

ÁGAR MSRVR RAPPAPORT-VASSILIADIS (ISO) RAPPAPORT-VASSILIADIS (MSRV) MEDIUM SEMISOLID MODIFIED (7511)

Uso Previsto

Ágar MSRVR Rappaport-Vassiliadis é utilizado com Novobiocina para a detecção rápida de *Salmonella* spp. móveis.

Sumário e Explicação do Produto

Ágar MSRVR Rappaport-Vassiliadis é uma modificação do caldo de enriquecimento Rappaport-Vassiliadis para a detecção de *Salmonella* spp. móveis em fezes e produtos alimentícios.^{1,2} A pesquisa original do Meio MSRVR revelou que um meio semissólido poderia ser utilizado para um teste rápido e sensível no isolamento de *Salmonella* móvel em produtos alimentícios, a partir de um pré-enriquecimento ou enriquecimento seletivo.^{3,4} O meio semissólido permite a detecção da motilidade, indicada pelo crescimento ao redor do ponto de inoculação inicial, com a formação de um halo.

O Meio MSRVR é recomendado pela Associação Europeia de Fabricantes de Chocolate. Um estudo colaborativo entre o Instituto Americano de Pesquisa do Cacau e a Associação Canadense de Fabricantes de Chocolate resultou na adoção do Método MSRVR pela AOAC Internacional.⁵ O Meio MSRVR pode ser utilizado para o isolamento de *Salmonella* spp. (além de *S. typhi* e *S. partyphi* tipo A) em espécimes fecais com alta sensibilidade e especificidade.⁶

Princípios do Procedimento

Digestão Enzimática de Caseína e Hidrolisado Ácido de Caseína são as fontes de carbono e nitrogênio para o crescimento do organismo no Meio MSRVR. Cloreto de Sódio mantém o equilíbrio osmótico do meio. Cloreto de Magnésio aumenta a pressão osmótica e o Di-hidrogenofosfato de Potássio é o agente tamponante. Oxalato de Verde Malaquita inibe organismos que não sejam *Salmonella* spp. Novobiocina é adicionada como agente seletivo. O baixo pH do meio, combinado com a presença de Oxalato de Verde Malaquita e Novobiocina selecionam *Salmonella* spp., organismo altamente resistente. Ágar é o agente solidificante.

Fórmula / Litro

Digestão Enzimática de Caseína.....	4,59 g
Hidrolisado Ácido de Caseína.....	4,59 g
Cloreto de Sódio	7,34 g
Di-hidrogenofosfato de Potássio.....	1,47 g
Cloreto de Magnésio, Anidro	10,93 g
Oxalato de Verde Malaquita	0,037 g
Ágar	2,7 g

pH Final: 5,6 ± 0,2 a 25°C

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

Suplemento Novobiocina (7985)

Novobiocina, 20 mg

Precauções

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

Modo de Preparo

1. Suspenda 31,6 g do meio em 1 L de água purificada.
2. Aqueça, agitando frequentemente e ferva por 1 minuto para dissolver completamente o meio.
3. **NÃO AUTOCLAVE.**
4. Resfrie o meio até 45–50°C e adicione assepticamente 10 ml de Suplemento de Novobiocina (7985).
5. Misture bem e dispense nas placas de Petri.

Especificações do Controle de Qualidade

Aparência Desidratado: O pó é homogêneo, fluxo livre e bege azulado pálido a azul claro.

Aparência Preparado: O meio preparado é ligeiramente turvo e azul turquesa.

Resposta Esperada de Cultivo: Resposta de cultivo no meio incubado aerobicamente a 42°C e observado para crescimento após 18–24 horas.

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (Por gota)	Resultados Esperados	
		Crescimento	Motilidade
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC® 8090	> 10,000	Inibição parcial a completa	Nenhuma
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	> 10,000	Inibido	Nenhuma
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC® 13076	> 10,000	Crescimento	Halo
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	> 10,000	Crescimento	Halo

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

Procedimento do Teste^{5,7}

Pré-enriquecimento: Adicione 25 g de cacau ou chocolate em 225 mL de leite desnatado em pó reconstituído esterilizado com 0,45 mL de uma solução aquosa de corante verde brilhante 1%; misture bem.⁷ Incube a 35°C por 20 ± 2 horas.

Enriquecimento Seletivo: Inocule 10 mL de Caldo Tetrionato (pré-aquecido a 35°C) com 1 mL da cultura pré-enriquecida. Incube a 35°C por 8 ± 0,5 horas.

Enriquecimento Motilidade no MSR.V: Após a incubação no meio de enriquecimento seletivo, misture o caldo da cultura. Inocule 3 gotas em locais separados na placa de MSR.V. Incube a 42 ± 0,5°C por 16 ± 0,5 horas.

Resultados

Positivo: O crescimento das células que migraram é visível. Este crescimento aparece como uma zona turva, branca acinzentada, que se estende fora da gota inoculada. A amostra é considerada presuntivamente positiva para *Salmonella* spp. móveis.

Negativo: O meio permanece verde azulado ao redor da gota de inoculação, sem a zona turva branca acinzentada que se estende fora da gota. A amostra é considerada negativa para *Salmonella* spp. móveis.

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 podem inibir certas espécies de *Salmonella*, como *S. typhi* e *S. choleraesuis*. As técnicas de isolamento devem incluir uma variedade de caldos de enriquecimento e meios de isolamento.

Embalagem

Ágar MSRV Rappaport-Vassiliadis	N° Código	7511A	500 g
		7511B	2 kg
		7511C	10 kg
		7985	10 mL
Suplemento Novobiocina, 20 mg			

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. **DeSmedt, J. M., R. Bolderdijk, H. Rappold, and D. Lautenschlaeger.** 1986. Rapid *Salmonella* detection in food by motility enrichment on a modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis Medium. J. Food Prot. **49**:510-514.
4. **DeSmedt, J. M., and R. Bolderdijk.** 1987. Dynamics of *Salmonella* isolation with modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis Medium. J. Food Prot. **50**:658-661.
5. **DeSmedt, J. M., R. Bolderdijk, and J. Milas.** 1994. *Salmonella* detection in cocoa and chocolate by motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis Medium: a collaborative study. J. AOAC Int. **77**:365-373.
6. **Dusch, H., and M. Altwegg.** 1995. Evaluation of five new plating media for isolation of *Salmonella* spp. J. Clin. Micro. **33**:802-804.
7. **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.