

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

RAPPAPORT-VASSILIADIS SOJA (RVS) BROTH

TĂNG SINH CHỌN LỌC *SALMONELLA*

1 MỤC ĐÍCH

Rappaport-Vassiliadis Soja Broth được sử dụng để tăng sinh chọn lọc *Salmonella* trong sữa, các sản phẩm từ sữa, các sản phẩm thực phẩm khác, nước và trong các mẫu môi trường.

Thành phần điển hình của broth tương ứng với thành phần được xác định trong các tiêu chuẩn NF EN ISO 19250, NF EN ISO 6579-1, NF U47-102 và trong Dược điển Châu Âu.

2 LỊCH SỬ

Thành phần của môi trường được phát triển bởi Rappaport sau khi quan sát thấy rằng *Salmonella* có khả năng chống lại môi trường ưu trương hơn hầu hết các vi khuẩn đường ruột khác. Trong các thí nghiệm của mình, Rappaport đã chỉ ra rằng magie clorua là hiệu quả nhất trong số các muối được thử nghiệm. Tính chọn lọc của môi trường vẫn được tăng thêm khi bổ sung malachite green. Sau đó, Vassiliadis đã chỉ ra rằng có thể thu hồi một số lượng lớn *Salmonella* hơn bằng cách giảm hàm lượng malachite green và ủ ở 43 ° C thay vì 37 ° C.

Các nghiên cứu tiếp theo của Peterz và cộng sự cho thấy ảnh hưởng của nhiệt độ ủ và nồng độ magie clorua đến hiệu suất thu hồi của môi trường. Cuối cùng, van Schothorst và Renaud đã sửa đổi Rappaport- Vassiliadis Broth bằng cách thay thế peptone casein bằng peptone đậu nành, kết hợp dung dịch đệm kali hydrogenophosphate vào công thức, dẫn đến độ ổn định cao hơn của môi trường theo thời gian.

3 NGUYÊN TẮC

Nồng độ magie clorua cao và sự hiện diện của malachite green làm giảm sự phát triển của vi khuẩn khác ngoài salmonellae.

Sự phát triển của *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi* và *Shigella* phần nào bị ức chế bởi malachite green.

4 THÀNH PHẦN

Có thể được điều chỉnh để có được hiệu suất tối ưu.

Trong 1 lit môi trường:

- Papaic digest of soja	4,50 g
- Sodium chloride.....	7,20 g
- Monopotassium phosphate	1,26 g
- Dipotassium phosphate.....	0,18 g
- Magnesium chloride, anhydrous (*)	13,40 g
- Malachite green (oxalate)	36,0 mg

pH của môi trường hoàn chỉnh 25 °C : 5,2 ± 0,2.

(*) : 13,40 g/L magnesium chloride (trọng lượng phân tử 95,21) tương đương 28,6 g/L of hexahydrated magnesium chloride (trọng lượng phân tử 203,3).

5 CHUẨN BỊ

- Hòa tan 26,6 g môi trường (BK148) vào 1 lít nước cất hoặc nước khử ion.
- Đun sôi từ từ, khuấy liên tục để hòa tan môi trường.
- Phân phối 10ml vào mỗi ống.
- Hấp tiệt trùng tại 115 °C trong 15 phút.
- Làm nguội đến nhiệt độ phòng.

✓ **Pha** :26,6 g/L
✓ **Hấp** :
15 phút tại 115 °C

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Chuyển 0,1 mL dung dịch tiền tăng sinh (BPW) vào ống 10 mL canh RVS đã chuẩn bị ở trên hoặc sử dụng các ống pha sẵn sử dụng (BM074).
- Ủ tại $41,5 \pm 1$ °C trong 24 ± 3 h.

✓ **Cấy** :0,1 mL / ống
✓ **Ủ** : 24 h tại 41,5 °C

CHÚ Ý :

- Trong các sản phẩm sữa khô và pho mát, vi khuẩn *Salmonella* có thể bị tổn thương. Ủ môi trường tăng sinh chọn lọc từ các sản phẩm này thêm $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$.
- Môi trường tăng sinh chọn lọc thứ hai được nuôi cấy song song khi trong các phương pháp đã được tiêu chuẩn hóa.

7 KẾT LUẬN

Từ mỗi ống RVS, cấy 1 vòng que cấy ria lên đĩa XLD agar và môi trường chọn lọc thứ hai mà người dùng lựa chọn cho *Salmonella*.
Xác nhận các khuẩn lạc đặc trưng.

8 QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG

Môi trường bột khô: bột hơi xanh, chảy tự do và đồng nhất.

Môi trường hoàn chỉnh : màu xanh.

Phản ứng nuôi cấy điển hình sau 24 h ủ tại 41,5 °C , tiếp tục theo dõi khi cấy ria trên XLD và TSA (NF EN ISO 11133) :

Vi sinh vật		Phát triển
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030	> 10 khuẩn lạc đặc trưng trên XLD agar
+ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	
+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	> 10 khuẩn lạc đặc trưng trên XLD agar
+ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	
+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	☐ 100 khuẩn lạc trên TSA < 10 khuẩn lạc trên TSA
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	

9 BẢO QUẢN/ HẠN SỬ DỤNG

Môi trường bột khô: 2-30 °C.

Môi trường pha sẵn trong ống nghiệm : 2-8 °C.

Hạn sử dụng được in trên nhãn.

Môi trường đã pha trong ống nghiệm (*): 180 ngày tại 2-8 °C.

(*) Giá trị điểm chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

10 ĐÓNG GÓI

Môi trường bột khô :

Chai 500 g.....BK148HA

Môi trường chuẩn bị sẵn trong ống nghiệm :

50 ống x 10 mL.....BM07408

11 THAM KHẢO

Rappaport, F., Konforti, N., and Navon, B.. 1956. A new enrichment medium for certain salmonellae. Journal of Clinical Pathology, **9** : 261-266.

Vassiliadis, P., Kalapothaki, V., Trichopoulos, D., Papadakis, J.A., and Serie, C.H.. 1979. Recent experience on the use of modified Rappaport's medium (R 10/43°C) for the isolation of *Salmonella*. Quality assurance and quality control of microbiological culture media. Dr Janet E.L. Corry. London, 141-145.

van Schothorst, M., and Renand, A.M.. 1983. Dynamics of *Salmonella* isolation with modified Rappaport medium (R 10). Journal of Applied Bacteriology, **54** , 209-215.

van Schothorst, M., Renaud, A., and van Beek, C.. 1987. Salmonella isolation using RVS broth and MLCB agar. Food Microbiology, **4** , 11-18.

Peterz, M., Wiberg, C., and Norberg, P. 1989. The effect of incubation temperature and magnesium chloride concentration on growth of salmonella in home-made and in commercially available dehydrated Rappaport-Vassiliadis broths. Journal of Applied Bacteriology, **66** : 523-528.

NF U 47-102. Janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.

NF EN ISO 19250. Juin 2013. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp. Pharmacopée européenne. Chapitre 2.6.13. Recherche de microorganismes spécifiés.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture (Tirage 2 (2016-01-01)).

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : recherche des *Salmonella* spp..

12 THÔNG TIN BỔ SUNG

Thông tin cung cấp trên nhãn được ưu tiên hơn các công thức, hướng dẫn mô tả trong tài liệu này, và có thể bị sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần thông báo trước.

Mã tài liệu : RVS BROTH_ENv8

Ngày phát hành : 04-2003

Ngày cập nhật : 02-2018

Lý do sửa đổi : Cập nhật chung.