

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

MSRV MEDIUM

PHÁT HIỆN *SALMONELLA* DI ĐỘNG

1 MỤC ĐÍCH

Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis Agar (MSRV) là một môi trường chọn lọc sử dụng để phân lập vi khuẩn *Salmonella* trong sô cô la và các sản phẩm thực phẩm khác. Nó cũng được sử dụng rộng rãi trong thú y: đặc biệt với động vật có vú, gia cầm và tại các cơ sở chăn nuôi. Nó cũng được đề nghị sử dụng để phát hiện *Salmonellae* di động trong phân động vật và trong các mẫu môi trường.

Môi trường này không dùng cho *Salmonellae* bất động (*Salmonella Gallinarum* và *Pullorum*).

Thành phần chính đáp ứng các tiêu chuẩn NF EN ISO 6579-1, NF U47-100, NF U47-101 và NF U47-102.

2 LỊCH SỬ

Thành phần của môi trường, được phát triển bởi De Smedt và cộng sự, có nguồn gốc từ Rappaport-Vassiliadis Broth, được làm bán rắn bằng cách thêm một lượng nhỏ agar. Tính chọn lọc của nó đã được sửa đổi bằng cách hạ thấp mức magiê clorua và bổ sung novobiocin ở mức 10 mg / L.

MSRV (ISO 6579) được sử dụng trong quy trình phát hiện *Salmonella* trong ngành chăn nuôi gia cầm (mẫu phân động vật và mẫu môi trường), đặc biệt là trong các trại sản xuất giống và trang trại cũng như phát hiện *Salmonella* với động vật có vú.

3 NGUYÊN TẮC

Hiệu quả vi khuẩn dựa vào năng lực của *Salmonellae* để chọn lọc di chuyển trong môi trường. Môi trường không phù hợp với *Salmonellae* bất động (*Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Pullorum*). Nếu nghi ngờ có sự hiện diện của các chủng này, các mẫu nuôi cấy với môi trường tiền xử lý phải được chuyển sang các môi trường thích hợp sử dụng các quy trình theo chuẩn thông thường. Nồng độ cao của magiê clorua và malachite green ức chế vi khuẩn gây bệnh. Việc bổ sung novobiocin ức chế lớn các vi khuẩn Gram dương và tránh được sự phát triển của *Proteus*. *Salmonella* tạo ra một vòng sáng mờ đục, phản ánh sự tăng trưởng.

4 THÀNH PHẦN

Các thành phần có thể được điều chỉnh để đạt được hiệu suất tối ưu.

Trong 1 lít môi trường:

- Enzymatic digest of animal and plant tissues4,6 g

- Acid hydrolysate of Casein.....	4,6 g
- Sodium chloride.....	7,3 g
- Monopotassium phosphate.....	1,5 g
- Magnesium chloride, anhydrous.....	10,9 g
- Malachite green (oxalate).....	0,04 g
- Novobiocin.....	0,01 g
- Bacteriological agar.....	2,70 g

pH của môi trường chuẩn bị sẵn ở 25 °C: 5,1-5,4.

Chú ý: Công thức này tương ứng với công thức đã hoàn thành được mô tả trong chú thích 2 của đoạn B.4.6.2 Chuẩn bị ở trang 8 của sửa đổi A1 của tiêu chuẩn NF EN ISO 6579-1.

For 31,7 g of dehydrated media BK191

- Enzymatic digest of plant and animal tissue.....	4,6 g
- Acid hydrolysate of casein.....	4,6 g
- Sodium chloride.....	7,3 g
- Monopotassium phosphate.....	1,5 g
- Magnesium chloride, anhydrous.....	10,9 g
- Malachite green (oxalate).....	0,04 g
- Novobiocin.....	0,01 g
- Bacteriological agar.....	2,70 g

For a vial of supplement BS056

- Novobiocin.....	40 mg
-------------------	-------

For 31,6 g of dehydrated base media BK134

- Enzymatic digest of plant and animal tissues.....	4,6 g
- Acid hydrolysate of casein.....	4,6 g
- Sodium chloride.....	7,3 g
- Monopotassium phosphate.....	1,5 g
- Magnesium chloride, anhydrous.....	10,9 g
- Malachite green (oxalate).....	0,04 g
- Bacteriological agar.....	2,70 g

For a vial of supplement BS033

- Novobiocin.....	10 mg
-------------------	-------

5 CHUẨN BỊ

Chuẩn bị từ môi trường khan BK191

- Hòa tan 31,7 g môi trường khan hoàn chỉnh (BK191) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử khoáng.
- Đun sôi từ từ và khuấy liên tục cho đến khi tan hoàn toàn.
- Không hấp tiệt trùng.
- Để nguội và duy trì môi trường ở trạng thái nóng chảy 44-47 °C.
- Đổ vào đĩa petri vô trùng và để đông trên bề mặt lạnh.
- Không lật ngược đĩa.

Chuẩn bị từ môi trường khan cơ bản (BK134) và chất bổ sung Novobiocin

- Hòa tan 31,6 g môi trường khan cơ bản (BK134) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử khoáng.
- Đun sôi từ từ và khuấy liên tục cho đến khi tan hoàn toàn.
- Không hấp tiệt trùng.
- Để nguội và duy trì môi trường ở trạng thái nóng chảy 44-47 °C.
- Hoàn nguyên 10 mg Novobiocin supplement (BS033) với 5 mL nước cất hoặc Novobiocin 40 mg supplement (BS056) với 20 mL nước cất.
- Trộn hoặc vortex để đảm bảo tan hoàn toàn, tránh tạo bọt.
- Thêm vô trùng 1 mL Novobiocin selective supplement vào 100 mL môi trường cơ bản chuẩn bị sẵn.

- Trộn đều.
- Đổ vào đĩa petri vô trùng và để đông trên bề mặt lạnh.
- Không lật ngược đĩa.

Sử dụng môi trường chuẩn bị sẵn:

- Làm tan môi trường (BM127)
- Làm nguội và duy trì môi trường ở 44-47 ° C
- Đổ vào đĩa Petri vô trùng và để cho rắn chắc trên một bề mặt lạnh, phẳng.
- Không đảo ngược đĩa.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Không làm khô các đĩa chuẩn bị như trên.
- Không đảo ngược đĩa
- Ủ ở $41,5 \pm 1$ ° C trong 24 ± 3 giờ. Nếu không quan sát được sự chuyển động, tiếp tục ủ thêm 24h nữa.

CHÚ Ý

Nếu nghi ngờ mẫu thử nghiệm có chứa chất ức chế tăng trưởng vi khuẩn, khi thực hiện kiểm soát khử trùng / làm sạch, có thể bổ sung chất trung hòa khử trùng thích hợp vào môi trường tiên tăng sinh.

Nếu nghi ngờ có sự hiện diện của *Salmonellae* không di động, các mẫu vi khuẩn thu được từ môi trường tiên tăng sinh nên được cấy vào môi trường thích hợp, theo các quy trình cụ thể.

7 KẾT QUẢ

Sự hiện diện của vòng sáng mờ trung tâm trên các điểm nuôi cấy là một giả định cho *Salmonella*. Nuôi cấy cấp 2 có thể được chuẩn bị bằng cách lấy một phần của khuẩn lạc từ mép ngoài của vòng để xác nhận độ tinh khiết và tiến hành thêm các xét nghiệm sinh hóa và huyết thanh.

Xem PHỤ LỤC 1: HỖ TRỢ HÌNH ẢNH.

8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Môi trường khan: bột xanh, đồng nhất và chảy tự do.

Novobiocin Supplements: viên trắng; sau khi pha cho ra dung dịch không màu trong suốt.

Môi trường pha sẵn hoàn chỉnh: thạch bán rắn màu xanh.

Phản ứng nuôi cấy điển hình sau 24h và ủ ở 41,5 ° C (NF EN ISO 11133):

Vi sinh vật		Tăng trưởng
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	Môi trường màu trắng đục với đường kính ≥ 30 mm
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030	Môi trường màu trắng đục với đường kính ≥ 30 mm
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Ức chế
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Ức chế

9 BẢO QUẢN

Môi trường khan: 2-30 °C.

Chất bổ sung đông khô: 2-8 °C

Môi trường chuẩn bị sẵn trong lọ: 2-8 °C.

Hạn sử dụng được ghi trên nhãn dán.

Chất bổ sung đã thêm nước (*): 30 ngày ở 2-8 °C

Môi trường đồ đĩa (*): 15 ngày ở 2-8 °C, tránh ánh sáng.

(*) Giá trị chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

10 ĐÓNG GÓI

Môi trường khan hoàn chỉnh

Chai 500 g.....BK191HA

Môi trường khan cơ bản (không có Novobiocin):

Chai 500 g.....BK134HA

Novobiocin Selective Supplement:

10 x 10 mg/ lọBS03308

8 x 40 mg/ lọBS05608

Môi trường chuẩn bị sẵn:

10 x 200 mL/ lọBM12708

11 THAM KHẢO

De Smedt, J.M., Bolderdijk, R.F., Rappold, H. and Lautenschlaeger, D.. 1986. Rapid *Salmonella* detection in foods by motility enrichment on a Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis medium. Journal of Food Protection, **49** : 510- 514.

De Smedt, J.M. and Bolderdijk, R.F.. 1987. Dynamics of *Salmonella* isolation with Modified Semi-Solid Rappaport- Vassiliadis medium. Journal of Food Protection, **50** : 658-661.

Bolderdijk, R.F. and Milas, J.E.. 1996. *Salmonella* detection in dried milk products by motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium: collaborative study. Journal of AOAC International, **79** : 441-450.

VOoght N., Raes, M., Wannet, W.J.B., Henken, A.M. and van de Giessen, A.W.. 2001. Comparison of selective enrichment media for the detection of *Salmonella* in poultry faeces. Letters in Applied Microbiology, **32** : 89-92.

NF U47-100. Juillet 2007. Méthodes d'analyse en santé animale. Recherche par l'isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales.

NF U47-101. Novembre 2007. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les oiseaux.

NF U47-102. Janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture (Tirage 2 (2016-01-01)).

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : recherche des *Salmonella* spp..

NF EN ISO 6579-1/A1. March 2020. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* - Part 1 : detection of *Salmonella* spp. - Amendment 1 Broader range of incubation temperatures, amendment to the status of Annex D, and correction of the composition of MSRV and SC.

Thông tin được cung cấp trên nhằm được ưu tiên hơn các công thức hoặc hướng dẫn mô tả trong tài liệu này và có thể sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần cảnh báo.

Mã tài liệu : MSRV MEDIUM_ENv12

Ngày tạo : 03-2007

Cập nhật : 06-2020

Nguồn gốc sửa đổi : Tuân thủ tiêu chuẩn NF EN ISO 6579-1 / A1

PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH HỖ TRỢ

MSRV MEDIUM

Phát hiện *Salmonella*.

Salmonella Typhimurium

Khuẩn lạc đặc trưng: màu trắng, xuất hiện một quang mờ đục tập trung vào điểm cấy

Kết quả:

Tăng trưởng sau 24h và ủ ở 41.5 °C.

Immobile Enterobacteriaceae

Khuẩn lạc đặc trưng: không xuất hiện quang đục; chỉ phát triển ở trung tâm điểm cấy.

