

### Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung

Zur selektiven Anreicherung von Salmonellen. Der Nährboden entspricht den Empfehlungen des § 35 LMBG<sup>1</sup>, der DIN EN 12824<sup>2</sup> sowie der ISO 6579<sup>3</sup>.

Art.-Nr. CM 669

Typische Zusammensetzung	(g/1.110 ml)
Sojapepton	5,0
Natriumchlorid	8,0
Kaliumdihydrogenphosphat	1,6
Magnesiumchlorid x 6 H <sub>2</sub> O	40,0
Malachitgrün	0,04
pH 5,2 ± 0,2	

Die Mengen dieser zuerst beschriebenen, inzwischen klassischen Rezeptur sind auf **1.110 ml** Nährboden abgestimmt. Sie sind so in der OXOID-Literatur veröffentlicht und stimmen damit mit der entsprechenden wissenschaftlichen Literatur und der Empfehlung des BGA<sup>1</sup> überein.

Die Gewichtsdivergenz zwischen der klassischen Zusammensetzung auf dem Etikett und der reduzierten Einwage je Liter entsteht durch die Verwendung von wasserfreiem Magnesiumchlorid in der Rezeptur des Trockennährbodens.

Die Zubereitungsvorschriften für die Rappaport-Vassiliadis-Anreicherungslösung werden der üblichen Praxis folgend pro 1 l Nährboden angegeben.

#### Zubereitung

30 g Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen vorsichtig erhitzen. Je 10 ml Volumen in Endgefäße abfüllen und 15 Minuten bei 115°C autoklavieren.

#### Beschreibung

Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung basiert auf der von van Schothorst und Renaud<sup>4</sup> beschriebenen Zusammensetzung und wird zur selektiven Anreicherung bei der Isolierung von Salmonellen aus Lebensmitteln und Umweltmaterial empfohlen. Sie kann auch zur Isolierung von Salmonellen aus Faeces ohne Voranreicherung eingesetzt werden, allerdings nur bei kleinem Inokulum. Die ursprünglich von Rappaport et al.<sup>5</sup> beschriebene Zusammensetzung wurde entwickelt, um folgende Eigenschaften von Salmonellen im Vergleich mit anderen *Enterobacteriaceae* auszunutzen.

- Überlebensfähigkeit bei relativ hohem osmotischen Druck
- Vermehrung bei niedrigen pH-Werten

- vergleichsweise höhere Resistenz gegenüber Malachitgrün
- relativ niedrige Ansprüche an das Nährstoffangebot

Die Rappaport-Lösung erwies sich bei der Anreicherung von Salmonellen, mit Ausnahme von *S. typhi*, als besser geeignet im Vergleich zur Selenit- und Tetrathionat-Lösung<sup>5</sup>.

Vassiliadis et al.<sup>6</sup> modifizierten die Rappaport-Lösung, indem sie die Konzentration an Malachitgrün senkten und die Bebrütungstemperatur auf 43°C anhoben. Diese modifizierte Rappaport-Lösung wird als Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung bezeichnet. Ihre Zusammensetzung ist im Vergleich zu allen anderen Salmonellen-Anreicherungen überlegen, insbesondere wenn kleine Inokula aus Voranreicherungen verwendet werden<sup>7-11</sup>.

Die Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung (OXOID, Art.-Nr. CM 669) ist identisch mit dem von Vassiliadis et al.<sup>6</sup> beschriebenen Nährboden mit der Ausnahme des Sojapepton, welches das Wachstum von Salmonellen fördert<sup>4,12</sup>.

Bei der Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung ist zu beachten, daß das eingesetzte Inokulum klein genug gewählt wird, um die Selektivität nicht zu stören. Es wurde ein Verhältnis Inokulum/Anreicherungslösung von 1:100 bis 1:2000 vorgeschlagen<sup>13</sup>.

Die Selektivität der Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung kann durch den Zusatz von Novobiocin (Novobiocin-Selektiv-Supplement, OXOID Art.-Nr. SR 181) erhöht werden<sup>14</sup>.

#### Kulturverfahren

##### Lebensmittel und Umweltmaterial

1. Gepuffertes Peptonwasser (OXOID, Art.-Nr. CM 509) in Volumina zu je 225 ml nach Vorschrift zubereiten.
2. Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung (OXOID, Art.-Nr. CM 669) nach Vorschrift zubereiten.
3. Je 25 g oder 25 ml Untersuchungsmaterial zu 225 ml gepuffertem Peptonwasser geben und 16-20 Stunden bei 36°C bebrüten.
4. Je 10 ml Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung mit 0,1 ml Voranreicherung beimpfen und 24-48 Stunden bei 42 ± 1°C bebrüten\*.
5. Anreicherungslösung auf Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar, mod. (OXOID, Art.-Nr. CM 329) kultivieren. 18-24 Stunden bei 36°C bebrüten.
6. Salmonellen-verdächtige Kolonien sollten biochemisch oder serologisch bestätigt werden.

\* Die empfohlene Bebrütungstemperatur beträgt 43°C, allerdings ist dies die kritische, obere Grenze, deshalb wird 42 ± 1°C empfohlen, um Schwankungen des Brutschanks zu berücksichtigen. Die Anreicherungslösung sollte vor dem Beimpfen auf 43°C vorgewärmt werden.

Zur Anreicherung und Identifizierung von Salmonellen nach § 35 LMBG siehe Peptonwasser, gepuffert (OXOID, Art.-Nr. CM 509).

#### Fäkales Untersuchungsmaterial

##### (ohne Voranreicherung)

1. Röhren mit je 10 ml steriler Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung auf 43°C vorwärmen.
2. Jedes Röhren mit 1 oder 2 Impfsen (Ø 3 mm) flüs-

- sigen Faeces oder einer Emulsion von Faeces in Kochsalzlösung beimpfen.  
3. 24–48 Stunden bei  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  bebrüten.

### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt,  $10\text{--}25^\circ\text{C}$ .

DER NÄHRBODEN IST SEHR HYGROSKOPISCH UND MUSS VOR FEUCHTIGKEIT GESCHÜTZT WERDEN!

Haltbarkeit: siehe Etikett.

### Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

*Salmonella typhimurium* ATCC 14028

Negativkontrolle

*Escherichia coli* ATCC 25922

### Zusätzliche Hinweise

Bei Verdacht auf *Salmonella typhi* sollte die Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung nicht verwendet werden.

### Literatur

1. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 00.00-20: "Nachweis von Salmonellen".
2. DIN EN 12824: "Horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonellen".
3. ISO 6579 (1993) "Microbiology. General guidance on methods for the detection of Salmonella. Reference method."
4. van Schothorst, M. und Renaud, A.M. (1983) J. Appl. Bacteriol. 54, 209-215.
5. Rappaport, F., Konforti, N. und Navon, B. (1956) J. Clin. Pathol. 9, 261-266.
6. Vassiliadis, P. et al. (1976a) "Annales de Microbiologie (Institut Pasteur)" 127B, 195-200.
7. Vassiliadis, P. et al. (1981) J. Hyg. Camb. 87, 35-39.
8. Harvey, R.W.S., Price, T.H. und Xirouchaki, E. (1979) J. Hyg. Camb. 82, 451-460.
9. Vassiliadis, P. (1983) J. Appl. Bacteriol. 54, 69-75.
10. Vassiliadis, P. et al. (1981) Appl. & Environ. Microbiol. 42, 615-618.
11. Vassiliadis, P. (1983) J. Appl. Bacteriol. 56, 69-76.
12. McGibbon, L., Quail, E. und Fricker, C.R. (1984) Int. J. Food Microbiol. 1, 171-177.
13. Fricker, C.R. (1987) J. Appl. Bacteriol. 63, 99-116.
14. Fricker, C.R. (1984) J. Appl. Bacteriol. 56, 305-309.