
BOUILLON RAPPAPORT-VASSILIADIS SOJA (RVS)

ENRICHISSEMENT SELECTIF DES *SALMONELLA*

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon Rappaport-Vassiliadis Soja (RVS) est utilisé pour l'enrichissement sélectif de *Salmonella* dans le lait, les produits laitiers, les autres produits de la chaîne alimentaire, l'eau et les échantillons d'environnement.

La formule-type du bouillon répond à la composition définie dans les normes NF EN ISO 19250, NF EN ISO 6579-1, NF U47-102 et dans la Pharmacopée européenne.

2 HISTORIQUE

La composition du milieu a été développée par Rappaport suite à l'observation faite de la plus grande résistance des *Salmonella* aux milieux hypertoniques que la plupart des autres entérobactéries. Dans ses expérimentations, Rappaport démontra que le chlorure de magnésium s'avérait être le plus efficace de tous les sels testés. Par addition de vert malachite, il augmenta la sélectivité du milieu. Vassiliadis a par ailleurs montré que pour récupérer un grand nombre de *Salmonella*, il fallait réduire la teneur en vert malachite et porter l'incubation de 37 °C à 43 °C.

Par la suite, Peterz *et al.* ont déterminé les incidences de la température d'incubation et de la teneur en chlorure de magnésium sur le pouvoir récupérateur du milieu.

Van Schothorst et Renaud ont modifié le bouillon de Rappaport-Vassiliadis en remplaçant la peptone de caséine par la peptone de soja et en incorporant au milieu de l'hydrogénophosphate de potassium pour le tamponner, afin de lui conférer une plus grande stabilité dans le temps.

3 PRINCIPES

La forte concentration en chlorure de magnésium ainsi que la présence de vert malachite ralentissent la croissance des germes autres que les salmonelles.

Les cultures de *Salmonella* Typhi et Paratyphi peuvent être ralenties par le vert malachite, qui est aussi inhibiteur pour *Shigella*.

4 FORMULE-TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone papaïnique de soja	4,50 g
- Chlorure de sodium	7,20 g
- Phosphate monopotassique.....	1,26 g
- Phosphate dipotassique.....	0,18 g
- Chlorure de magnésium anhydre (*).....	13,40 g
- Vert malachite (oxalate)	36,0 mg

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

(*) : 13,40 g/L de Chlorure de magnésium anhydre (Masse molaire 95,21) correspondent à 28,6 g/L de chlorure de magnésium hexahydraté (Masse molaire 203,3).

5 PREPARATION

- Mettre en solution 26,6 g de milieu déshydraté (BK148) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 115 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir le milieu à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**
26,6 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 115 °C

6 MODE D'EMPLOI

- Transférer 0,1 mL du bouillon de pré-enrichissement obtenu (eau peptonée tamponnée) dans les tubes ainsi préparés ou prêts-à-l'emploi (BM074).
- Incuber à 41,5 ± 1 °C pendant 24 ± 3 heures.

✓ **Ensemencement :**
0,1 mL / tube

✓ **Incubation :**
24 h à 41.5 °C

NOTES :

- Dans les produits laitiers secs et le fromage, les *Salmonella* peuvent être stressées avec des dommages sublétaux. Incuber les milieux d'enrichissement sélectifs de ces produits pendant 24 h ± 3 h supplémentaires.
- Un second bouillon d'enrichissement sélectif est ensemencé en parallèle dans les méthodes normalisées.

7 LECTURE

Repiquer chaque tube sur une gélose XLD et un second milieu sélectif au choix pour salmonelles, au moyen d'une anse bouclée.
Confirmer les colonies caractéristiques.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre bleuâtre, fluide et homogène.

Milieu préparé : solution bleue, limpide.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 41,5 °C puis subcultures sur gélose XLD ou Tryto-caséine-soja (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance
<i>Salmonella</i> Enteritidis + <i>Escherichia coli</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00030 WDCM 00013 WDCM 00025	> 10 colonies caractéristiques sur gélose XLD
<i>Salmonella</i> Typhimurium + <i>Escherichia coli</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00031 WDCM 00012 WDCM 00025	> 10 colonies caractéristiques sur gélose XLD
<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00012 WDCM 00087	≤ 100 colonies sur gélose TSA < 10 colonies sur gélose TSA

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-l'emploi en tubes : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en tubes (*): 180 jours à 2-8 °C.

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

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK148HA

Milieu prêt-à-l'emploi :

Coffret de 50 tubes de 10 mL BM07408

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rappaport, F., Konforti, N., and Navon, B.. 1956. A new enrichment medium for certain salmonellae. Journal of Clinical Pathology, **9** : 261-266.

Vassiliadis, P., Kalapothaki, V., Trichopoulos, D., Papadakis, J.A., and Serie, C.H.. 1979. Recent experience on the use of modified Rappaport's medium (R 10/43°C) for the isolation of *Salmonella*. Quality assurance and quality control of microbiological culture media. Dr Janet E.L. Corry. London, 141-145.

van Schothorst, M., and Renand, A.M.. 1983. Dynamics of *Salmonella* isolation with modified Rappaport medium (R 10). Journal of Applied Bacteriology, **54** , 209-215.

van Schothorst, M., Renaud, A., and van Beek, C.. 1987. Salmonella isolation using RVS broth and MLCB agar. Food Microbiology, **4** , 11-18.

Peterz, M., Wiberg, C., and Norberg, P. 1989. The effect of incubation temperature and magnesium chloride concentration on growth of salmonella in home-made and in commercially available dehydrated Rappaport-Vassiliadis broths. Journal of Applied Bacteriology, **66** : 523-528.

NF U 47-102. Janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécié(s) de salmonelles chez les mammifères.

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

Pharmacopée européenne. Chapitre 2.6.13. Recherche de microorganismes spéciés.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture (Tirage 2 (2016-01-01)).

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..

12 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 RVS_FR_V10

Date création : 04-2003

Date de révision : 02-2018

Motif de révision : Références bibliographiques