

SESAME SALMONELLA TEST®

METHODE DE DETECTION DES SALMONELLES

1 DOMAINE D'UTILISATION

SESAME Salmonella TEST® constitue une méthode alternative de recherche des salmonelles dans les produits d'alimentation humaine et animale, ainsi que dans les échantillons de l'environnement.

La méthode est destinée à la détection des salmonelles mobiles et n'est pas adaptée à la détection des salmonelles immobiles (souches immobiles ou ayant perdu leur mobilité).

Les analyses peuvent être déclarées négatives en 37 heures après les deux seules étapes de pré-enrichissement (**Salmonella Enrichissement**) et de différenciation (**SESAME Salmonella Détection**).

La confirmation des échantillons présomptivement positifs, réalisée à l'aide de **COMPASS® Salmonella Agar**, nécessitera une incubation supplémentaire de 21 heures.

SESAME Salmonella TEST® est certifiée NF VALIDATION, sous Attestation N° BKR 23/04-12/07, selon le protocole de validation NF EN ISO 16140-2 de 2016 pour tous produits d'alimentation humaine et animale, ainsi que les échantillons de l'environnement de production industrielle. La méthode de référence utilisée pour la validation est la norme NF EN ISO 6579-1 de 2017.

Se référer au certificat disponible sur le site NF VALIDATION pour la date de fin de validité de la méthode.



Dans le cadre de la marque NF VALIDATION, les prises d'essai supérieures à 25 g n'ont pas été testées.

2 PRINCIPES

La dilution au 1/10^{ème} du produit à analyser est réalisée conformément aux recommandations de la norme NF EN ISO 6579 dans le bouillon **Salmonella Enrichissement**.

Le pré-enrichissement est réalisée par ensemencement et incubation pendant 16 à 22 heures de **Salmonella Enrichissement**.

L'équilibre osmotique et la formule tamponnée du bouillon permettent la revivification optimale des salmonelles.

La différenciation est mise en œuvre par ensemencement et incubation pendant (24 ± 3) heures de **SESAME Salmonella Détection**.

Les excellentes capacités migratoires de ce milieu semi-solide, associée à une sélectivité appropriée, permettent de sélectionner rapidement les échantillons présomptivement positifs par simple visualisation de la migration des salmonelles sur boîte de Petri.

L'éventuelle étape de confirmation est réalisée par ensemencement et incubation pendant (24 ± 3) heures de **COMPASS® Salmonella Agar**.

Le principe de ce milieu solide sélectif est basé sur la révélation spécifique de l'estérase et de la β-glucosidase présente pour la première et absente pour la seconde chez une très large majorité de salmonelles.

3 FORMULES-TYPES

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

Salmonella Enrichissement

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone	10,00 g
- Chlorure de sodium	5,00 g
- Tampon phosphates	5,06 g

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

Note: La formule de *Salmonella* Enrichissement est conforme à celle de l'eau peptonée tamponnée.

SESAME Salmonella Test®

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone	4,59 g
- Hydrolysate acide de caséine	4,59 g
- Chlorure de sodium	7,34 g
- Phosphate monopotassique	1,47 g
- Agents inhibiteurs	10,98 g
- Agar-agar bactériologique.....	2,70 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 5,2 ± 0,2

COMPASS® Salmonella Agar

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone	10,00 g
- Chlorure de sodium	5,00 g
- Tampon phosphate.....	7,00 g
- Agents inhibiteurs	9,00 g
- Mélange chromogène	1,40 g
- Agar-agar bactériologique.....	15,00 g

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

4 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté Salmonella Enrichissement :

- Mettre en solution 20,0 g de milieu déshydraté (BK194) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes de 9 mL ou en flacons de 225 mL.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à température ambiante

✓ **Reconstitution:**
20,0 g/L

✓ **Stérilisation:**
15 min à 121°C

Préparation du milieu déshydraté SESAME Salmonella Détection :

- Mettre en suspension 31,7 g de milieu déshydraté (BK195) 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.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C.
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Ne pas sécher les boîtes ainsi préparées.

✓ **Reconstitution:**
31,7 g/L

✓ **Stérilisation:**
Ebullition

Notes sur l'utilisation du milieu prêt-à-liquéfier SESAME Salmonella Détection

- Faire fondre la gélose (BM138) pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquéfaction totale.
- Ne pas répéter cette opération plus d'une fois.

5 PROTOCOLE CERTIFIÉ NF VALIDATION

Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (se référer à la norme NF EN ISO 7218).

MODE D'EMPLOI

- Introduire aseptiquement 25 g de produit à analyser dans 225 mL de *Salmonella* Enrichissement.
- Homogénéiser ou stomacher si besoin.
- Incuber le bouillon à $(37,0 \pm 1,0)$ °C pendant 16 à 22 heures.
- Ensemencer 3 gouttes (environ 0,1 mL) de la culture provenant de *Salmonella* Enrichissement, au centre d'une boîte de SESAME *Salmonella* Détection.
- Incuber à $(41,5 \pm 1,0)$ °C, pendant (24 ± 3) heures, sans retourner les boîtes.

✓ **Enrichissement :**
Au 1/10^{ème},
16-22 h à 37°C

✓ **Détection :**
Repiquage 3 gouttes
21-27 h à 41,5 °C

Note :

SESAME *Salmonella* Détection peut être conservé pendant 72 h à 2-8°C après ensemencement et incubation avant de réaliser les éventuelles confirmations.

Se référer aux différentes parties de la norme ISO 6887 :

- Utiliser le **Salmonella Enrichissement avec Tween** pour la suspension mère et l'enrichissement des matrices à plus de 20 % de matières grasses.
- Utiliser le **Salmonella Enrichissement doublement tamponné** ou le **Salmonella Enrichissement** pour les matrices acides et acidifiantes.
- Ajouter 0,1 g/L d' α amylase pour les céréales infantiles.

LECTURES

- Le développement d'un halo opaque blanchâtre, de diamètre au moins égal à 30 mm, centré sur le point d'ensemencement, indique présomptivement la présence de salmonelles.

CONFIRMATIONS

Dans le cadre de la marque NF VALIDATION, tous les résultats positifs doivent être confirmés de l'une des manières suivantes :

Méthodes normalisées ou validées ISO 16140-6

- Mise en œuvre des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification), en repartant d'une colonie caractéristique isolée sur SESAME *Salmonella* Détection.
- Mise en œuvre de méthodes certifiées selon l'ISO 16140-6 en repartant des colonies caractéristiques isolées sur SESAME *Salmonella* Détection.

Méthodes certifiées NF VALIDATION

- Option 1 : Mise en œuvre des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification), en repartant d'une fraction de culture bactérienne prélevée en périphérie de la zone de migration obtenue sur SESAME *Salmonella* Détection.
- Option 2 : Mise en œuvre de **COMPASS® Salmonella Agar**.
Prélever une fraction de culture en périphérie de la zone de migration obtenue sur SESAME *Salmonella* Détection et ensemencer en stries l'inoculum sur **COMPASS® Salmonella Agar**.
Incuber à (37 ± 1) °C pendant (24 ± 3) heures.
Les salmonelles présentent sur la gélose **COMPASS® Salmonella** des colonies roses à magenta.

Note sur le **COMPASS® Salmonella Agar**

Certaines souches de *Salmonella* appartenant aux sérovars Dublin et Atento, ainsi que quelques unes des sous-espèces *houtenae*, *bongori* et *diarizonae*, peuvent présenter une pigmentation magenta faible à nulle, en raison de la faible activité estérasiqque qui les caractérise.

- Option 3 : Utilisation de toute autre méthode certifiée NF VALIDATION, de principe différent. Le protocole validé de la seconde méthode devra être respecté dans son ensemble, c'est à dire que toutes les étapes antérieures à l'étape intermédiaire de laquelle on repart pour la confirmation doivent être communes aux deux méthodes. Les deux méthodes validées (l'une utilisée en détection et l'autre en confirmation) doivent donc avoir un tronc commun.

En cas de résultats discordants (positifs par la méthode alternative, non confirmés par l'une des options décrites ci-dessus), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.

6 CONTROLE QUALITE

Réponse culturale de croissance après 18 h d'incubation à 37°C sur *Salmonella* Enrichissement, puis 24 h d'incubation à 41,5°C sur SESAME *Salmonella* Détection, et subculture sur COMPASS® *Salmonella* Agar pendant 24 h à 37 °C :

Microorganismes		Croissance sur SESAME <i>Salmonella</i> Détection	Caractéristique culturale après subculture sur COMPASS® <i>Salmonella</i> Agar
<i>Salmonella</i> Enteritidis + <i>Escherichia coli</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00030 WDCM 00013 WDCM 00025	Culture blanchâtre, opaque ≥ 30mm	Colonies magenta
<i>Salmonella</i> Typhimurium + <i>Escherichia coli</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00031 WDCM 00012 WDCM 00025	Culture blanchâtre, opaque ≥ 30 mm	Colonies magenta
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée	
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée	

7 CONSERVATION

Salmonella Enrichissement :

Milieux déshydratés : 2-30 °C.

Milieux prêts-à-l'emploi en flacons ou en poches : 2-25 °C.

Milieu préparé (*) : 6 mois à 2-25°C

SESAME Salmonella Détection

Milieu déshydraté : 2-25°C.

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons : 2-8°C, à l'abri de la lumière

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) : 2-8°C, à l'abri de la lumière.

Milieu préparé en boîtes (*) : 15 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière.

COMPASS® Salmonella Agar

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) : 2-8°C, à l'abri de la lumière.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

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

8 PRESENTATION

Salmonella Enrichissement :

Flacon de 500 g.....	BK194HA
Fût de 5 kg	BK194GC
10 flacons de 225 mL	BM13608
3 poches souples de 3 litres	BM13708
2 poches souples de 5 litres	BM14408
40 poches souples de 5 litres	BM23708

Salmonella Enrichissement + Tween® 80 (10 g/L):

Carton de 3 poches souples de 3 L.....	BM16308
Carton de 2 poches souples de 5 L.....	BM19808
Pack de 10 flacons de 225 mL.....	BM21608

Salmonella Enrichissement doublement tamponnée

Flacon de 500 g.....	BK225HA
Seau de 5 kg.....	BK225GC
Carton de 2 poches souples de 5 L.....	BM20008
Pack de 10 flacons de 225 mL.....	BM20108

SESAME Salmonella Détection :

Flacon de 500 g.....	BK195HA
Pack de 10 flacons de 200 mL.....	BM13808
Coffret de 20 boîtes de Petri (Ø 90 mm).....	BM14108
Coffret de 120 boîtes de Petri (Ø 90 mm).....	BM15008

COMPASS® Salmonella Agar :

Coffret de 20 boîtes de Petri (Ø 90 mm).....	BM06608
Coffret de 120 boîtes de Petri (Ø 90 mm).....	BM23008

9 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

HUMBERT, F., LALANDE, F., ROSE, V., et SALVAT, G.. 1998. Evaluation d'un nouveau milieu d'isolement pour la mise en évidence des salmonelles dans les élevages et les denrées d'origine animale. 5ème congrès de la Société Française de Microbiologie. 128.

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. Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : recherche des *Salmonella* 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.

NF EN ISO 16140-2. Juillet 2016. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Validation des méthodes - Partie 2 : protocole pour la validation de méthodes alternatives (commerciales) par rapport à une méthode de référence - Microbiologie des aliments.

NF EN ISO 7218. Octobre 2007. Microbiologie des Aliments. Exigences générales et recommandations.

NF EN ISO 7218/A1. Octobre 2013. Microbiologie des aliments - Exigences générales et recommandations - Amendement 1.

ISO 6887. Microbiologie de la chaîne alimentaire. Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. Parties 1 à 6.

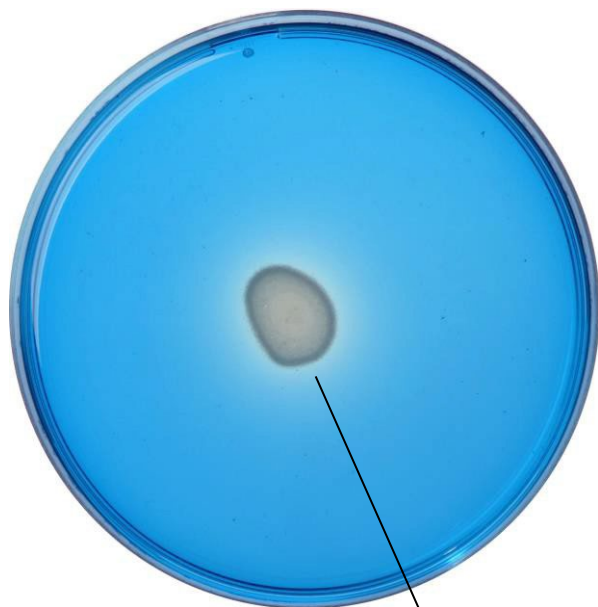
10 AUTRES INFORMATIONS

COMPASS® et SESAME Salmonella TEST® sont des marques de SOLABIA S.A.S.

Code document	: SESAME SALMONELLA_FR_V11
Date création	: 04-2003
Date de révision	: 10-2023
Motif de révision	: Remise en forme liée à la reconduction, ajouts et suppressions conditionnements.

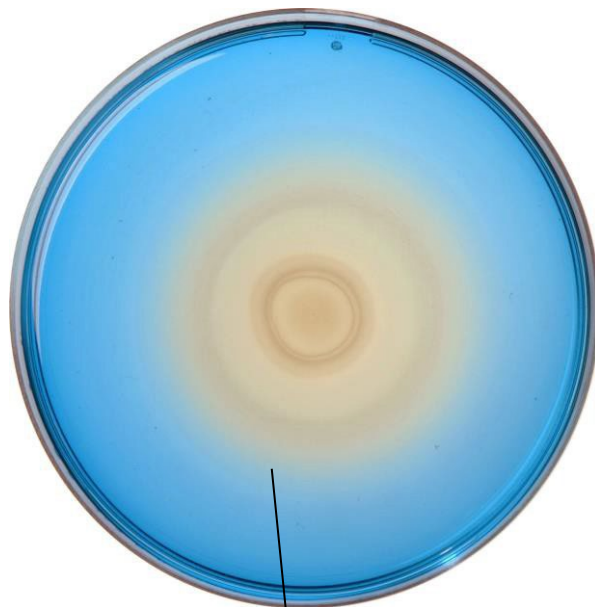
SESAME SALMONELLA DETECTION

Détection des Salmonelles mobiles



Aspect non caractéristique

Si croissance, uniquement au point d'inoculation.
Pas de halo opaque.



Salmonella spp.

Aspect caractéristique
Culture blanchâtre et halo opaque centrés au point d'inoculation

SESAME *Salmonella* Détection

Incubation 24 heures à 41,5°C (point d'inoculation au centre de la gélose) Aspect caractéristique formant un halo opaque centré sur le point d'inoculation (Capacité à réaliser une migration)