

RAPPAPORT VASSILIADIS (RV) BROTH

Provette pronte per l'uso

IMPIEGO PREVISTO: brodo selettivo per l'arricchimento di *Salmonella*

FORMULA TIPICA (g /l)

Triptone	4.54
Potassio fosfato monobasico	1.45
Sodio cloruro	7.2
Magnesio cloruro anidro	13.3
Verde malachite ossalato	0.036
Acqua distillata	1000 ml

pH finale 5.2 ± 0.2.

DESCRIZIONE

La formulazione riportata da ISO 6579:1993 si riferisce ad un volume complessivo di 1110 ml .

La formulazione Biolife così come riportata, è riferita a 1 litro di acqua distillata, impiega ingredienti anidri al fine di una migliore conservazione della polvere e corrisponde a quanto prescritto dalla norma ISO 6579:1993.

Il terreno Rappaport Vassiliadis Broth è un brodo per l'arricchimento selettivo delle salmonelle in campioni alimentari, ambientali e clinici. Il terreno è indicato da ISO 6579:1993 per l'arricchimento di campioni alimentari a 42°C per l'isolamento di *Salmonella*, abbinato ad un pre-arricchimento non selettivo in Buffered Peptone Water e ad un arricchimento selettivo a 37°C in Selenite Cystine Broth.

Il Rapporto ISTISAN 96/35 indica lo schema seguente per l'arricchimento selettivo di *Salmonella* negli alimenti:

- Alimenti non normati: RV (42°C) + Selenite Cystine Broth (37°C)

- Latte e derivati: MK (42°C) + Selenite Cystine Broth (37°C)

- Uova fresche : RV (42°C) + MK (42°C)

- Molluschi : MSR (42°)

Il Rappaport Vassiliadis Broth presenta una spiccata attività inibitoria verso la flora saprofitica ed una buona capacità di stimolare la crescita delle salmonelle essenzialmente per i quattro motivi elencati da Van Schothorst:

a - capacità delle salmonelle di sopravvivere all'alta pressione osmotica data dalla concentrazione elevata del magnesio cloruro; b -capacità delle salmonelle di crescere a pH relativamente bassi; c -resistenza al verde malachite; d -richieste nutrizionali modeste.

Una vasta rassegna dei lavori scientifici effettuati sul Rappaport Vassiliadis Medium è stata pubblicata da Vassiliadis nel 1983.

IMPIEGO

La norma ISO 6579:1993 raccomanda la seguente tecnica per l'isolamento su piastra di *Salmonella*:

- Inoculare 25 g di campione in 225 ml di Buffered Peptone Water (cod. 401278) ed incubare a 37°C per 1620 ore

- Trasferire 0.1 ml in 10 ml di Rappaport Vassiliadis (RV) Broth ed incubare a 42°C per 24 ore

- Trasferire 10 ml in 100 ml di Selenite Cystine Broth ed incubare a 37°C per 24 e 48 ore

- Dalle provette di Rappaport Vassiliadis Broth dopo 24 ore di incubazione a 42°C e dai flaconi di Selenite Cystine Broth dopo 24 e dopo 48 ore di incubazione trapiantare con un'ansa su 1 piastra di grandi dimensioni di Brilliant Green Agar Modified e su una piastra di grandi dimensioni di un secondo terreno scelto a discrezione del laboratorio (HEA, SS Agar, XLD Agar o altro).

In assenza di piastre di grandi dimensioni, al posto di una piastra, viene suggerito l'uso di 2 piastre da 90 mm.

- per la semina su 2 piastre, trasferire un'ansata di crescita sulla prima piastra, strisciare su tutta la superficie e, senza ricaricare una seconda volta, strisciare su tutta la superficie della seconda piastra.

- per la semina su piastra di grandi dimensioni, trasferire un'ansata di crescita vicino al bordo e strisciare quindi su tutta la superficie per avere colonie ben isolate.

- incubare le piastre a 35 o 37°C per 20-24 ore

- esaminare su Brilliant Green Agar Modified per la presenza di crescite tipiche: colonie circondate da un viraggio del colore del terreno verso il rosso;- nel caso le crescite siano scarse, o non siano tipiche, o il viraggio del terreno sia debole, reincubare per altre 24 ore

- eseguire uno screening delle colonie tipiche con MUCAP Test (cat. n. 191500).

- identificare in modo completo con i test biochimici e sierologici le colonie MUCAP positive.

La nuova norma ISO 6579:2002 prevede l'impiego del Rappaport Vassiliadis Soy (RVS) Broth (REF 401981) abbinato al Mueller Kauffmann Broth (REF 401745) con novobiocina

Per l'esame delle feci inoculare 1 g di campione nella provetta. Se il campione contiene un'elevata quantità di particelle solide è opportuno emulsionarlo in soluzione fisiologica ed inoculare quindi 1 ml in 9-10 ml di terreno, per evitare che tali particelle solide interferiscano con le proprietà selettive. In alternativa alla tecnica dell'emulsione in soluzione fisiologica, può essere impiegato per la raccolta delle feci un contenitore con 10 ml di terreno liquido di trasporto (Transfec, cat. n. 223280) che evita la manipolazione del campione. Dopo incubazione delle provette inoculate a 42°C per 12-18 ore seminare dai tubi, in cui si apprezza crescita microbica su piastre di due terreni per l'isolamento di *Salmonella*: SS Agar o Hektoen Enteric Agar o XLD Medium ed un terreno cromogenico (Chromogenic Salmonella Agar, cod. 545350). Nella scelta dei terreni solidi selettivi da impiegare per l'isolamento si deve tenere conto dell'esperienza personale del microbiologo, del grado di semplicità d'analisi desiderata, del tempo a disposizione per eseguire il test.

CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare a 2-8°C nella confezione originale, al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento. Validità dal prodotto dalla data di fabbricazione: 6 mesi.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni > 1%. Il prodotto qui descritto è per uso diagnostico *in vitro* e deve essere usato in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare i materiali inoculati, dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- Harvey, R.W.S., Price, T.H. and Xirouchaki, E. (1979) Comparison of selenite F, Mueller Kauffmann Tetrathionate and Rappaport's Broth for the isolation of salmonellas from sewage polluted natural waters using a pre-enrichment technique. J. Hyg. Camb. 83, 451.
- ISO 6579 Microbiology, General Guidance on methods for the detection of Salmonella. 3rd Edition. 1993-0901
- Morinigo, M.A., Borrego, J.J., Romero, P. (1986) Comparative study of different methods for detection and enumeration of Salmonella spp in natural waters. J. App. Bact, 61, 169-176.
- Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D. De Medici, L. Fenicia, L. Orefice e A. Stacchini.
- Rhodos, P., Quesnel, L.B. and Collard, P. (1985) Growth kinetics of mixed culture in salmonella enrichment media, J. App. Bact. 59, 231.
- Van Schothorst, M., Renaud, A.M. (1983) Dynamics of salmonella isolation with modified Rappaport's Broth. J. App. Bact. 54, 209-215
- Vassiliadis, P. (1983) The Rappaport Vassiliadis enrichment Broth for the isolation of salmonellas: an overview. J. App. Bact. 54, 69.
- Vassiliadis, P., Pateraki, E., Papiconomou, N., Papadakis, J. and Trichopoulos, D. (1976) Nouveau procédé d'enrichissement de salmonella. Ann. Microb. Irist, Pasteur 127 B, 195.
- Vassiliadis, P., Trichopoulos, D., Kalandidi, A., Xirochaki, E. (1978) Isolation of salmonellas from sewage with a new procedure of enrichment. J. App. Bact. 44, 233-239.
- Vassiliadis, P., Trichopoulos, D., Kalapothaki, V., Sorié, C.H. (1981) Isolation of salmonella with the use of 100 ml of the R10 modification of Rappaport's enrichment medium. J. Hyg. Camb. 87, 35-41.

CONFEZIONE**REF 551980****Rappaport Vassiliadis (RV) Broth,****20 provette di vetro, 18x145 mm, fondo piano, tappo a vite, con 10 ml di terreno**