capacité d'enrichissement » d'un bouillon utilisé dans plusieurs normes de recherche de Salmonella : le bouillon au sélénite de Leifson.

En principe, ce bouillon est ensemencé à partir d'un préenrichissement non sélectif du produit en eau peptonée tamponnée (1 volume préenrichissement pour 10 volumes de bouillon sélénite).

#### **Protocole**

##### **JOUR 1**

Préparation du pré-enrichissement: introduction de 25mL de lait dans 225mL d'eau peptonée tamponnée. Le lait a été préparé comme suit : Pour 1 Litre de lait stérile, on ajoute :

- 1mL de culture en bouillon de *E.coli*
- 1mL de culture en bouillon de *Salmonella enteritidis* (H<sub>2</sub>S+)
- 1mL de culture en bouillon de *Proteus mirabilis*

Les 3 cultures ont été calibrées au départ pour avoir environ la même concentration en cellules. Un échantillon de ce bouillon de préenrichissement E est fourni en tube à essai.

#### Étude du bouillon sélénite

Préchauffer un tube de 10mL de bouillon sélénite à 37°C .

Introduire dans ce tube 1mL du préenrichissement. Remettre à 37°C

Effectuer au temps 0 et au temps 2h un isolement par épuisement sur géloses VBRP, SS et sur gélose Hektoën (utiliser la technique à l'anse avec une strie initiale puis des stries parallèles)

Remarque : la norme prévoit un épuisement sur 2 boîtes successives, on se limitera à une boîte chaque fois.

##### **JOUR 2**

Étudier les boîtes ensemencées à t<sub>0</sub> et à t = 2h.

Repérer sur gélose SS deux colonies isolées suspectes d'appartenir au genre Salmonella

Effectuer un test uréase rapide : émulsionner la colonie dans 5 gouttes de milieu urée indole : incubé à 37°C, lire à t=2h ; prévoir un témoin avec une souche de *Proteus urease* +.

(Rem : il faudrait tester 5 colonies suspectes)

#### **Compte rendu**

- 1) Compléter le tableau fourni, donnant l'aspect justifié des 3 types de colonies sur les trois milieux, discuter l'intérêt du saccharose dans ces milieux.
- 2) Analyser les résultats des 2 lots d'isolement (t<sub>0</sub> et t = 2h). Comparer. L'intérêt du bouillon sélénite comme milieu sélectif d'enrichissement est-il mis en évidence ? Quel témoin faudrait-il faire ?
- 3) Quelles colonies peuvent avoir le même aspect sur gélose SS ? intérêt du test uréase rapide. Résultat.

### 2. Étude d'une souche pure fournie sur GNI

La souche fournie est supposée être un repiquage d'une colonie suspecte sur gélose SS . Réaliser un isolement sur BCP.

Identifier avec une galerie API 20 E.

### **Compte rendu**

- 1) Donner la signification des tests OF-O ; OF-F, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, McC, OX. Quels résultats sont constants pour la famille Enterobacteriaceae ?
  - 2) Donner les résultats de la galerie API20E et de l'isolement. Identifier la souche par la méthode probabiliste et discuter les résultats (identification, %Id, T).
- (les 2 questions sont indépendantes)