

CALDO RAPPAPORT-VASSILIADIS RAPPAPORT-VASSILIADIS R10 BROTH (7512)

Uso Previsto

Caldo Rappaport-Vassiliadis é utilizado para o enriquecimento seletivo de *Salmonella* spp. em alimentos.

Sumário e Explicação do Produto

Rappaport et al.¹, formulou um meio de enriquecimento para *Salmonella* spp. que foi modificado por Vassiliadis et al.² A formulação Rappaport, designada como R 25/37°C, recomenda incubação a 37°C. A modificação Vassiliadis, designada como R 10/43°C, tem o nível de Verde Malaquita reduzido e incubação a 43°C. Peterz demonstrou posteriormente que a incubação a $41,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 horas melhorou a recuperação de *Salmonella* spp.³ O Caldo Rappaport-Vassiliadis é um meio de enriquecimento seletivo utilizado após o pré-enriquecimento de espécimes. Este meio foi aprovado para ser utilizado em análises de leite e derivados,⁴ carnes cruas, alimentos altamente contaminados e rações.^{5,6} Este meio enriquece seletivamente para *Salmonella* spp., pois bactérias, incluindo bactérias intestinais, são tipicamente suscetíveis ou inibidas pelo Verde Malaquita, alta pressão osmótica e/ou baixo pH. *S. typhi* e *S. choleraesuis* são sensíveis ao Verde Malaquita e podem ser inibidas.

Princípios do Procedimento

Digestão Enzimática de Caseína é a fonte de carbono e nitrogênio para as necessidades gerais de crescimento no Caldo Rappaport-Vassiliadis. Cloreto de Magnésio aumenta a pressão osmótica do meio e o Di-hidrogenofosfato de Potássio é o agente tamponante. Oxalato de Verde Malaquita é um agente inibidor, exceto para *Salmonella* spp. O baixo pH do meio, em conjunto com a presença de Oxalato de Verde Malaquita e Cloreto de Magnésio, agem como agentes seletivos para *Salmonella* spp.

Fórmula / Litro

Digestão Enzimática de Caseína	4,54 g
Cloreto de Sódio	7,20 g
Di-hidrogenofosfato de Potássio	1,45 g
Cloreto de Magnésio, Anidro	13,4 g
Oxalato de Verde Malaquita	0,036 g

pH Final: $5,1 \pm 0,2$ a 25°C

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

Precauções

1. Somente para o uso em laboratório.
2. IRRITANTE. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele.

Modo de Preparo

1. Dissolva 26,6 g do meio em 1 L de água purificada.
2. Misture completamente.
3. Autoclave a 116°C (4,5 kg pressão) por 15 minutos.

Especificações de Controle de Qualidade

Aparência Desidratado: O pó é homogêneo, fluxo livre e verde pálido.

Aparência Preparado: O meio preparado é transparente, turquesa escuro e pode apresentar um leve precipitado.

Resposta Esperada de Cultivo: Resposta de cultivo no Caldo Rappaport-Vassiliadis incubado aerobicamente a $41,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 18–24 horas. Após incubação, foi feita uma subcultura para o Ágar Verde Brilhante e incubado a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e analisado para crescimento após 18–24 horas.

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (UFC)	Resposta
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	~ 1000	Inibido
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC® 13315	~ 1000	Inibido
<i>Salmonella arizonae</i> ATCC® 13314	10–100	Crescimento, colônias rosas
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	10–100	Crescimento, colônias rosas

Os organismos listados são os mínimos que devem ser avaliados para teste de controle de qualidade.

Procedimento do Teste

Amostras de Água e Esgoto: Para o isolamento de *Salmonella* (além de *S. typhi*) em águas e materiais associados, como lodo com sólidos, lama de depuração, lodo digerido e lodo pressionado. Concentre a amostra através de filtração por um tampão ou algodão hidrófilo inserido no gargalo de um funil grande estéril ou utilizando pad absorvente Whatman n°17.

Pré-Enriquecimento: Transfira assepticamente o tampão de algodão hidrófilo ou o pad para 100 mL de um pré-enriquecimento como Água Peptona Tamponada. Incube a 37°C por 18–24 horas.

Enriquecimento Seletivo: Inocule 10 mL de Caldo R-V R10 com 0,1 mL da cultura pré-enriquecida. Inocule 10 mL do Caldo Tetrionato Muller-Kauffman com 1 mL da cultura pré-enriquecida. Incube o Caldo Rappaport-Vassiliadis R10 a 41,5 ± 0,5°C. Incube o Caldo Tetrionato Muller Kauffman a 42 ± 1°C por 48 horas.

Resultados: Após a incubação, faça uma subcultura de ambos os caldos enriquecidos seletivos para o Ágar Verde Brilhante e Ágar XLD. Incube a 35°C por 18–24 horas. Observe para colônias típicas de *Salmonella*. Confirme a identificação dos isolados através de testes bioquímicos e sorológicos.

Leite e Alimentos: Para o isolamento de *Salmonella* (além de *S. typhi*) em leite e derivados,⁴ carnes cruas, alimentos altamente contaminados e rações.^{5,6}

Pré-Enriquecimento: Adicione 25 g ou 25 mL da amostra do espécime em 225 mL do meio de pré-enriquecimento. Consulte as referências apropriadas para o tipo de produto a ser testado.^{4,5,6} Incube a 35°C por 24 ± 2 horas^{5,6} ou a 37°C por 16–20 horas,⁴ dependendo do procedimento seguido.

Enriquecimento Seletivo: Inocule 10 mL do Caldo Rappaport-Vassiliadis R10 com 0,1 mL da cultura pré-enriquecida. Inocule 10 mL de outro meio de enriquecimento seletivo tal como o Caldo Tetrionato ou Caldo Selenito Cistina com 1 mL da cultura pré-enriquecida.^{4,5,6} Incube o Caldo Rappaport-Vassiliadis R10 a 41,5 ± 0,5°C por 24 ± 2 horas. Incube os outros caldos de enriquecimento seletivos apropriadamente.

Resultados: Após a incubação faça uma subcultura do Caldo Rappaport-Vassiliadis R10 e do outro caldo de enriquecimento seletivo para um ágar seletivo e incube a 35 ± 2°C por 24 ± 2 horas.^{4,5} Observe para colônias típicas de *Salmonella*. Confirme a identificação dos isolados através de testes bioquímicos e sorológicos.

Armazenamento

Armazene o frasco contendo o meio desidratado devidamente fechado entre 2–30°C. Uma vez aberto e fechado novamente, coloque o frasco em um ambiente de baixa umidade e na mesma temperatura de armazenamento. Proteja contra a umidade e luz mantendo o frasco firmemente fechado.

Validade

Refira-se à data de validade no frasco. O meio desidratado deve ser descartado se não fluir livremente ou se houver mudança na coloração original. A validade se aplica ao meio em sua embalagem intacta quando armazenado como indicado.

Limitações do Procedimento

A combinação dos fatores inibitórios deste meio pode inibir certas espécies de *Salmonella*, tais como *S. typhi* e *S. choleraesuis*. Técnicas de isolamento devem incluir uma variedade de caldos de enriquecimento e meios de isolamento.

Embalagem

Caldo Rappaport-Vassiliadis	N° Código	7512A	500 g
		7512B	2 kg
		7512C	10 kg

Referências

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 homemade 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. **Cunniff, P. (ed.).** 1995. Official Methods of Analysis AOAC International, 16thed., AOAC International, Gaithersburg, MD.
6. www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm

Informação Técnica

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.

Contate a Acumedia Manufacturers, Inc. para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone +1 (517)372-9200 ou fax +1 (517)372-2006.