
BOUILLON SELENITE-CYSTINE

ENRICHISSEMENT SELECTIF DES SALMONELLES

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon sélénite-cystine est utilisé pour l'enrichissement sélectif de *Salmonella* Typhi et Paratyphi dans les aliments mais aussi pour la caractérisation des boues. Il peut être aussi employé en santé animale pour la recherche de *Salmonella* Gallinarum notamment ou dans le domaine de l'eau.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF U47-101 et NF U47-102 ; NF EN ISO 6579-1/A1; NF EN ISO 19250 et FD/CEN/TR 15215-2.

2 HISTORIQUE

Guth, confirmant les premières observations de Handel et Thodorascu, a employé le sélénite de sodium comme agent sélectif dans un bouillon d'enrichissement pour *Salmonella* Typhi, après avoir mis en évidence la toxicité de cette substance vis-à-vis d'*Escherichia coli*.

Leifson, reprenant les travaux de Guth, a développé la formule d'un bouillon au sélénite pour l'enrichissement sélectif des *Salmonella* Typhi et Paratyphi à partir de prélèvements pathologiques, en montrant que pendant les douze premières heures d'incubation, le nombre de coliformes diminuait tandis que, parallèlement, le nombre de bacilles typhiques augmentait rapidement.

Le bouillon sélénite-cystine constitue une modification de la formule originale de Leifson.

Cette formulation a été proposée par la Food and Drug Administration pour une utilisation spécialement destinée à la détection des *Salmonella* dans les produits alimentaires.

3 PRINCIPES

La teneur en sélénite permet d'assurer l'inhibition des microorganismes autres que les salmonelles et notamment des coliformes et des entérocoques. Les *Pseudomonas* et les *Proteus* ne sont pas totalement inhibés.

Le phosphate disodique contribue à assurer le maintien du pH et à réduire la toxicité du sélénite afin d'augmenter la capacité de récupération du milieu.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1010 mL de milieu :

- Tryptone	5,0 g
- Lactose.....	4,0 g
- Disodium hydrogénophosphate	10,0 g
- Hydrogénosélénite de sodium.....	4,0 g
- L-cystine	10,0 mg

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

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 23,0 g de milieu déshydraté (BK009) dans 1010 mL d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète.
- Maintenir l'ébullition pendant 2 minutes.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir rapidement le milieu jusqu'à température ambiante.
- Répartir en tubes stériles à raison de 10 mL ou en flacons stériles à raison de 100 mL.

✓ **Reconstitution :**
23,0 g / 1010mL

✓ **Stérilisation :**
Porter à ébullition
pendant 2 min

Notes :

Une surchauffe entraîne l'apparition d'un sédiment rouge brique de sélénium précipité qui dénature le milieu. Celui-ci doit alors être détruit.

D'autres volumes peuvent être utilisés en fonction du référentiel retenu.

6 MODE D'EMPLOI

Enrichissement sélectif pour la recherche de *Salmonella* Typhi et *Salmonella* Paratyphi (NF EN ISO 6579-1, annexe D)

- Transférer 1 mL du bouillon de pré-enrichissement dans 10 mL de bouillon sélénite-cystine.
- Incuber entre 34 et 38°C pendant 24 ± 3 h et 48 ± 3 h.
- Effectuer les repiquages sur la gélose XLD et gélose au sulfate de bismuth, au moyen d'une anse bouclée.

✓ **Ensemencement :**
1 mL dans 10 mL

✓ **Incubation :**
24 h et 48 h entre 34 et
38 °C

Enrichissement primaire des salmonelles dans les boues (FD/CEN/TR 15215-2)

- Transférer 10 mL de suspension dans 90 mL de bouillon sélénite-cystine.
- Transférer 1 mL et 0.1 mL de suspension dans des tubes de 10 mL de bouillon.
- Incuber à 36 ± 1 °C pendant 22 ± 2 heures.
 - Procéder à l'enrichissement secondaire en transférant 0,1 mL de culture dans des tubes de bouillon Rappaport Vassiliadis.

✓ **Ensemencement :**
10 mL, 1 mL et 0,1 mL

✓ **Incubation :**
22 h à 36 °C

Notes :

Pour d'autres utilisations, se reporter au référentiel en vigueur.

Au-delà de 24 heures d'incubation, l'effet inhibiteur du milieu diminue. Il existe alors un risque de croissance de puissants compétiteurs comme les *Proteus*, en présence desquels les salmonelles sont détruites. Toutefois, une durée de 48 heures est requise pour l'enrichissement sélectif de *Salmonella* Pullorum.

7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : solution ambre claire à rosée, pouvant présenter un très léger précipité.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C, puis subcultures :

Microorganismes		Croissance
<i>Salmonella</i> Typhimurium + <i>Escherichia coli</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00031 WDCM 00013 WDCM 00025	> 10 colonies caractéristiques
<i>Salmonella</i> Enteritidis + <i>Escherichia coli</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00030 WDCM 00013 WDCM 00025	> 10 colonies caractéristiques
<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00087 WDCM 00013	< 10 colonies ≤ 10 ² colonies

8 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-20 °C.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu préparé en tubes ou en flacons (*) : 8 jours à 2-8 °C, à l'abri de la lumière et après vérification de l'absence de précipité rouge.

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

9 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK009HA

10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Leifson, E.. 1936. New selenite enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid (*Salmonella*) bacilli. American Journal of Hygiene, 24 : 423-432.

FD/CEN/TR 15215-2. Avril 2006. Caractérisation des boues. Détection et dénombrement de *Salmonella* spp. dans les boues, les sols, les amendements du sol, les supports de culture et biodéchets. Partie 2 : Méthode par enrichissement en milieu liquide sélénite-cystine puis en milieu de Rapport-Vassiliadis pour la détermination semi-quantitative par la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP).

NF U47-101. Novembre 2007. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les oiseaux.

NF U47-102. Janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.

NF EN ISO 19250. Juin 2013. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp.

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : recherche des *Salmonella* spp..

NF EN ISO 6579-1/A1. Mars 2020. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : Recherche des *Salmonella* P spp. - Amendement 1 : Extension de la plage de températures pour l'incubation, amendement du statut de l'Annexe D et correction de la composition des milieux MSRV et SC.

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 : BOUILLON SELENITE CYSTINE_FR_V13.

Date création : 04-2003

Date de révision : 06-2020

Motif de révision : Mise en conformité avec la NF EN ISO 6579-1/A1