



## ÁGAR RAPPAPORT-VASSILIADIS MODIFICADO (MSRV)

### DETECÇÃO DE SALMONELLA

#### USO

Ágar Rappaport-Vassiliadis Semissólido Modificado (MSRV) é um meio seletivo, utilizado para o isolamento de *Salmonella* em alimentos.

Também é recomendado para testes de *Salmonella* em saúde animal e amostras ambientais.

O meio não é adequado para *Salmonella* Gallinarum e Pullorum.

A fórmula padrão atende à composição definida na norma NF EN ISO 6579-1 / A1, NF U47-100, NF U47-101 e NF U47-102.

#### HISTÓRIA

Desenvolvido por De Smedt *et al.*, a composição do meio é derivada daquela do caldo Rappaport-Vassiliadis, que se torna semissólido pela adição de uma pequena quantidade de ágar. Sua seletividade é reajustada diminuindo o nível de cloreto de magnésio presente neste caldo e adicionando novobiocina a um nível de 10 mg / L.

O ágar MSRV (ISO 6579) é usado para a detecção de *Salmonella* em amostras colhidas no ambiente (fezes de animais e amostras ambientais) de fazendas e incubatórios, bem como para a detecção de *Salmonella* em aves e mamíferos.

#### PRINCÍPIOS

A eficácia bacteriológica é baseada na capacidade da *Salmonella* em desenvolver seletivamente no meio de cultura.

O meio não é adequado para *Salmonella* imóveis (*Salmonella* Gallinarum, Pullorum e algumas cepas de Typhimurium).

Bactérias contaminantes são inibidas pela alta concentração de cloreto de magnésio, bem como pela presença de verde malaquita.

A novobiocina pode inibir a maioria dos microrganismos Gram-positivos e prevenir o desenvolvimento de *Proteus*.

*Salmonella* produz um halo opaco característico da cultura.

#### COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

- Digestão enzimática de tecidos animais e vegetais ..... 4,6 g
- Hidrolisado ácido de caseína ..... 4,6 g
- Cloreto de Sódio ..... 7,3 g
- Fosfato monopotássico ..... 1,5 g
- Cloreto de magnésio anidro ..... 10,9 g
- Verde malaquita (oxalato) ..... 0,04 g
- Novobiocina ..... 0,01 g
- Ágar bacteriológico ..... 2,70 g

pH do meio pronto a 25°C: 5,1-5,4.



NOTA: esta fórmula corresponde à fórmula completa descrita na nota 2 do parágrafo B.4.6.2  
Preparação na página 8 da alteração A1 da norma NF EN ISO 6579-1.

**Para 31,7 g de meio BK191 desidratado**

- Digestão enzimática de tecidos animais e vegetais ..... 4,6 g
- Hidrolisado ácido de caseína ..... 4,6 g
- Cloreto de Sódio ..... 7,3 g
- Fosfato monopotássico ..... 1,5 g
- Cloreto de magnésio anidro ..... 10,9 g
- Verde malaquita (oxalato) ..... 0,04 g
- Novobiocina ..... 0,01 g
- Ágar bacteriológico ..... 2,70 g

**Para 31,6 g de meio de base desidratado BK134**

- Digestão enzimática de tecidos animais e vegetais ..... 4,6 g
- Hidrolisado ácido de caseína ..... 4,6 g
- Cloreto de Sódio ..... 7,3 g
- Fosfato monopotássico ..... 1,5 g
- Cloreto de magnésio anidro ..... 10,9 g
- Verde malaquita (oxalato) ..... 0,04 g
- Ágar bacteriológico ..... 2,70 g

**Para um frasco de suplemento BS056**

- Novobiocina..... 40 mg

**Para um frasco de suplemento BS033**

- Novobiocina ..... 10 mg

**PREPARAÇÃO**

**Do meio completo BK191**

- Suspender 31,7 g de meio completo desidratado (BK191) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve o meio para ferver com agitação constante até sua completa dissolução.
- **Não autoclavar.**
- Resfriar e manter o meio a 44-47°C.
- Despejar em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria.

|                                    |
|------------------------------------|
| - Reconstituição:<br>37,7 g/L      |
| - Esterilização:<br>Não autoclavar |

**De meio desidratado básico (BK134) e suplemento de Novobiocina**

- Suspender 31,6 g de meio de base desidratado (BK134) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve o meio para ferver com agitação constante até sua completa dissolução.
- **Não autoclavar.**
- Resfriar e manter o meio a 44-47°C.

|                                    |
|------------------------------------|
| - Reconstituição:<br>36,1 g/L      |
| - Esterilização:<br>Não autoclavar |



- Reconstituir o suplemento de 10 mg de Novobiocina (BS033) com 5 mL de água estéril ou o suplemento de Novobiocina 40 mg (BS056) com 20 mL de água estéril.
- Agitar no vortex para garantir a dissolução completa, evitando formação de espuma.
- Adicionar 1 mL de suplemento seletivo de Novobiocina sob condições estéreis para 100 mL de meio de base.
- Homogeneizar.
- Despejar em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria.

|  |
|--|
| - Reconstituir:<br>5 mL de água estéril BS033<br>20 mL de água estéril BS056 |
| - Adição à base:<br>1 mL / 100 mL  |

#### Uso do meio pronto para liquefazer:

- Derreter o meio pronto (BM127) pelo tempo mínimo necessário para sua total liquefação.
- Resfriar e manter o meio a 44-47°C.
- Despejar em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria.

### INSTRUÇÃO DE USO

- Inocular três gotas (aproximadamente 0,1 mL) da cultura obtida a partir de pré-enriquecimento, no centro da placa.
- Incubar a  $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$  por  $24 \pm 3$  horas. Tendo em vista a ausência de viragem, a incubação será eventualmente estendida por 24 horas adicional.

|   |
|---|
| - Semeando:<br>3 gotas no centro da placa   |
| - incubação:<br>24 h a $41,5^\circ\text{C}$ |

#### NOTA

- Se a amostra conter inibidor de crescimento bacteriano ou quando realiza análise controle de desinfecção / limpeza, pode ser útil adicionado ao meio de pré-enriquecimento agentes neutralizantes.

### LEITURA

O desenvolvimento de um halo opaco esbranquiçado ao redor do crescimento (ponto de inoculação) indica presença de *Salmonella*.

As subculturas podem ser realizadas pegando uma fração da cultura da borda externa do halo para confirmar a pureza e realizar testes bioquímicos e sorológicos adicionais.

Consulte o ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

### CONTROLE DE QUALIDADE

**Meio desidratado:** pó azul e homogêneo.

**Suplementos de novobiocina:** liofilizado é branco, após reconstituído possui coloração incolor e límpida.

**Meio preparado (completo):** ágar azul, semi-sólido.

Resultado do cultivo após 24 horas de incubação a  $41,5^\circ\text{C}$  (NF ISO 11133):

| Microrganismos                |            | Crescimento                                      |
|-------------------------------|------------|--|
| <i>Salmonella</i> Typhimurium | WDCM 00031 | Cultura esbranquiçada, opaca, $\geq 30\text{mm}$ |
| <i>Salmonella</i> Enteritidis | WDCM 00030 | Cultura esbranquiçada, opaca, $\geq 30\text{mm}$ |
| <i>Escherichia coli</i>       | WDCM 00013 | Inibido  |



*Enterococcus faecalis*

WDCM 00087

Inibido

### **ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA**

**Meio desidratado:** 2-30°C.

**Suplementos liofilizados:** 2-8°C

**Meio pronto para liquefazer em frascos:** 2-8°C.

As datas de validade são mencionadas nas etiquetas.

**Suplemento reidratado (\*):** 30 dias a 2-8°C

**Meio preparado em placas (\*):** 15 dias a 2-8°C, protegido da luz.

(\*) Valor indicativo determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

### **APRESENTAÇÃO**

#### **Meio desidratado completo**

Frasco de 500 g ..... BK191HA

#### **Meio desidratado básico (sem Novobiocina):**

Frasco de 500 g ..... BK134HA

#### **Suplemento Seletivo de Novobiocina:**

Caixa de 10 frascos de 10 mg ..... BS03308

Caixa com 8 frascos de 40 mg ..... BS05608

#### **Meio pronto para liquefazer**

Embalagem com 10 frascos de 200 mL ..... BM12708

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

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.

Voogt 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. Mars 2020. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche,

le dénombrement et le sérotypage des Salmonella - Partie 1: Recherche des Salmonella P spp.- Amendement 1: Extension de la plage de températures pour l'incubation, amendement du statut de l'Annexe D et correction de la composition des milieux MSRV et SC.

### **OUTRAS INFORMAÇÕES**

As declarações feitas nas etiquetas têm precedência sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: MSRV GELOSE\_FR\_V15

Data de criação: 03-2007

Data de revisão: 06-2020

Motivo da revisão: Conformidade com a norma NF EN ISO 6579-1 / A1

### **ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO**

#### **Ágar MSRV**

Detecção de *Salmonella*.

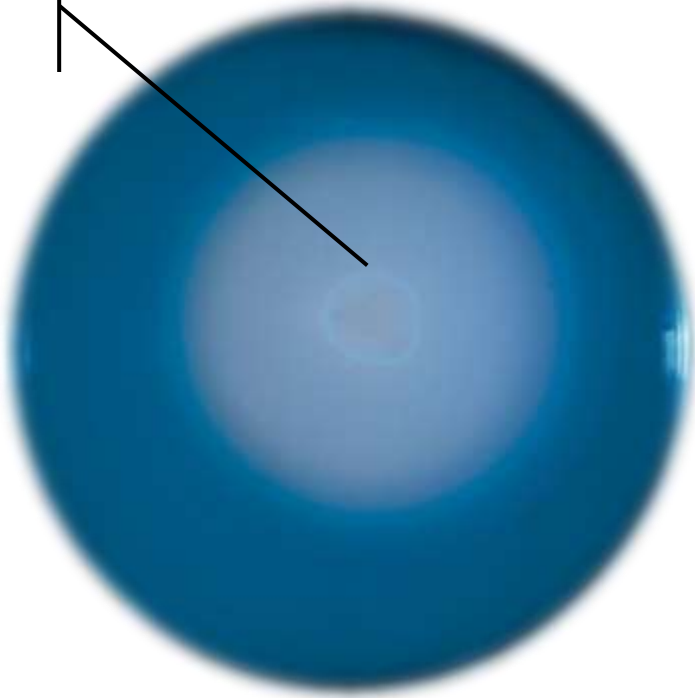
#### **Leitura:**

Crescimento obtido após 24 horas de incubação a 41,5°C

***Salmonella Typhimurium***

Característica da colônia:

Cor esbranquiçada, presença de um halo opaco ao redor do ponto de inoculação.



***Enterobacteriaceae imóvel***

Característica da colônia:

Ausência de halo opaco; crescimento concentrado apenas no ponto de inoculação.

