

MSRV / Gélose

(Milieu semi-solide de Rappaport Vassiliadis)

355-6139
356-4325
356-4610

DOMAINE D'APPLICATION

Le MSRV est un milieu semi solide utilisé pour l'isolation des *Salmonella*.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

- **NF ISO 6579/A1 (Février 2006)** – Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. Recherche de *Salmonella* spp. dans les matières fécales des animaux et dans des échantillons au stade de la production primaire.

- **NF U 47-101 (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

PRINCIPE

Le milieu semi solide donne de meilleurs résultats que les méthodes traditionnelles car il permet la migration de salmonella pour former de halos opaques.

Les autres micro-organismes sont inhibés par le chlorure de magnésium, le vert malachite la novobiocine qui sont des agents sélectifs et par la température d'incubation à 42 °C.

PRESENTATION

Déshydraté

500 g

code 356-4325

Supplément Novobiocine

1g (1 flacon qsp 100 l de base)

code 356 4610

Prêt à l'emploi

200 ml x 6

code 355-6139

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi et supplément : + 2 - 8°C.
- Déshydraté : +15 - 25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Diluant(s)
- Eau distillée

FORMULE THEORIQUE

Tryptone	4,6 g
Hydrolysate acide de caséine	4,6 g
Chlorure de sodium	7,3 g
Dihydrogenophosphate de potassium	1,5 g
Chlorure de magnésium anhydre	10,9 g
Oxalate de vert malachite	0,037 g
Novobiocine	0,010 g
Agar	2,7 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 5.2 ± 0,2	

MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI)

(liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (**code 355-0751**) ou öse bouclée
- Bain-marie avec une précision de ± 1°C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Tout matériel courant d'un laboratoire.

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

• Base déshydraté

Dissoudre 31,5 grammes de poudre dans 1 l d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Attendre 10 minutes. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Ramener à 47 °C.

• Supplément lyophilisé

Reconstituer aseptiquement le supplément sélectif novobiocine en ajoutant 0,01 g de novobiocine à 5 ml d'eau distillée.

• Milieu complet

Ajouter 5 ml du supplément novobiocine reconstitué au litre de milieu de base. Bien mélanger avant de répartir.

Taux de reconstitution : 31,5 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 15,9 litres de milieu MSRV.

MSRV

(Milieu semi-solide de Rappaport Vassiliadis)

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Enrichissement

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

Couler rapidement une quantité d'environ 18 ml du milieu. Transférer trois gouttes (soit au total environ 0,15 ml) de la culture obtenue après enrichissement, sur une boîte de MSR, éventuellement réparties en trois points de la surface du milieu.

Incuber à $42 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 20h à 24 h (ou éventuellement 48 h).

NE JAMAIS DEPASSER 43 °C.

LECTURE ET INTERPRETATION

Après la période d'incubation, les micro-organismes mobiles développent un halo de croissance blanc opaque depuis le point d'inoculation.

Procéder systématiquement à l'isolement d'une ose de culture sur des milieux appropriés, à partir de la périphérie de la zone de migration. Les milieux d'isolement sont le milieu XLT4 (code 356-3654) et/ou le milieu Hektoen (codes 356-4284, 355-4386 et 356-3894).

Pour la confirmation et l'identification, il faut prélever deux colonies isolées caractéristiques par des tests biochimiques et sérologiques (Cf. fiches techniques additifs).

PRECAUTION D'EMPLOI

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire
- Pour les milieux prêts à l'emploi, il faut éviter toute surchauffe prolongée pendant leur fusion (en général, 20 minutes suffisent pour obtenir une gélose liquide homogène).
- Conserver les boîtes gélose vers le haut pendant une période de 2 semaines maximum à une température de $5 \pm 3^\circ\text{C}$ et à l'obscurité.
- Ne pas utiliser les boîtes présentant une gélose liquéfiée ou morcelée

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Enrichissement après 24h d'incubation à 41,5°C
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	+
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<10 colonies
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853b	+

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

MSRV / *Salmonella* / Produits alimentaires / Enrichissement / Recherche / Novobiocin / Milieu.

BIBLIOGRAPHIE

• DE SMEDT ET AL. (1986) : Rapid' *Salmonella* Detection in Foods by Motility Enrichment on a Modified Semi-solid Rappaport Vassiliadis Medium. - J. Food Protect. Vol 49, 7; 510-514