

Medio Semisólido Modificado Rappaport Vassiliadis (MSRV) ISO

Cat. 1376

Para la detección de especies móviles de Salmonella a partir de muestras alimentarias y medioambientales.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Enriquecimiento selectivo	Salmonella

Industria: Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 6579

Principios y usos

Medio Semisólido Modificado Rappaport Vassiliadis (MSRV) es un medio selectivo utilizado para la detección rápida de Salmonella spp móvil.

Es una modificación del caldo de enriquecimiento Rappaport Vassiliadis para la detección de Salmonella spp. móvil en heces, productos alimenticios y muestras ambientales. En este medio, la detección principal se basa en la motilidad y la capacidad de Salmonella para migrar a través de un medio selectivo por delante del microorganismo móvil competidor, por lo que produce halos opacos de crecimiento.

La movilidad de otros microorganismos está inhibida por medios selectivos (como el cloruro de magnesio, el oxalato verde de malaquita y la novobiocina), así como por la temperatura de incubación a 42 °C.

La triptosa y la peptona de caseína ácida proporcionan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. El cloruro de magnesio y el oxalato verde de malaquita son inhibidores de otros organismos distintos de Salmonella spp. La novobiocina es un agente selectivo que inhibe las bacterias gram positivas y evita el desarrollo de Proteus.

Este medio no es adecuado para la detección de cepas no móviles de Salmonella cuya presencia es muy baja (= 1%).

Se recomienda realizar pruebas serológicas y bioquímicas para la confirmación de especies de Salmonella.

Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	2,7	Cloruro magnésico anhidro	10,9
Novobiocina	0,01	Dihidrogenofosfato de potasio	1,5
Cloruro sódico	7,3	Digerido enzimático de plantas y tejido animal	4,6
Verde de malaquita oxalato	0,04	Hidrolizado de caseína ácido	4,6

Preparación

Suspender 31,6 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento agitando con frecuencia. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Evitar el exceso de calor. NO AUTOCLAVAR. Dispensar en placas de Petri.

Instrucciones de uso

* Para la detección de Salmonella spp. en alimentos, alimentos para animales, heces de animales y muestras ambientales de acuerdo a ISO 6579:

- Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo:

Inocular el Agua Peptonada Tamponada (Cat. 1402) con la muestra o diluciones, e incubar a 34-38 °C durante 18±2 h.

- Enriquecimiento en medios selectivos:

Inocular, con el cultivo obtenido en la etapa de pre-enriquecimiento, El Caldo Soja Rappaport (Vassiliadis) (Cat. 1174) o en el Medio Semisólido Rappaport Vassiliadis Modificado (MSRV) (Cat. 1376), y el Caldo MKTTN (Cat. 1173).

El Caldo Soja Rappaport y el Medio Semisólido Rappaport Modificado se incuban a 41,5 °C durante 24±3 h, y el Caldo MKTTN a 34-38 °C durante 24±3 h.

- Plaqueo en medios sólidos selectivos:

A partir de los cultivos enriquecidos selectivamente, inocular dos agares de aislamiento selectivo; Agar XLD (Cat. 1274) y cualquier otro medio selectivo complementario al agar XLD (Agar cromogénico de Salmonella (Cat. 1122), Agar Verde Brillante (Cat. 1143), Agar Bismuto Sulfito (Cat. 1011), Agar DCLS (Cat. 1045), Agar Citrato Desoxicolato (Cat. 1067), Agar Hektoen Entérico (Cat. 1030), Agar Salmonella Shigella (Cat. 1064) y Agar XLT4 (Cat. 1159)).

Incubar las placas de XLD invertidas a 34-38 ° C durante 24±3 h.

Incubar el segundo medio selectivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- Confirmación:

Subcultivar colonias presuntivas de Salmonella y confirmar su identidad mediante pruebas bioquímicas y serológicas.

Nota: De acuerdo con el Anexo D de ISO 6579-1: 2017, para la detección de subespecies entéricas serovares Typhi y Paratyphi, se debe añadir el medio Caldo Selenito Cistina (Cat. 1220) como medio de enriquecimiento selectivo y el Agar Bismuto Sulfito (Wilson Blair) debe seleccionarse como segundo medio selectivo (Cat. 1011).

* Para la detección de Salmonella spp. en muestras de agua de acuerdo a ISO 19250:

- Preenriquecimiento en medio no selectivo:

Inocular el Agua Peptonada Tamponada (Cat. 1402) con la muestra o diluciones, e incubar a 34-38 °C durante 18±2 h.

- Enriquecimiento en medios selectivos:

Inocular, con el cultivo obtenido en la etapa de preenriquecimiento, el Caldo Soja Rappaport (Vassiliadis) (Cat. 1174) y el Caldo MKTTN (Cat. 1173). El Caldo Soja Rappaport se incuba a 41,5±1 °C y el Caldo MKTTN a 34-38 °C, ambos durante 24±3 h.

- Plaqueo en medios sólidos selectivos:

A partir de los cultivos enriquecidos selectivamente, inocular dos agar de aislamiento selectivo; Agar XLD (Cat. 1274) y cualquier otro medio selectivo complementario al agar XLD (Por ejemplo, Agar Brillante Verde (Cat. 1143) o Agar Sulfito Bismuto (Cat. 1011))

Incubar las placas XLD invertidas a 34-38 °C durante 24±3 h.

Incubar el segundo medio selectivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- Confirmación:

Subcultivar colonias presuntivas de Salmonella y confirmar su identidad mediante pruebas bioquímicas y serológicas.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Azul	5,1-5,4

Test microbiológico

Según la ISO 11133:

Condiciones de incubación: (41,5±1 °C / 24±3 h).

Condiciones de inoculación: Productividad cualitativa (10³-10⁴ CFU) / Selectividad (10⁴-10⁶ CFU) / Especificidad (10³-10⁴ CFU).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Salmonella enteritidis ATCC 13076	Zona turbia blanca grisácea que se extiende hacia afuera desde el inóculo. Tras 24-48 h la zona turbia se habrá extendido completamente.	Colonias características tras subcultivo en XLD
Salmonella typhimurium ATCC 14028	Zona turbia blanca grisácea que se extiende hacia afuera desde el inóculo. Tras 24-48 h la zona turbia se habrá extendido completamente.	Colonias características tras subcultivo en XLD
Escherichia coli ATCC 25922	Posible crecimiento sin zona turbia	
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Ausencia de crecimiento	

Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C

Temp. Max.:25 °C

Bibliografía

De SMEDT et al.; Rapid Salmonella Detection in Foods by Motility Enrichment on a Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis Medium. J. Food Protect. Vol. 49, 7; 510-514 (1986).

De SMEDT, a. BOLDERDIJK, R.F.; Dynamics of Salmonella Isolation with Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis Medium. J. Food Protect. Vol. 50, 8; 658-661 (1987).

ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the 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.