

TP4 Étude bactériologique d'un aliment

Recherche de *Staphylococcus aureus*

1. Étude bactériologique d'un aliment

- Prélever stérilement 10 grammes de l'aliment, si possible en plusieurs endroits et les introduire dans une poche stérile.
- Ajouter dans la poche 90 mL d'eau peptonnée tamponnée stérile.
- Broyer l'ensemble pendant 3 minutes au Stomacher pour avoir une suspension mère homogène : cette suspension correspond à la dilution 10^{-1} de l'aliment.

Ensemencements

- A partir de la suspension mère, réaliser les dilutions 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} de l'aliment.
- le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile à 30°C sur les dilutions 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} (1mL dans la masse en simple)
- le dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants en gélose désoxycholate lactosée à 0,1% sur la dilution 10^{-1} uniquement (1 mL 30 dans la masse en simple)
- recherche de *St. aureus* sur la dilution 10^{-1} sur Baird Parker (0,1 mL en surface ; un essai)
- la recherche de *Clostridium perfringens* sur la dilution 10^{-1} , en gélose en tube TSN (1 x 5 mL dans la masse).
Attention : on ne recherche pas les spores mais les bactéries ; ne pas chauffer à 80°C .

Organisation

- un aliment testé par paillasse
- dilutions réalisées une fois pour le binôme
- chacun ensemence tous les milieux : les essais seront donc testés en double
- réfléchir avant la manipulation à tout le matériel nécessaire...

Remarque : le point « nouveau » du TP est la recherche de *S.aureus*; il n'est pas sûr qu'on en retrouve. Réaliser en plus cette recherche sur une suspension connue positive pour pouvoir observer les colonies typiques en jour 2.

Compte rendu

- 1) Donner plan de la manipulation où figure tubes, boîtes, nom des milieux, températures d'incubation
- 2) Préciser le nombre de pipettes nécessaires
- 3) Justifier le choix des dilutions testées pour les différentes analyses
- 4) Tableau des résultats bruts du binôme (éventuellement trinôme)
- 5) Déterminer le résultat N de chaque dénombrement ; interpréter en fonction des normes fournies (fiche technique 10)

2. Identification d'une colonie suspecte sur Baird Parker et réalisation des tests de confirmation

Vous disposez d'un bouillon cœur-cerveille réalisé à partir d'une colonie suspecte sur Baird Parker. Réaliser :

- un test de coagulase (lecture en 2h)
- une recherche de DNase thermostable sur gélose ADN/bleu de toluidine. On tester sur : le bouillon non chauffé, le bouillon chauffé, une souche témoin + (lecture possible en quelques heures, prolonger l'incubation à 24h si le témoin + n'est pas visible).

(fiche technique 12)

Compte rendu

Énoncer le principe des tests de la coagulase et de la DNase thermostable.
Résultats observés.