

Rappaportův sójový bujón dle Vassiliadis

LC1174

Pro selektivní obohacení salmonelou.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní obohacování	<i>Salmonella</i>

Odvětví aplikace: Kvalita vody / Potravinářství

Předpisy: ISO 11133 / ISO 19250 / ISO 6579

Principy a použití

Rappaportův sójový bujón dle Vassiliadis je doporučen normami ISO 6579 a ISO 19250 po kroku preenrichmentace pro selektivní izolaci *Salmonella spp.*

Vassiliadis upravil Rappaportovo médium snížením koncentrace malachitové zeleně a zvýšením inkubační teploty, čímž dosáhl lepší stability pH připraveného média a optimalizoval koncentraci chloridu hořečnatého, což vedlo ke zlepšení výtěžnosti salmonel.

Sójový pepton dodává dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Fosforečnany draselné vyrovnávají nízké pH média v kombinaci s přítomností chloridu hořečnatého, který zvyšuje osmotický tlak, a malachitovou zelení, která inhibuje ostatní organismy. Chlorid sodný poskytuje základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu.

Složení v g/l

Fosforečnan draselný	0,18	Chlorid hořečnatý	13,4
Malachitová zeleň	0,036	Fosforečnan monodraselný	1,26
Chlorid sodný	7,2	Sójový pepton	4,5

Příprava

Suspendujte 26,6 g média v 1 litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpustěte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Rozlijte do vhodných nádob a sterilizujte v autoklávu při 115 °C po dobu 15 minut. **NEPŘEHŘÍVEJTE.**

Návod k použití

* Pro detekci *Salmonella spp.* v potravinách, krmivech, zvířecích výkalech a vzorcích životního prostředí podle normy ISO 6579:

- Předběžné obohacení v neselektivním kapalném médiu:

Naočkejte pufrovanou peptonovou vodu (LC1402) vzorkem nebo ředěním a inkubujte při 34-38 °C po dobu 18±2 h.

- Obohacování v/na selektivních médiích:

S kulturou získanou ve fázi před obohacením naočkejte Rappaportův sójový bujón (Vassiliadis) (LC1174) nebo modifikované polotuhé Rappaportovo Vassiliadisovo médium (MSRV) (LC1376) a bujón MKKTN (LC1173).

Rappaportův sójový bujón a modifikované polotuhé Rappaportovo médium se inkubují při teplotě 41,5 °C po dobu 24 ± 3 h a bujón MKKTN při teplotě 34-38 °C po dobu 24 ± 3 h.

- Pokovování na selektivních pevných médiích:

Ze selektivních obohacených kultur naočkejte dva selektivní izolační agary; XLD agar (LC1274) a jakékoli jiné selektivní médium doplňující XLD agar (*Salmonella* Chromogenic Agar (LC1122), Brilliant Green Agar (LC1143), Bizmutový sulfátový agar (LC1011), DCLS Agar (LC1045), Desoxycholate Citrate Agar (LC1067), Hektoen Enteric Agar (LC1030), *Salmonella Shigella* Agar (LC1064) a XLT4 Agar (LC1159)).

Inkubujte desky XLD obrácené při teplotě 34-38 °C po dobu 24 ± 3 hodin.

Druhé selektivní médium inkubujte podle pokynů výrobce.

- Potvrzení:

Subkultivujte kolonie předpokládaných salmonel a potvrďte jejich identitu biochemickými a sérologickými testy.

Poznámka: Podle přílohy D normy ISO 6579-1: 2017 by se pro detekci enterica subspecies enterica sérovarů Typhi a Paratyphi měl jako selektivní obohacovací médium přidat Selenite Cystine Broth (kat. č. 1220) a jako druhé selektivní médium by se měl zvolit Bismuth Sulfite Agar (Wilson Blair) (kat. č. 1011).

* Pro detekci Salmonella spp. ve vzorcích vody podle ISO 19250:

- Předběžné obohacení v neselektivním médiu:

Naočkejte pufrovanou peptonovou vodu (LC1402) vzorkem nebo ředěním a inkubujte při 34-38 °C po dobu 18±2 h.

- Obohacování v selektivních médiích:

Naočkejte kulturou získanou ve fázi před obohacením Rappaportův sójový bujón (Vassiliadis) (LC1174) a MKKTN bujón (LC1173). Rappaportův sójový bujón se inkubuje při teplotě 41,5 ± 1 °C a MKKTN bujón při teplotě 34-38 °C, obojí po dobu 24 ± 3 hodin.

- Pokovování na selektivních pevných médiích:

Ze selektivních obohacených kultur naočkejte dva selektivní izolační agary; XLD agar (LC1274) a jakékoli jiné selektivní médium doplňující XLD agar (např. Brilliant Green Agar (LC1143) nebo Bismuth Sulfite Agar (LC1011)).

Inkubujte desky XLD obrácené při teplotě 34-38 °C po dobu 24 ± 3 hodin.

Druhé selektivní médium inkubujte podle pokynů výrobce.

- Potvrzení:

Subkultivujte kolonie předpokládaných salmonel a potvrďte jejich identitu biochemickými a sérologickými testy.

Kontrola kvality

Rozpusťnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
beze zbytku	Jemný prášek	Béžová	Modrá	5,2±0,2

Mikrobiologický test

Podle normy ISO 11133:

Inkubační podmínky: (41,5 ± 1 °C / 24 ± 3 h).

Podmínky očkování: Produktivita kvalitativní (<100 CFU) / selektivita (10⁴-10⁶ CFU).

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	> 10 kolonií v XLD nebo jiném zvoleném médiu	Kolonie s černým středem a lehce průhlednou zónou načervenalé barvy v důsledku změny barvy média.
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	> 10 kolonií v XLD nebo jiném zvoleném médiu	Kolonie s černým středem a lehce průhlednou zónou načervenalé barvy v důsledku změny barvy média.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<10 kolonií v TSA	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Částečná inhibice <100 kolonií v TSA	

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

Rappaport F., Konforti N. a Navon B. (1956) J. Clin Pathol., 9 261. Peterz

M. Wiberg C. a Norberg P. (1989) J. Appl. Bact. 66: 523-528.

UNE-EN-ISO 6579. Mikrobiologie potravin pro lidskou spotřebu a krmiv. Horizontální metoda detekce Salmonella spp.

ISO 19250 Kvalita vody-Detekce Salmonella spp.

ISO 6579 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda detekce Salmonella spp. Změna 1: Širší rozsah inkubačních teplot, změna statusu přílohy D a oprava složení MSR/V a SC.