



**LE RÉSEAU DE CRÉATION  
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Bordeaux  
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

# CORRIGE

**Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.**

**ÉPREUVE E5. UNITÉ U52**  
**Techniques de microbiologie**  
**Matière d'œuvre**  
**1<sup>er</sup> jour**

**DÉTECTION DES SALMONELLES RÉSISTANTES AUX**  
**ANTIBIOTIQUES.**

**1 - Contrôle de l'identité de la souche test de salmonelle.**

- Gélose nutritive inclinée de 24 H de *Salmonella* (sérotypes au choix des centres) - Sujet testé avec S. Infantis et S. Agona.
- Colorants et réactifs usuels d'identification (colorants de GRAM, Peroxyde d'Hydrogène, Réactif oxydase, pipette Pasteur).

**Milieu à donner après environ 2 heures d'épreuve.**

- Une Galerie API 20 E avec la fiche technique.
- Une GN pour contrôle de pureté et sérotypage.
- Une gélose VF régénérée en surfusion à 55°C.
- 1 pipette pasteur longue.
- Un tube d'eau physiologique (5 mL) pour faire la suspension bactérienne.

**Remarque :**

conserver pour le **Jour 2** les GNI distribuées en **Jour 1** (tubes notés « S n° poste ») : tubes secours pour le sérotypage en cas de contamination de l'isolement.

**2 - Validation de l'étape d'enrichissement sélectif.**

- 4 tubes à hémolyse pour chaque temps (notés RV T<sub>0</sub> : 4 mL - notés RV T<sub>6</sub>, RV T<sub>12</sub>, RV T<sub>18</sub> : 2 mL). Cf annexe « indications de préparation » pour la contamination.
- Milieu Mac-Conkey en boîte de Pétri (8 boîtes).
- Milieu VRBL (gélose au cristal violet, au rouge neutre, à la bile et au lactose en surfusion à 55 °C (un flacon de 100 mL et un flacon de 50 mL pour la double couche).
- Pipettes graduées stériles de 1 mL.
- Boîtes de Pétri vides (6 boîtes).
- Eau physiologique stérile en tube de 9 mL (2 tubes).
- Billes stériles dans un tube.
- Pot de Javel pour les billes contaminées.
- Boîte de Pétri avec milieu chromogène SMID<sub>2</sub> ainsi que la fiche technique de BioMérieux.
- Pipette automatique P<sub>200</sub> avec cônes stériles.
- Vortex (si possible) pour les candidats.

**3 - Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une β-lactamine vis-à-vis d'une souche *Salmonella*.**

- Culture pure de 18 H sur GN en boîte de pétri de *Salmonella* Newport notée "S. Newport".
- Tube de 3 mL d'une solution de Chloramphénicol à 500 mg.L<sup>-1</sup> (S<sub>1</sub>) : **Noté « β-lac »**
- Bouillon Mueller Hinton de 10 mL.
- Etalon Mac Farland de densité à 0,5.
- Microplaque stérile à fond conique + autocollant ou parafilm.
- Tube d'eau distillée stérile 10 mL.
- Pipette automatique (P<sub>100</sub>) et cônes (jaunes).
- Tubes à hémolyse stérile.
- Bacs de javel pour la décontamination.
- Ordinateur + logiciel adapté.

**ÉPREUVE E5. UNITÉ U52**  
**Techniques de microbiologie**  
**Matière d'œuvre**  
**2<sup>ème</sup> jour**

- Plaque de verre.
- Sérums mélanges ou monovalents pour le sérotypage.  
Eau physiologique pour vérifier la non l'autoagglutination.  
Eau physiologique en remplacement de l'anti Vi.
- Fond noir pour la lecture.
- Réactifs pour la galerie API 20 E.
- Fiche technique de la galerie API 20 E + grille de résultat + logiciel adapté pour l'identification.
- Fiche technique de la gélose SMID<sub>2</sub>.
- Poste informatique avec tableur.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel  
Réseau Canopé

**ÉPREUVE E5. UNITÉ U52**  
**Techniques de microbiologie**  
**Matière d'œuvre**

**INDICATIONS DE PRÉPARATION POUR LA MICROBIOLOGIE**  
**ET RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX**

**Préparation des bouillons RV après 0 H, 6 H, 12 H et 18 H d'incubation à 37°C.**

A partir d'un BN de 24 Heures d'*E.coli* ( $5 \cdot 10^8$  Bactéries / mL) réaliser une série de dilution au 1/10 jusqu'à  $10^{-5}$  en eau physiologique.

A partir d'un BN de 24 Heures de *Salmonella* ( $5 \cdot 10^8$  Bactéries / mL) réaliser une série de dilution au 1/10 jusqu'à  $10^{-5}$  en eau physiologique.

Contaminer 4 eaux physiologiques de 10 mL colorés par 1 goutte d'encre verte suivant le tableau ci-dessous :

	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>
RV noté T <sub>0</sub>	0.4 mL de la dilution $10^{-4}$	0 mL
RV noté T <sub>6</sub>	0.4 mL de la dilution $10^{-4}$	0.1 mL de la dilution $10^{-5}$
RV noté T <sub>12</sub>	0.4 mL de la dilution $10^{-5}$	0.2 mL de la dilution $10^{-5}$
RV noté T <sub>18</sub> Ce milieu devrait être trouble : on peut rajouter 1 mL de lait stérile à 9 mL de RV stérile	0.4 mL de la dilution $10^{-5}$	0.6 mL de la dilution $10^{-5}$

**Résultats expérimentaux : Revivification des *Salmonella* : Dénombrement des 2 populations de microorganismes**

- Dénombrement des **Lactose + (Coliformes totaux)** et des **Lactose - (*Salmonella*)** en surface, milieu Mac Conkey à partir des Bouillons RV à T<sub>0</sub>, T<sub>6</sub>, T<sub>12</sub>, T<sub>18</sub> H d'incubation.

Les résultats sont en UFC de coliformes totaux ou *Salmonella* par mL de bouillon RV.

		T0	UFC.mL <sup>-1</sup> d	T6	UFC.mL <sup>-1</sup>	T12	UFC.mL <sup>-1</sup>	T18	UFC.mL <sup>-1</sup>
Résultats expérimentaux	Lactose +	76-76 106-95	$8.8 \cdot 10^2$	90-95 78-104	$9.2 \cdot 10^2$	14-12 20-6	$1.3 \cdot 10^2$	15-11 9-9	$1.1 \cdot 10^2$
	Lactose -	0	0	6-8 7-10	$7.6 \cdot 10^1$	20-32 5-12	$1.7 \cdot 10^2$	63-48 34-37	$4.6 \cdot 10^2$
Résultats attendus	Lactose +		$10^3$		$10^3$		$10^2$		$10^2$
	Lactose -		0		$5.0 \cdot 10^1$		$10^2$		$5.0 \cdot 10^2$

Remarque : pour de bons étalements, nous avons remarqué qu'il faut "vortexer" les échantillons très longtemps sinon nous obtenons une culture en nappe pour les *Salmonella*

**Résultats expérimentaux : Détermination d'une CMI.**

Souche *Salmonella* Newport de 24 H en GNI => réalisation d'une suspension à 0.5 McFarland en bouillon Mueller Hinton (10 mL)

ATB : chloramphénicol en solution à 500 mg.L<sup>-1</sup>

Rangées A, B, C, et D	2	2'	3	3'	4	4'	5	5'	6	6'	7	7'	8	8'	9	9'	10	10'	11	11'
Dilution S <sub>1</sub>	1	1	1/2	1/3	1/4	1/6	1/8	1/12	1/16	1/24	1/32	1/48	1/64	1/96	1/128	1/192	1/256	1/384	1/512	1/772
[ATB] mg.L <sup>-1</sup>	125	83,2	62,5	41,6	31,1	20,8	15,6	10,4	7,8	5,2	3,9	2,6	1,9	1,3	0,97	0,65	0,49	0,32	0,25	0,16
résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

CMI déterminée : essais 1 et 2 : cupule 6' soit 5,2 mg/L et essai 3 : cupule 7 soit 3,5 mg/L

- absence de croissance
- + croissance

cupule 1 : témoin de croissance (+) : (dépôt blanc de grand diamètre au fond de la cupule et surnageant opaque)

cupule 12 : témoin d'absence de contamination (pas de dépôt blanc au fond de la cupule et surnageant translucide)

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel  
Réseau Canopé

## DÉMARCHE SÉCURITAIRE

(document à remettre à chaque candidat)

Chaque centre d'examen distribuera à chaque candidat un document photocopié portant les numéros et phrases correspondantes « R » et « S ».

Ce document sera récupéré en fin de séance (il appartient au centre d'examen).

Chaque centre d'examen élaborera pour chaque sujet :

- Techniques de microbiologie,
- Techniques de biologie cellulaire et moléculaire,

un document listant les produits chimiques utilisés pour les manipulations mises en œuvre et présentant un risque.

À chaque produit seront associés son type de dangerosité ainsi que les numéros des phrases « R » et « S ».

Il est attendu que les candidats aient la démarche de confronter les numéros « R » et « S » aux phrases correspondantes et adaptent leur comportement sécuritaire en conséquence.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel  
Réseau Canope