

# BOUILLON MÜLLER-KAUFFMANN

## ENRICHISSEMENT SELECTIF DES SALMONELLES

### 1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon au tétrathionate de Müller et Kauffmann est un des plus anciens milieux traditionnellement utilisés pour l'enrichissement sélectif des salmonelles.

### 2 HISTORIQUE

Le milieu a été décrit par Müller en 1923, afin de pouvoir favoriser l'inhibition des coliformes, tout en permettant le développement des bacilles typhiques et paratyphiques. Kauffmann, en modifiant la formule, a obtenu un plus grand nombre de résultats positifs avec cette méthode d'enrichissement préalable qu'avec la méthode directe d'isolement sur des milieux sélectifs coulés en boîtes.

### 3 PRINCIPES

La bile de bœuf et le vert brillant inhibent principalement le développement des microorganismes à Gram-positif.

La production extemporanée de tétrathionate, résultant de l'action de la solution iodo-iodurée sur le thiosulfate de sodium, provoque l'inhibition des coliformes et de la plupart des bactéries intestinales.

Il est possible de supprimer le développement des *Proteus* en rajoutant 40 mg de novobiocine par litre de milieu.

Le carbonate de calcium neutralise l'acide sulfurique qui est produit lorsque le tétrathionate est réduit. L'effet résultant est de favoriser le maintien du pH.

### 4 FORMULE-TYPE

Cette formule-type peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1040 mL de milieu

- Tryptone .....	8,45 g
- Extrait de viande .....	4,23 g
- Bile de bœuf bactériologique .....	4,75 g
- Chlorure de sodium .....	2,54 g
- Carbonate de calcium .....	38,04 g
- Thiosulfate de sodium anhydre .....	30,27 g
- Iode .....	4 g
- Iodure de potassium.....	5 g
- Vert brillant .....	9,50 mg
- Novobiocine (si nécessaire) .....	40,0 mg

#### Pour un flacon de supplément BS033

- Novobiocine ..... 10 mg

#### Pour un flacon de supplément BS056

- Novobiocine ..... 40 mg

**Iode, iodure de potassium :  
Non fournis**

#### Pour 88,3 g de base déshydratée BK135

- Tryptone .....	8,45 g
- Extrait de viande .....	4,23 g
- Bile de bœuf bactériologique .....	4,75 g
- Chlorure de sodium.....	2,54 g
- Carbonate de calcium .....	38,04 g
- Thiosulfate de sodium anhydre.....	30,27 g
- Vert brillant.....	9,50 mg

## 5 PREPARATION

- Mettre en suspension 88,3 g de milieu déshydraté (BK135) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante.
- Maintenir l'ébullition pendant 2 minutes.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir le milieu à température ambiante.
  
- Dissoudre 4 g d'iode dans 20 mL d'une solution contenant 5 g d'iodure de potassium dans une fiole stérile.
- Ajouter la solution iodo-iodurée au milieu.
  
- Ajouter éventuellement 40 mg/litre de base d'une solution de supplément Novobiocine stérile (BS033 ou BS056)  
Reconstituer le supplément Novobiocine 10 mg (BS033) avec 5 mL d'eau stérile ou le supplément Novobiocine 40 mg (BS056) avec 20 mL d'eau stérile.  
Agiter ou vortexer de façon à assurer une dissolution complète, tout en évitant la formation de mousse.
  
- Bien homogénéiser l'ensemble.
- Répartir stérilement à raison de 100 mL par flacon.

✓ **Reconstitution :**  
88,3 g/L

✓ **Stérilisation :**  
Ne pas autoclaver

✓ **Ajout base :**  
20 mL/L iodo-iodure

✓ **Ajout facultatif :**  
40 mg/L Novobiocine

## 6 MODE D'EMPLOI

- Transférer 10 mL du bouillon de pré-enrichissement (Eau peptonée tamponnée ou bouillon nutritif lactosé) dans 100 mL de bouillon ainsi préparé.
- Incuber pendant  $48 \pm 4$  heures à  $43 \pm 1$  °C.

✓ **Ensemencement :**  
10 mL d'inoculum

✓ **Incubation :**  
 $48 \pm 4$  h à  $43 \pm 1$  °C

## 7 LECTURE

Effectuer un isolement sur plusieurs milieux sélectifs spécifiques pour la détection de *Salmonella* (Gélose XLD, COMPASS Salmonella Agar...), au moyen d'une anse bouclée. En présence de colonies caractéristiques, procéder aux confirmations nécessaires.

## 8 CONTROLE QUALITE

**Milieu de base déshydraté :** poudre blanchâtre, fluide et homogène.

**Suppléments Novobiocine :** lyophilisat blanc, donnant après reconstitution une solution incolore, limpide.

**Milieu préparé complet :** suspension bleuâtre, opaque, présentant au repos un précipité important.

Réponse culturale après enrichissement pendant 48 heures à 43 °C, puis repiquages sur XLD

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

## 9 CONSERVATION

---

**Milieu de base déshydraté** : 2-30 °C.

**Suppléments sélectifs Novobiocine** : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

**Milieu de base préparé en tubes ou en flacons (\*)** : 30 jours à 2-8 °C.

**Milieu complet préparé en tubes ou en flacons** : utiliser le jour même de l'adjonction de la solution iodo-iodurée et de la Novobiocine (le cas échéant).

**Suppléments Novobiocine réhydratés (\*)** : 30 jours à 2-8 °C.

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

## 10 PRESENTATION

---

**Milieu de base déshydraté :**

Flacon de 500 g ..... BK135HA

**Suppléments sélectifs Novobiocine :**

Coffret de 10 flacons de 10 mg..... BS03308

Coffret de 8 flacons de 40 mg ..... BS05608

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

Müller, L.. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. Comptes Rendus de la Société de Biologie, 89 : 434-437.

Kauffmann, F.. 1935. Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten Anreicherungsverfahren für *Salmonella* bazillen. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheit, 117 : 26-32.

Jeffries, L.. 1959. Novobiocin-tetrathionate broth: a medium of improved selectivity for the isolation of salmonellae in feces. Journal of Clinical Pathology, 12 : 568-571.

## 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 MULLER KAUFFMANN BASE\_FR\_V9.

Date création : 06-2003

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale.