

## RAPID' *Salmonella* Gélose

356-3961  
356-3963  
356-4705

### DOMAINE D'APPLICATION

La gélose RAPID' *Salmonella* est un milieu chromogénique utilisé pour la recherche des *Salmonella* spp. lors de l'analyse des produits d'alimentation humaine et animale, et les échantillons d'environnement.

### NF VALIDATION par AFNOR CERTIFICATION selon le protocole EN ISO 16140

La méthode RAPID' *Salmonella* est certifiée NF VALIDATION comme méthode alternative à la norme de référence NF EN ISO 6579, selon le protocole ISO 16140, pour la recherche des *Salmonella* spp. pour tous produits d'alimentation humaine et animale (protocole court et protocole double enrichissement) et pour les échantillons d'environnement (Protocole court uniquement et hors échantillons de production primaire).



BRD 07/11-12/05  
METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSES POUR  
L'AGROALIMENTAIRE  
Certifié par AFNOR Certification  
[www.afnor-validation.org](http://www.afnor-validation.org)

### VALIDATION AOAC-RI

La méthode RAPID' *Salmonella* est validée AOAC Research Institute selon le protocole « Performance Tested Methods », sous le n° d'attestation : 050701.

### VALIDATION NORDVAL

La méthode RAPID' *Salmonella* (protocole court et protocole double enrichissement mais seulement 24h±2 d'incubation pour le RVS) est validée NordVal comme méthode alternative à la norme de référence EN ISO 6579, pour la recherche des *Salmonella* spp. pour tous produits d'alimentation humaine et animale, et les échantillons d'environnement (Protocole court uniquement et hors échantillons de production primaire).

### REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

#### MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **ISO 6579 (Juillet 2002)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

### PRINCIPE

La gélose RAPID' *Salmonella* permet la détection de *Salmonella* spp. par la mise en évidence de l'activité C8-estérase. La recherche simultanée de l'activité β-glucosidase permet de différencier les colonies de salmonelles de celles des autres entérobactéries.

Après incubation, les salmonelles forment des colonies magenta facilement identifiables tandis que les non-salmonelles produisent des colonies bleues ou non colorées.

La gélose RAPID' *Salmonella* permet la détection des salmonelles mobiles et immobiles, ainsi que des *Salmonella* lactose positives, incluant les sérotypes Typhi et Paratyphi.

### PRESENTATION

- **Précoulé**  
90 mm x 20 boîtes code 356-3961  
90 mm x 120 boîtes code 356-3963
- **Déshydraté**  
500 g code 356-4705

### CONSERVATION / VALIDITE / LOT

- Précoulé : à + 2 - 8°C à l'abri de la lumière.
- Déshydraté : à + 2 - 8°C, flacon soigneusement fermé et sec.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

### FORMULE TYPE

Mélange nutritif	14,5 g
Agents sélectifs	14 g
Mélange chromogénique	2,3 g
Agar	12,7 g
Eau distillée qsp	1000 mL
pH final = 7.2 ± 0.2	

# RAPID' *Salmonella*/Gélose

## PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) NON FOURNI(S)

- Eau peptonée tamponnée :
  - 6 flacons de 225 ml (ex. code **355-4179**)
  - 500 g (ex. code **356-4684**)
  - 5 poches de 2,3 L (ex. code **355-5789**)
  - 2 poches de 5 l (ex. code **355-5790**)
- Supplément sélectif :
  - 100 capsules RAPID' *Salmonella*, 100 x QSP 250 ml (code **356-4710**)
  - 100 capsules RAPID' *Salmonella* 10 fois concentrées, 100 x QSP 2,5 Litres (code **356-4709**)
  - RAPID' *Salmonella* supplément, 1 x QSP 100 analyses (code **356-4712**)

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

- Diluant(s)
- Eau distillée

## MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (Liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur magnétique
- Boîtes de Pétri stériles ( $\varnothing = 90$  mm)
- Ûse bouclée
- Bain-d'eau
- Etuve ou enceinte thermostatée (Erreur maximale tolérée  $\pm 1^\circ\text{C}$ )
- Tout matériel courant d'un laboratoire

## PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

« **Toujours agiter avant chaque utilisation** »

Dissoudre 43,5 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition pendant moins d'une minute.

**NE PAS PROLONGER LE CHAUFFAGE. NE PAS AUTOCLAVER.**

Refroidir le milieu à  $50^\circ\text{C}$ . Répartir en boîtes de Pétri et laisser sécher.

**Taux de reconstitution : 43,5 g / litre**  
**500 grammes de poudre permettent de réaliser 11,5 litres de milieu.**

## PROTOCOLES

### Méthode normalisée NF EN ISO 6579

#### 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

Prélever 10  $\mu\text{L}$  et ensemercer, selon les techniques traditionnelles d'isolement, une gélose RAPID' *Salmonella* en parallèle d'une gélose X.L.D. (codes **354-1751** et **356-9124**). Incuber à  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  pendant  $24 \pm 3$  heures pour la gélose X.L.D. et  $24 \pm 2$  heures pour la gélose RAPID' *Salmonella*.

#### Lecture

Les salmonelles forment des colonies de couleur magenta sur la gélose RAPID' *Salmonella*.

### Methodes alternatives RAPID' *Salmonella* certifiées NF VALIDATION

#### • Méthode RAPID' *Salmonella* - Protocole court

#### Préparation des échantillons avec ajout direct du supplément capsule dans le bouillon d'enrichissement

Diluer  $\eta$  g ou  $\eta$  mL de l'échantillon dans  $9 \times \eta$  mL d'Eau Peptonée Tamponnée (ex. codes **355-4179**, **355-5789**, **356-4684** et **355-5790**).

Exemple : diluer 25 g ou 25 mL d'échantillon dans 225 mL d'Eau Peptonée Tamponnée pour effectuer une dilution au  $1/10^{\text{ème}}$ .

Les préparations spécifiques de la suspension mère (cacao, aliments acides,...) sont décrites la norme ISO 6579.

Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type Stomacher.

Ouvrir une capsule RAPID' *Salmonella*, QSP 250 ml (code **356-4710**) et déverser son contenu directement dans le bouillon.

Homogénéiser en agitant vigoureusement.

Note : La capsule entière ou son contenu peuvent être ajoutés avant l'étape stomacher. Nous recommandons d'ouvrir la capsule et de déverser son contenu, afin de faciliter les manipulations (cf PRECAUTIONS D'EMPLOI).

## RAPID' *Salmonella*/Gélose

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

### Préparation des échantillons avec ajout du supplément sélectif sous format solution concentrée, dans le bouillon d'enrichissement

Le contenu des capsules et du pot RAPID' *Salmonella* supplément QSP 100 analyses (code **356-4712**) peut être dilué au préalable, pour une incorporation sous format liquide.

- Diluer  $\eta$  g ou  $\eta$  mL de l'échantillon dans 9 x  $\eta$  ml d'Eau Peptonée Tamponnée. (ex. codes **355-4179, 355-5789, 356-4684 et 355-5790**).  
- Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type Stomacher.

- En cas d'utilisation des capsules RAPID' *Salmonella* QSP 250 ml (code **356-4710**) : Ouvrir n capsules et déverser leur contenu directement dans n x 10 ml d'Eau Peptonée Tamponnée pour obtenir une solution concentrée de supplément.  
Ajouter  $\eta$  x 0,4ml de cette solution concentrée de supplément à l'échantillon à analyser.  
Homogénéiser en agitant vigoureusement.

- En cas d'utilisation des capsules RAPID' *Salmonella* QSP 2,5 Litres (code **356-4709**) : Ouvrir n capsules et déverser leur contenu dans un récipient vide. Recouvrir avec n x 10 ml d'Eau Peptonée Tamponnée ou n x 10 ml d'eau distillée stérile.  
Homogénéiser en agitant vigoureusement pour obtenir une solution concentrée colorée rouge.  
Ajouter  $\eta$  x 0,04ml de cette solution concentrée de supplément à l'échantillon dilué dans l'Eau Peptonée Tamponnée.  
Homogénéiser en agitant vigoureusement.

- En cas d'utilisation du pot RAPID' *Salmonella* supplément QSP 100 analyses (code **356-4712**) : Ouvrir le pot et ajouter directement 100 ml d'Eau Peptonée Tamponnée ou 100 ml d'eau distillée stérile.  
Homogénéiser en agitant vigoureusement pour obtenir une solution concentrée colorée rouge.  
Ajouter  $\eta$  x 0,04ml de cette solution concentrée de supplément à l'échantillon dilué dans l'Eau Peptonée Tamponnée.  
Homogénéiser en agitant vigoureusement.

Exemple pour un échantillon de 10g :

- Diluer son échantillon de 10 g dans 90 ml d'Eau Peptonée Tamponnée.
- Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type Stomacher.
- Diluer 1 capsule RAPID' *Salmonella* QSP 250 ml (code 356-4710) dans 10 ml d'Eau Peptonée Tamponnée pour avoir une solution concentrée de supplément
- Ajouter 4 ml de solution concentrée de supplément dans les 90 ml de diluât Eau Peptonée Tamponnée + échantillon afin de retrouver le bon rapport de dilution de la capsule.

Note : La solution concentrée une fois reconstituée dans l'Eau Peptonée Tamponnée ou dans l'eau distillée stérile peut être conservée 1 semaine à 2-8°C ou à température ambiante.

### Enrichissement

Incuber à 41,5°C  $\pm$  1°C pendant 18  $\pm$  2 heures.

Note : Après cette étape, il est possible de conserver le bouillon d'enrichissement pendant 72 heures à 2-8°C avant l'ensemencement des boîtes.

### Ensemencement et incubation

Prélever 10  $\mu$ L du bouillon d'enrichissement en fin d'incubation à l'ose stérile et ensemercer une gélose RAPID' *Salmonella* selon les techniques traditionnelles d'isolement en stries.

Incuber à 37°C  $\pm$  1°C pendant 24  $\pm$  2 heures.

### Lecture

Les salmonelles forment des colonies de couleur magenta sur la gélose RAPID' *Salmonella*.

### - Méthode RAPID' *Salmonella* - Protocole double enrichissement

#### Préparation des échantillons

Diluer  $\eta$  g ou  $\eta$  mL de l'échantillon dans 9 x  $\eta$  mL d'Eau Peptonée Tamponnée (ex. codes **355-4179, 355-5789, 356-4684 et 355-5790**).

Exemple : diluer 25 g ou 25 mL d'échantillon dans 225 mL d'Eau Peptonée Tamponnée pour effectuer une dilution au 1/10<sup>ème</sup>.

Les préparations spécifiques de la suspension mère (cacao, aliments acides,...) sont décrites la norme ISO 6579.

Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type Stomacher.

## RAPID' *Salmonella*/Gélose

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

### Enrichissement

Incuber à 37°C ± 1°C pendant 18 ± 2 heures.

Transférer 0,5 mL de la culture issue de l'enrichissement non sélectif dans un tube de 10 mL de bouillon RVS (ex. codes **356-4324** et **355-5773**) préchauffé à la température d'incubation.

Incuber à 41,5°C ± 1°C pendant 6 à 26 heures. Dans le cadre de la méthode certifiée NF VALIDATION, l'enrichissement en bouillon RVS se fait :

- pendant 6 à 26 heures pour les produits de la mer, végétaux, produits laitiers et ovoproduits.
- pendant 24 ± 2 heures pour les produits carnés et produits d'alimentation animale.

### Ensemencement et incubation

Prélever 10 µL du bouillon d'enrichissement sélectif en fin d'incubation à l'ose stérile et ensemercer une gélose RAPID' *Salmonella* selon les techniques traditionnelles d'isolement en stries.

Incuber à 37°C ± 1°C pendant 24 ± 2 heures.

### Lecture

Les salmonelles forment des colonies de couleur magenta sur la gélose RAPID' *Salmonella*.

### CONFIRMATION DES RESULTATS POSITIFS

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

- Par l'utilisation des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification).
- Par l'utilisation de sondes nucléiques tel que prévu dans la norme EN ISO 7218 à partir des colonies isolées (avec ou sans l'étape de purification), comme par exemple la PCR iQ-Check™ *Salmonella* (code **357-8123**).
- Après évaluation de l'activité oxydase (test oxydase, code **355-3834**), effectuer un test antisérum omnivalent Omni-O (A60) (code **356-0781**) à partir d'une à trois colonies suspectes isolées. Si la réaction est positive au test Omni-O, effectuer un test biochimique ONPG (code **355-3822**).

Les salmonelles sont négatives au test oxydase, positives au test Omni-O (A60) et négatives au test ONPG, à l'exception des salmonelles lactose positif qui sont ONPG+.

- Par l'utilisation d'un test d'agglutination Latex :

SALMONELLA LATEX (code **355-6710**) sur des colonies isolées. Les salmonelles des groupes B à E et G sont positives au test latex.

Salmonella Confirm Latex (code **355-6711**) ou le test oxoid *Salmonella* Latex test sur des colonies isolées.

- Par l'utilisation de toute autre méthode certifiée NF VALIDATION, de principe différent du RAPID' *Salmonella*. 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 le manipulateur repartira pour la confirmation doivent être communes aux deux méthodes.

*Note : En cas de résultats discordants (positif présomptif par la méthode RAPID' *Salmonella*, négatif par la méthode de confirmation, et en particulier pour les tests latex), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu. "*

### LIMITES D'UTILISATION

- Le test de confirmation ONPG exclut la confirmation des *Salmonella* lactose positif.
- Bien que les sérovars de *Salmonella* les plus prévalents soient confirmés par le test *Salmonella* Confirm Latex (code **355-6711**), il est à noter que lors de l'extension NF VALIDATION de la méthode RAPID' *Salmonella*, le test *Salmonella* Confirm n'a pas permis la détection de 41 sérovars sur 150 testés.
- Certaines souches de *Salmonella* (dont certaines appartenant au sérovar Dublin, ainsi qu'à l'espèce *S. bongori*) peuvent présenter une pigmentation magenta plus faible du fait de leur faible activité estérasiq.

### PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire (ex. EN ISO 7218).
- Si la capsule entière est ajoutée à l'Eau Peptonée Tamponnée, il est nécessaire d'utiliser une pince stérile lors de l'addition de la capsule entière dans le sac. De plus, il est recommandé de bien vérifier que la capsule s'est bien ouverte pendant l'étape de stomachage.
- Le contenant de la capsule, s'il est manipulé avec les doigts, ne peut être ajouté dans le

## RAPID' *Salmonella*/Gélose

bouillon d'enrichissement à cause des risques de contamination.

-Les capsules RAPID' *Salmonella*, ainsi que le RAPID' *Salmonella* supplément, contiennent des agents sélectifs et un excipient. Les agents sélectifs se dissolvent très bien mais l'excipient reste en suspension et crée un dépôt une fois le contenu de la capsule dilué dans une faible quantité d'Eau Peptonée Tamponnée ou d'eau distillée stérile.

Il est donc nécessaire de bien agiter avant chaque utilisation de la solution concentrée.

-Pour toute information concernant la fin de validité de la certification NF VALIDATION, consulter les attestations BRD 07/11-12/05 disponibles auprès de votre représentant Bio-Rad ou d'AFNOR Certification.

### REMARQUES

Comme pour tout milieu chromogénique, il est très important de réaliser un isolement en stries de manière à obtenir des colonies bien isolées.

### CONTROLE QUALITE

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.

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24 heures à 37°C
<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	Colonies magenta
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	Colonies magenta
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition totale ou partielle Colonies non colorées
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibition totale

### MOTS CLES

RAPID' *Salmonella* / *Salmonella* / Food products / Detection / Chromogenic / Medium.

### BIBLIOGRAPHIE

• **PERRY J.D., FORD M., TAYLOR J., JONES A.L., FREEMAN R., GOULD F.K.** 1999: ABC medium, a new chromogenic agar for selective isolation of *Salmonella* spp. J Clin Microbiol, 37 (3): 766-8.

• **COOKE V.M., MILES R.J., RICHARDSON**

**A.C.** 1999: A novel chromogenic agar medium for detection of *Salmonellae*, Appl. Environ Microbiol. 65 (2): 807-12.

• **MANAFI M., KNEIFEL W., BASCOMB S.** 1991: Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiol. Rev. 55 (3), 335-48.