

RAPPAPORT VASSILIADIS SEMI-SOLID MEDIUM MODIFIED (MSRV)

NOVOBIOCIN ANTIMICROBIC SUPPLEMENT

Terreno di base e supplemento selettivo per la determinazione dei ceppi mobili di *Salmonella* negli alimenti, nei campioni ambientali, nel cioccolato e nei prodotti a base di cacao

FORMULE TIPICHE

Rappaport Vassiliadis Semi-Solid Medium Modified (MSRV) (g/l)

Triptosio	4.590
Idrolisato acido di caseina	4.590
Sodio cloruro	7.340
Potassio fosfato monobasico	1.470
Magnesio cloruro anidro	10.930
Verde malachite ossalato	0.037
Agar	2.700

Novobiocin Antimicrobial Supplement (fiala per 500 ml)

Novobiocina	10 mg
-------------	-------

PREPARAZIONE

Sospendere 15.8 g di MSRVS Medium in 500 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione. Non autoclavare. Raffreddare a 50°C ed aggiungere, con le precauzioni dell'asepsi, il contenuto di una fiala di Novobiocin Antimicrobial Supplement, ricostituita con 5 ml di acqua distillata sterile. Mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili. Lasciare asciugare le piastre all'aria per 1 ora. Il terreno di base è molto igroscopico. Tenere il flacone ben chiuso in ambiente non umido; maneggiare la polvere usando guanti e mascherina.

pH finale 5.2 ± 0.2

DESCRIZIONE

Il terreno Rappaport Vassiliadis Semi-Solid Medium Modified (MSRV) addizionato con Novobiocin Antimicrobial Supplement consente la determinazione, con metodo sensibile, di *Salmonella* in alimenti contaminati o in altri campioni quando la ricerca sia mirata ai ceppi mobili di *Salmonella*. Il terreno è raccomandato da IOCC/ISCM per la determinazione di *Salmonella* nel cacao e nel cioccolato. Il terreno è indicato dal Rapporto ISTISAN 96/35 per la subcoltura del brodo di pre-arricchimento per la ricerca di *Salmonella* nei molluschi.

L'uso di questo terreno preparato in accordo alla formulazione descritta da De Smedt e coll. (1986), consente di ottenere risultati migliori nell'isolamento di *Salmonella* (De Smedt e coll. 1991, Perales e coll. 1991), rispetto ai metodi tradizionali. Il principio del metodo si basa sulla capacità delle salmonelle di crescere e di migrare nel gel semi-solido dal punto d'inoculazione, più rapidamente rispetto ad altri microrganismi competitivi, producendo così un arricchimento e una differenziazione tra campioni che inducono la migrazione e campioni che non sviluppano questo fenomeno. Il terreno non risulta idoneo alla ricerca dei ceppi non mobili di *Salmonella* che si presentano comunque con incidenza molto bassa (inferiore allo 0.1%). Se si sospetta la presenza di ceppi non mobili si consiglia di seguire una metodica tradizionale con pre-arricchimento ed arricchimento selettivo. Il terreno risulta essere selettivo per la presenza concomitante di tre agenti selettivi: verde malachite, magnesio cloruro e novobiocina.

IMPIEGO

- Allestire il pre-arricchimento del campione in Buffered Peptone Water o in Skim Milk addizionato con 2 ml/l di soluzione all'1% di verde brillante (25 g di campione + 225 ml di brodo di pre-arricchimento).
 - Dopo 20 ore di incubazione a 37°C trasferire 3 gocce (circa 0.1 ml) in zone separate su piastra di MSR/V ed incubare a 42°C per 24 ore con le piastre non capovolte.
 - Trasferire 1 ml di brodo di pre-arricchimento incubato in 10 ml di Selenite Cystine Broth ed incubare a 37°C; trasferire anche 0.1 ml in 10 ml di Rappaport Vassiliadis Broth ed incubare a 42°C.
 - Dopo 8 ore di incubazione inoculare tre gocce di ciascun brodo selettivo su piastra di MSR/V in tre aree diverse; incubare in posizione non capovolta a 42°C per 24 ore
 - Verificare per la presenza di aloni di migrazione attorno al punto d'inoculo (presenza di *Salmonella*)
 - Rimuovere la crescita dai bordi della zona di migrazione per i test sierologici e biochimici di conferma
- Per maggiori dettagli consultare la pubblicazione di De Smedt e Bolderdijk: Collaborative Study of the International Office of Cocoa and Chocolate and Sugar Confectionary on the use of Motile Enrichment for Salmonella detection in cocoa and chocolate

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo produttività:

S.typhimurium ATCC 14028: crescita circondata da un alone

Controllo selettività

C.freundii ATCC 8090: crescita ristretta o nessuna crescita

Incubazione a 42°C per 16 ore

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. 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 della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Conservare il terreno in piastra preparato in laboratorio per un massimo di 5 giorni a 2-8°C

Supplemento selettivo: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere: il preparato qui descritto contiene magnesio cloruro ed è classificato come Xi (irritante) ai sensi della legislazione vigente. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'impiego.

Supplemento selettivo: il preparato qui descritto contiene novobiocina ed è classificato come Xi (irritante) ai sensi della legislazione vigente. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'impiego.

I prodotti qui descritti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- De Smedt, J.M. et al. (1986) J. Food Proct. 49, 510-514
- De Smedt, J.M. et al. (1991) Int. J. Food Microbiol. 13, 301-308
- IOCC/ISCM, Analytical Method 118, 1990. Microbiological Examination of Chocolate and other Cocoa Products; Draft Standard Method.
- De Smedt, J.M. et al. (1991) Int. J. Food Microbiol. 13, 301-308
- Perales, I. and Erkiaga, E. (1991) Int. J. Food Microbiol. 14, 51-58
- Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D. De Medici, L. Fenicia, L. Orefice e A. Stacchini.

CONFEZIONI

Terreno in polvere

4019822 Rappaport Vassiliadis Semi-Solid Medium Modified (MSR/V), 500 g (16 l)

Supplemento selettivo

4240045 Novobiocin Antimicrobial Supplement, 10 fiale ciascuna per 500 ml