



RAPPAPORT VASSILIADIS SEMI-SOLID MEDIUM MODIFIED (MSRV) NOVOBIOCIN ANTIMICROBIC SUPPLEMENT

Terreno di base in polvere e supplemento selettivo



Migrazione di *Salmonella* Typhimurium
su piastra di MSRV

DESTINAZIONE D'USO

Terreno di base in polvere e supplemento selettivo per l'arricchimento selettivo/isolamento dei ceppi mobili di *Salmonella* dai campioni della filiera alimentare.

FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA)*

Rappaport Vassiliadis Semi-Solid Medium Modified (MSRV)

Triptosio	4,6 g
Idrolisato acido di caseina	4,6 g
Sodio cloruro	7,3 g
Potassio fosfato monobasico	1,5 g
Magnesio cloruro anidro	10,9 g
Verde malachite ossalato	0,04 g
Agar	2,7 g

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche

CONTENUTO DEL FLACONE

Novobiocin Antimicrobic Supplement	
Novobiocina, sale sodico	10 mg

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il terreno Rappaport Vassiliadis Semi-Solid Medium Modified (MSRV) addizionato con Novobiocin Antimicrobic Supplement, originariamente descritto da De Smedt e coll. (1986) con una concentrazione di novobiocina di 20 mg/L, 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 ISO 6579, (novobiocina di 10 mg/L), per la determinazione di *Salmonella* nei campioni della filiera alimentare in alternativa al brodo RVS e come unico terreno di arricchimento selettivo per i campioni della fase primaria di produzione.

Il terreno è indicato dal Rapporto ISTISAN 96/35 (novobiocina di 20 mg/L) per la subcoltura del brodo di pre-arricchimento per la ricerca di *Salmonella* nei molluschi.

L'uso di questo terreno 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.

PREPARAZIONE

Sospendere 31,6 g di MSRV Medium in 1000 ml di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione. Non autoclavare. Raffreddare a circa a 47-50°C..

Metodo ISO 6579: ricostituire un flacone di Novobiocin Antimicrobic Supplement, con 5 ml di acqua purificata sterile ed aggiungere, con le precauzioni dell'asepsi, a 1000 ml di terreno di base (concentrazione finale di novobiocina: 10 mg/L).

Formula originale (De Smedt, J.M. et al. - ISTISAN 96/35): ricostituire due flaconi di Novobiocin Antimicrobic Supplement, ciascuno con 5 ml di acqua purificata sterile e, con le precauzioni dell'asepsi, aggiungere le soluzioni ottenute (10 ml) a 1000 ml di terreno di base (concentrazione finale di novobiocina: 20 mg/L).

Mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili. Lasciare asciugare le piastre all'aria per 1 ora.



Conservare il terreno in piastre non capovolte, per un massimo di 2 settimane, al buio a 5°C, preservando dall'essiccamento. Non capovolgere mai le piastre essendo il terreno semisolido.

CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, verde-blu
Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra	verde -blu limpido
pH (20-25°C)	5,2 ± 0,2

CARATTERISTICHE DEL SUPPLEMENTO SELETTIVO

Aspetto del liofilizzato	pastiglia bassa, compatta, bianca
Aspetto della soluzione	limpida incolore

MATERIALI FORNITI

Terreno di coltura in polvere Rappaport Vassiliadis Semi-Solid Medium Modified (MSRV) e supplemento selettivo Novobiocin Antimicrobial Supplement.

MATERIALI NON FORNITI

Bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

CAMPIONI

Campioni raccolti nelle diverse fasi della catena alimentare: alimenti inclusi il latte ed i prodotti lattiero-caseari, mangimi, area di produzione e manipolazione degli alimenti, feci animali ed altri campioni della prima fase di produzione ecc. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, la conservazione ed il trasporto in Laboratorio dei campioni e fare riferimento alle Norme ed agli Standard Internazionali applicabili.

PROCEDURA DELL'ANALISI E LETTURA DEI RISULTATI

- Allestire il pre-arricchimento del campione in Buffered Peptone Water ed incubare per 18 ± 2 ore a 36 ± 2°C.
- Trasferire 3 gocce (per un volume totale di 0,1 ml) in zone separate su piastra di MSRV ed incubare a 41,5 °C per 24 ± 3 ore, con le piastre non capovolte.
- Verificare per la presenza di aloni di migrazione torbidi, grigio-bianchi a partire dall'area dell'inoculo (presenza di *Salmonella*). Per i campioni della fase di produzione primaria, in caso di negatività protrarre l'incubazione per ulteriori 24 ± 3 ore
- Con un ansa da 1 µl rimuovere la crescita dai bordi più esterni della zona di migrazione, avendo cura di non asportare il terreno di coltura. Con tale ansa inoculare la superficie del terreno in piastra XLD Agar strisciando sui quattro quadranti della piastra per ottenere colonie isolate; procedere allo stesso modo con il secondo terreno di coltura per l'isolamento di *Salmonella*.

Per maggiori dettagli sul metodo di isolamento di *Salmonella*, consultare la norma ISO 6579.

CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto dei prodotti qui descritti sono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche.

E' comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE		SPECIFICHE
	T°/ T ATM		
Salmonella Enteritidis ATCC 13076	41,5 °C / 24-48 h A		Crescita con alone di migrazione diffuso dal punto di inoculo
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	41,5 °C / 24-48 h A		Crescita con alone di migrazione diffuso dal punto di inoculo
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	41,5 °C / 24-48 h A		Crescita inibita
<i>E. coli</i> ATCC 25922	41,5 °C / 24-48 h A		Crescita inibita o parzialmente inibita, senza alone

A: Aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I terreni in polvere devono essere manipolati con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza del terreno in polvere e del supplemento selettivo.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli ante e post mortem degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto qui descritto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare). Scaricare da sito web www.biolifeitaliana.it il documento con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alla TSE.



- Il terreno di coltura ed il supplemento selettivo qui descritti sono destinati ai controlli microbiologici, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Smaltire il terreno in polvere o agarizzato ed il supplemento selettivo non impiegati ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come materiali o componenti di fabbricazione.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a +10°C / +30°C al riparo della luce e dall'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi agglomerati).

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

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
- ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella -- Part 1: Detection of Salmonella spp
- 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

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Rappaport Vassiliadis Semi-Solid Medium Modified (MSRV),	Terreno in polvere	4019822	500 g (16L)
Novobiocin Antimicrobial Supplement	Supplemento	4240045	10 flaconi da 10 mg



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.