

## BD Rappaport Vassiliadis Broth

### VERWENDUNGSZWECK

**BD Rappaport Vassiliadis Broth** (=R10 Broth) (BD Rappaport-Vassiliadis-Bouillon [=R10-Bouillon]) ist ein Flüssigmedium zur selektiven Anreicherung von *Salmonella* aus Fleisch- und Milchprodukten, Stuhlproben und verunreinigtem Wasser.

### GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Rappaport et al. entwickelten ein Anreicherungsmedium für Salmonellen, welches durch Vassiliadis et al. modifiziert wurde.<sup>1,2</sup> Für die Rappaport-Rezeptur mit der Bezeichnung R25/37 °C wurde eine Inkubation bei 37 °C empfohlen, während für die Vassiliadis-Modifikation mit der Bezeichnung R10/43 °C, die eine verringerte Menge Malachitgrün enthielt, eine Inkubation bei 43 °C empfohlen wurde. Spätere Arbeiten von Peterz haben gezeigt, dass eine Inkubation von 24 h bei  $41,5 \pm 0,5$  °C die Isolierung von *Salmonella* spp. verbessert.<sup>3</sup> Rappaport-Vassiliadis-R10-Bouillon ist ein selektives Anreicherungsmedium, welches nach der Voranreicherung der Probe in einem geeigneten Voranreicherungsmedium verwendet wird. Es erlangte Anerkennung für die Verwendung bei der Analyse von Milch und Milchprodukten,<sup>4</sup> Produkten aus rohem Fleisch, stark kontaminierten Nahrungsmitteln und Tierfutter.<sup>5,6</sup> Das Medium wird ebenfalls als selektive Anreicherung von anderen *Salmonella* als *Salmonella Typhi* aus menschlichen Stuhlproben empfohlen.<sup>7,8</sup>

In **BD Rappaport Vassiliadis Broth** liefert Trypton Kohlenstoff und Stickstoff, welche für das allgemeine Wachstum erforderlich sind. Magnesiumchlorid erhöht den osmotischen Druck im Medium. Malachitgrün wirkt hemmend auf andere Organismen als *Salmonella*. Der niedrige pH-Wert des Mediums ( $5,1 \pm 0,2$ ), zusammen mit Malachitgrün und der hohen Magnesiumchlorid-Konzentration, welche den osmotischen Druck erhöht, machen das Medium selektiv für *Salmonella* spp.

### REAGENZIEN

#### **BD Rappaport Vassiliadis Broth**

Zusammensetzung\* pro Liter destilliertem Wasser

|                               |        |
|-------------------------------|--------|
| Bacto Trypton                 | 4,54 g |
| Natriumchlorid                | 7,2    |
| Kaliumdihydrogenphosphat      | 1,45   |
| Magnesiumchlorid (wasserfrei) | 13,4   |
| Malachitgrün-Oxalat           | 0,036  |

pH  $5,1 \pm 0,2$

\*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

### VORSICHTSMASSNAHMEN

**IVD** . Nur für den professionellen Gebrauch.

Fläschchen bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zu Verfahren aseptischer Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des gebrauchten Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

### LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Fläschchen bis kurz vor der Anwendung im Dunkeln bei 2 – 8 °C aufbewahren. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Fläschchen können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf dem Behälter oder der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Fläschchen aus geöffneten Packungen können bis zum Verfallsdatum verwendet werden.  
Geöffnete Fläschchen sofort verwenden.

## QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). 18 – 48 h bei  $41,5 \pm 0,5 \text{ °C}$  inkubieren. Auf geeigneten festen selektiven Medien, z.B. **BD Brilliant Green Agar** (BD Brillantgrün-Agar), subkultivieren. Platten 18 – 48 h bei  $35 - 37 \text{ °C}$  inkubieren.

| Teststamm                                | Trübung                   | Wachstum auf BD Brilliant Green Agar (Subkultur) |
|--|---------------------------|--|
| <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028 | Starke Trübung            | Gutes bis sehr gutes Wachstum                    |
| <i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076 | Starke Trübung            | Gutes bis sehr gutes Wachstum                    |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922       | Keine bis leichte Trübung | Teilweise (bis vollständig) gehemmtes Wachstum   |
| Nicht inokuliert                         | Blau, klar                |  |

## VERFAHREN

### Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

**BD Rappaport Vassiliadis Broth**, erhältlich in 30 mL Fläschchen mit Schraubverschluss.  
Mikrobiologisch kontrolliert.

### Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

### Probenarten

Dieses Medium wird zur Isolierung von *Salmonella*, außer *Salmonella Typhi*, aus Nahrungsmitteln und Fäkalproben verwendet (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

### Testverfahren

Fäkalien: 10 mL Rappaport-Vassiliadis-Bouillon mit einer gut mit Kot gefüllten Impföse oder 50 – 100 µL flüssigem Stuhl inokulieren.

Nahrungsmittel: 10 mL Rappaport-Vassiliadis-Bouillon mit 0,1 mL einer vorangereicherten Kultur (z.B. gepuffertem Peptonwasser) inokulieren.

Milch und Milchprodukte, rohes Fleisch, stark kontaminierte Nahrungsmittel und Tierfutter: Die entsprechenden Richtlinien befolgen.<sup>4-6</sup>

Stark kontaminierte Materialien wie Abwasser oder Klärschlamm müssen vor der Inokulation von Rappaport-Vassiliadis-Bouillon durch Watte gefiltert werden, um ungelöste Materialien zu entfernen.

Rappaport-Vassiliadis-Bouillon 18 – 48 h bei  $41,5 \pm 0,5 \text{ °C}$  inkubieren.

### Ergebnisse

Nach der Inkubation kann Wachstum anhand eines milchigen Erscheinungsbildes des Mediums oder auf Grund der Trübung nachgewiesen werden. Da ein klares Medium nicht immer auf negatives bakterielles Wachstum schließen lässt, sollten jeweils auf festen Medien, z.B. **BD Brilliant Green Agar**, **BD XLD Agar** oder auf anderen geeigneten *Salmonella*-Medien, Subkulturen angelegt werden. Die Verwendung von weniger selektiven Medien, z.B. **BD MacConkey II Agar**, wird ebenfalls empfohlen. Bei  $35 \pm 2 \text{ °C}$  18 – 24 h oder länger, falls erforderlich, inkubieren.

Verdächtige, auf den soliden Medien erhaltene Kolonien müssen mit Hilfe von serologischen und biochemischen Methoden weiter identifiziert werden.

## LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

**BD Rappaport Vassiliadis Broth** wird als selektives Anreicherungsmedium für *Salmonella* aus menschlichem Kot und einer Reihe von nicht klinischen Materialien wie Nahrungsmitteln und Abwasser verwendet.<sup>4-8</sup>

Die der Hemmfaktorenkombination in diesem Medium (Malachitgrün, Magnesiumchlorid, niedriger pH-Wert) können gewisse *Salmonella*, wie z.B. *S. Typhi*, hemmen.

Isolierungsmethoden für *Salmonella* sollten immer eine Reihe von Anreicherungs- und Isolierungsmedien beinhalten.

Medien zur Subkultivierung von **BD Rappaport Vassiliadis Broth** sollten ebenfalls ein weniger selektives Medium einschließen, z.B. **BD MacConkey II Agar**.

Biochemische und serologische Identifizierung der nach der Subkultivierung erhaltenen Isolate ist notwendig.

## LITERATUR

1. Rappaport, F., N. Konforti, and B. Navon. 1956. A new enrichment medium for certain salmonellae. J. Clin. Pathol. 9:261-266.
2. Vassiliadis, P., D. Trichopoulos, A. Kalandidi, and E. Xirouchaki. 1978. Isolation of salmonellae from sewage with a new procedure of enrichment. J. Appl. Bacteriol. 44:233-239.
3. Peterz, M., C. Wiberg, and P. Norberg. 1989. The effect of incubation temperature and magnesium chloride concentration on growth of salmonella in home-made and commercially available dehydrated Rappaport-Vassiliadis broths. J. Appl. Bacteriol. 66:523-528.
4. International Dairy Federation. 1995. Milk and milk products: detection of Salmonella. IDF Standard 93B:1005. Brussels, Belgium.
5. Andrews, W. H., G. A. June, P. S. Sherrod, T. S. Hammack, and R. M. Amaguana. 1995. Salmonella. p. 5.01-5.20. In: FDA bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
6. Andrews, W. H. (ed.). 1995. Microbial methods, p.1-119. In Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International, Arlington, VA.
7. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.
8. Bockemühl, J. 1992. Enterobacteriaceae. In: Burkhardt, F. (ed.). Mikrobiologische Diagnostik. Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

## VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

**BD Rappaport Vassiliadis Broth:** Gebrauchsfertiges Flaschenmedium

Best.-Nr. 257257     50 Fläschchen; 10 mL in 30 mL Fläschchen mit Schraubverschluss

## WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50     Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception\_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636     Fax: +33-476 68 3292     <http://www.bd.com>

BD and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company