



## RAPPAPORT VASSILIADIS SOY (RVS) BROTH

Terreno per l'arricchimento di *Salmonella* in campioni alimentari, ambientali e nelle acque.



RVS Broth: terreno non inoculato a sinistra e terreno dopo crescita di *Salmonella* sp. sulla destra.

### IMPIEGO PREVISTO

Rappaport Vassiliadis Soy (RVS) Broth è prodotto in accordo alla formulazione indicata dalle norme ISO 6579 ed ISO 19250 ed è un terreno impiegato per l'arricchimento selettivo di *Salmonella* in campioni alimentari, ambientali e nelle acque.

### FORMULA TIPICA (G/L)\*

Peptone di soia	4,50
Sodio cloruro	7,20
Potassio fosfato monobasico	1,26
Potassio fosfato bibasico	0,18
Magnesio cloruro	13,40
Verde malachite ossalato	0,036

\*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

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.

La formulazione corrisponde alle concentrazioni finali indicate nelle norme ISO, nelle quali si fa riferimento ad un volume complessivo di 1110 ml

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 26,6 g in 1000 ml di acqua distillata fredda. Scaldare leggermente per sciogliere il terreno.

Distribuire in provette da 10 ml o in flaconi da 100 ml.

Sterilizzare in autoclave a  $115 \pm 3$  °C per 15 minuti e conservare il terreno a  $5 \pm 3$  °C, in provette o flaconi o ben chiusi, per un massimo di 3 mesi.

### PREPARAZIONE DEI FLACONI

Scaldare in bagnomaria a 100°C portando ad ebollizione il terreno in flacone, agitando di tanto in tanto. Raffreddare a 47-50°C e trasferire in provette sterili.

### CARATTERISTICHE CHIMICO FISICHE

Aspetto del terreno in polvere: fine granulometria omogenea, verde-blu.

Aspetto del terreno in provetta: blu, limpido.

pH finale:  $5.2 \pm 0.2$

### DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

RVS Broth è preparato in accordo alla formulazione descritta da Van Schothorst e coll. ed a quanto riportato nelle norme ISO 6579 e 19250. E' un terreno impiegato per l'arricchimento selettivo di *Salmonella* in campioni alimentari, ambientali e nelle acque. Rispetto alla formulazione classica (Rappaport Vassiliadis Broth cod. 401980) l'RVS Broth contiene il potassio fosfato bibasico ed il peptone di soia e concentrazioni inferiori di potassio fosfato monobasico.

Queste modificate concentrazioni saline consentono un migliore mantenimento del pH e un miglioramento nell'isolamento delle salmonelle. Il peptone di soia fornisce gli elementi essenziali e zuccheri naturali per la crescita microbica e favorisce la crescita di *Salmonella*. Il verde malachite ha proprietà inibitorie verso i gram positivi, il magnesio cloruro mantiene una elevata pressione osmotica del terreno ed i fosfati di potassio agiscono da sistema tampone del pH.

### METODO D'IMPIEGO

Per il prelievo e trattamento del campione riferirsi alla Norme ISO 6887 e ISO 8199.

ARRICCHIMENTO DI SALMONELLA NEI PRODOTTI ALIMENTARI (ISO 6579):

- Inoculare 25 g di campione in 225 ml di Buffered Peptone Water (cod. 401278 o 401278C) ed incubare a 37°C per 16-20 ore
- Trasferire 0.1 ml in 10 ml di RVS Broth ed incubare a 41.5 °C per 18-24 h.
- Procedere ad un arricchimento selettivo anche in MKTTn o MSRv, a seconda della provenienza del campione.
- Per mezzo di un'ansa trapiantare dall' arricchimento selettivo su piastra di XLD Agar (cod 402208). Seminare in ecometria in modo tale da ottenere colonie ben isolate. Incubare a 36 °C per 24 h.
- Ripetere l'operazione utilizzando anche un secondo terreno a scelta dell'operatore, complementare ad XLD e tale che permetta la rilevazione anche di *Salmonelle* lattosio positive, S. Typhi e S. Paratyphi (es. CSA cod 405350) ed incubare secondo le indicazione relative al terreno in uso.
- Identificare le colonie tipiche con i test sierologici e biochimici in accordo alla norma ISO di riferimento o, al di fuori delle specifiche normative, con MUCAP Test (cod. 191500).

Per una trattazione completa si rimanda alla Norma ISO 6579 in vigore.



### ARRICCHIMENTO DI SALMONELLA NELLE ACQUE ( ISO 19250):

- Arricchimento non selettivo in Buffered Peptone Water (cod. 401278 o 401278C)
- Per campioni < 10 ml introdurre il campione di acqua in 50 ml di BPW, per campioni > 10 ml procedere con filtrazione su membrana e successivamente introdurre la membrana in 50 ml di BPW. In alternativa aggiungere il campione di acqua da analizzare ad un ugual volume di BPW preparato a doppia concentrazione. Incubare a 36 °C per 16-20 ore
- Arricchimento selettivo: Trasferire 0,1 ml dell'arricchimento non selettivo 10 ml di RVS Broth ed incubare a 41.5°C ± 1°C per 24-48 h. Se richiesto, trasferire 1 ml dell'arricchimento primario in MKTTn broth ed incubare a 36 °C per 24 h.
- Per mezzo di un'ansa trapiantare dalla provetta di brodo selettivo su piastra di XLD Agar (cod 402208), seminare in ecometria in modo tale da ottenere colonie ben isolate. Incubare a 36 °C per 24 h.
- Ripetere l'operazione utilizzando anche un secondo terreno a scelta dell'operatore, complementare ad XLD e tale che permetta la rilevazione anche di *Salmonelle* lattosio positive, S. Typhi e S. Paratyphi (es. CSA cod 405350) ed incubare secondo le indicazioni relative al terreno in uso.
- Identificare le colonie tipiche con i test sierologici e biochimici in accordo alla norma ISO di riferimento o, al di fuori delle specifiche normative, con MUCAP Test (cod. 191500).

Per trattamento di campioni provenienti da acque reflue è stato dimostrato che tempi di incubazione più brevi o inoculazione diretta del campione in RVS produce risultati migliori  
Per una trattazione completa si rimanda alla Norma ISO 19250 in vigore.

### LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La presenza di colonie rosse con o senza centro nero in XLD Agar indica la presunta presenza di Salmonelle, da confermare con test d'identificazione appropriati.

Per il secondo terreno riferirsi alle specifiche di crescita indicate dal produttore

### CONTROLLO QUALITA'

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati, a titolo esemplificativo, alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI		INCUBAZIONE	SPECIFICHE
S. Enteritidis	ATCC 13076	41.5 °C x 24 ore	buona crescita, subcoltura in XLD agar
S. Typhimurium	ATCC 14028	41.5 °C x 24 ore	buona crescita, subcoltura in XLD agar
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	41.5 °C x 24 ore	crescita parzialmente inibita, dopo subcoltura in TSA
<i>E. faecalis</i>	ATCC 29212	41.5 °C x 24 ore	crescita inibita, dopo subcoltura in TSA

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

### LIMITI DEL METODO

- Per la determinazione di *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi ai brodi selettivi di arricchimento indicati sopra deve essere aggiunto il Selenite Cystine Broth (REF 402026).
- Nei prodotti preparati con latte in polvere e nei formaggi, Salmonella può essere presente in forma stressata; per questi campioni è raccomandata un'incubazione dei brodi selettivi protratta per ulteriori 24 ± 3 ore. Tale prolungamento può essere applicato con benefici anche ai campioni esaminati nel corso di episodi epidemici.

### CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C 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 evidenti di deterioramento.

Provette/flaconi pronti all'uso: conservare al buio a 2-8 °C fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

### PRECAUZIONI

Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.

Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione del RVS Broth deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Consultare le schede di sicurezza prima dell'uso.

### PRODOTTI

Descrizione	Tipo	Cat. N°	Confezione
RAPPAPORT VASSILIADIS SOY (RVS) BROTH	Terreno in polvere	4019812	500 g (18,8 L)
	Terreno pronto in provetta	551981	20 x 10 mL
	Terreno pronto in flaconi	5119812	6 x 100 mL

### BIBLIOGRAFIA

- Van Schothorst, M., Renaud, A., van Beek, C. (1987) Food Microbiology 4, 11-18
- ISO 6579:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella —Part 1: Detection of Salmonella spp
- ISO 19250:2010 Water quality -- Detection of Salmonella spp.
- ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water -- Preparation, production, storage and performance testing of culture media

