



MSRV Agar

Selective enrichment medium for the detection of motile *Salmonella* according to ISO 6579.

DESCRIPTION

Modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) Agar is a medium used for the selective enrichment of motile *Salmonellae* from food and animal feed, environmental samples and samples from the primary production stage such as animal faeces, dust and swabs.

This medium meets the specifications for formulation and performance recommended by ISO 6579-1.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Enzymatic Digest of Animal and Plant Tissue	4.6
Acid Hydrolysate of Casein	4.6
Sodium Chloride	7.3
Potassium Dihydrogen Phosphate	1.5
Magnesium Chloride Anhydrous	10.9
Malachite Green Oxalate	0.04
Novobiocin Sodium Salt	0.01
Agar	2.7

Final pH 5.2 ± 0.1 at 25°C

METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of animal and plant tissue and acid hydrolysate of casein provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Potassium dihydrogen phosphate is the buffer. Magnesium chloride raises the osmotic pressure. Malachite green inhibits organisms other than *Salmonella* spp. Novobiocin is an antibiotic active mostly against Gram-positive bacteria. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

Medium in tubes/bottles To prepare plates from the tubed or bottled medium, it must first be melted as follow: Place the medium in its container in a water bath at 100°C (with slightly loose cap) until completely liquefaction. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the container upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation. Pour the medium into sterile Petri dishes up to a volume of 15-20 ml in dishes with a diameter of 90 mm.

TEST PROCEDURE

According to ISO 6579-1, the detection of *Salmonella* requires the following stages:

1. Pre-enrichment in non selective liquid medium
2. Enrichment in/on selective media
3. Plating out on selective solid media
4. Confirmation

For pre-enrichment, add the sample to Buffered Peptone Water (ref. 414020) at a ratio of 1:9 (e.g. 25 g per 225 ml), homogenize well and incubate at 34-38°C for 18 ± 2 h.

Inoculate MSRV agar plates with 0.1 ml of the pre-enrichment culture (inoculate 3 drops in three different spots, equally spaced on the medium surface). Incubate at 41.5 ± 1°C for 24 ± 3 h. Do not invert the plates.

NOTE: For selective enrichment, the individual laboratory can choose between using the RVS broth (ref. 24400) or the semi-solid MSRV agar, for food, animal feed samples and for environmental samples from the food production area. It is recommended to use MSRV agar for samples from primary production stage.

The pre-enrichment culture should also be used to inoculate MKTTn broth (ref. 20072) for food, animal feed samples and environmental samples.

To increase the detection of certain serovars of *Salmonella* (*Gallinarum*), Selenite Cystine medium (ref. 24485) can be used as an additional selective enrichment medium.

INTERPRETING RESULTS

On MSRV agar, a grey-white turbid zone extending out from the inoculated drop indicates a positive result for motile *Salmonella* spp. Negative plates, where the medium remains blue-green around inoculation drops, should be re-incubated for a further 24 ± 3 h (for samples from the primary production stage).

Subculture should be carried out from the positive plates, with the inoculum being taken from the furthest edge of the migration zone. Presumptive identification is achieved by subculture onto XLD agar (ref. 10056) to obtain well-isolated colonies. A second selective plating medium, such as Chromatic Salmonella (ref. 11614), should be used as well.

For detection of *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Paratyphi, there are indications of usage of Bismuth Sulphite agar (ref. 10446) in annex D of ISO 6579-1.

Characteristic presumptive *Salmonella* colonies should be confirmed by means of appropriate biochemical and serological tests.

APPEARANCE

Slightly opalescent, blue.

STORAGE

Store at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

2 years

QUALITY CONTROL

The medium is inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 10⁴ CFU.

Inoculum for selectivity: 10⁵-10⁶ CFU.

Incubation conditions: 2 x (24 ± 3 h) / 41.5 ± 1°C.

QC Table.

Microorganism		Specification
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030	Grey-white turbid zone extending out from inoculated drop(s). After 24-48 h the turbid zone(s) will be (almost) fully migrated over the plate
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	Grey-white turbid zone extending out from inoculated drop(s). After 24-48 h the turbid zone(s) will be (almost) fully migrated over the plate
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Possible growth at the place of the inoculated drops(s) without a turbid zone
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	No growth

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE









Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. ISO 6579-1:2017+Amd1:2020. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*. Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
2. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
3. 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.
4. DeSmedit 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.
5. 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.
6. Rappaport F., N. Konforti and B Navon (1956) A new enrichment medium for certain salmonellae. J. Clin. Pathol. 9:261-266.

PRESENTATION	Format	Packaging	Ref.
MSRV Agar	Tube	100 x 20 ml tubes	26478
MSRV Agar	Bottle	6 x 200 ml bottles	412310
MSRV Agar	Bottle	6 x 500 ml bottles	470380

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com



MSRV Agar

Terreno di arricchimento selettivo per la ricerca delle specie mobili di *Salmonella*, secondo ISO 6579.

DESCRIZIONE

Modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis (MSRV) Agar è un terreno utilizzato per l'arricchimento selettivo di *Salmonellae* mobili da alimenti e mangimi, campioni ambientali e campioni provenienti dalla fase di produzione primaria come feci animali, polvere e tamponi.

Questo terreno soddisfa le specifiche di formulazione e performance raccomandate dalla ISO 6579-1.

FORMULA TIPICA

	(g/l)
Digerito Enzimatico di Tessuto Animale e Vegetale	4.6
Idrolizzato Acido di Caseina	4.6
Sodio Cloruro	7.3
Potassio Diidrogenofosfato	1.5
Magnesio Cloruro Anidro	10.9
Verde Malachite Ossalato	0.04
Sale Sodico di Novobiocina	0.01
Agar	2.7

pH Finale 5.2 ± 0.1 a 25°C

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito enzimatico di tessuto animale e vegetale e l'idrolizzato acido di caseina caseina forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali. Il sodio cloruro il bilancio osmotico del terreno. Il potassio diidrogeno fosfato è il tampone. Il magnesio cloruro innalza la pressione osmotica. Il verde di malachite inibisce i microrganismi ad eccezione di *Salmonella* spp. La novobiocina è un antibiotico attivo contro la maggior parte dei batteri Gram positivi. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARAZIONE

Terreno in provette/flaconi Per preparare le piastre dal terreno in provette o flaconi, il terreno deve essere prima sciolto nel modo seguente: bagnomaria a 100°C (con i tappi leggermente svitati) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il contenitore dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare un volume di 15-20 ml in piastre Petri con un diametro di 90 mm.

PROCEDURA DEL TEST

Secondo la ISO 6579-1, la ricerca di *Salmonella* richiede le seguenti fasi:

1. Pre-arricchimento in terreno liquido non selettivo
2. Arricchimento in/su terreni selettivi
3. Coltura su terreni selettivi in piastra
4. Conferma

Per il pre-arricchimento, trasferire il campione in Buffered Peptone Water (ref. 414020) con rapporto 1:9 (ad esempio 25 g per 225 ml), omogenizzare bene ed incubare a 34-38°C per 18 ± 2 ore.

Inoculare le piastre di MSRV Agar con 0.1 ml della coltura di pre-arricchimento (dispensare 3 gocce su tre differenti punti equidistanti sulla superficie del terreno). Incubare a 41.5 ± 1°C for 24 ± 3 ore. Non invertire le piastre.

NOTA: Per l'arricchimento selettivo, ciascun laboratorio può scegliere tra l'utilizzo del brodo RVS (ref. 24400) o del terreno semi-solido MSRV, per alimenti, mangimi e campioni ambientali provenienti dalla fase di produzione primaria.

La coltura di pre-arricchimento dovrebbe essere utilizzata anche per inoculare il brodo MKTTn (ref. 20072) per alimenti, mangimi e campioni ambientali.

Per aumentare la capacità di rilevazione di alcuni serovar di *Salmonella* (*Gallinarum*), si può utilizzare il Selenite Cystine medium (ref. 24485) come ulteriore terreno di arricchimento selettivo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Su MSRV agar, un alone torbido di colore grigio-bianco che si estende dai punti inoculati indica una reazione positiva per la presenza di specie di *Salmonella* mobili. Le piastre negative, dove il terreno attorno ai punti di inoculazione rimane blu-verde, dovrebbero essere re-incubate per ulteriori 24 ± 3 ore (per campioni provenienti dalla fase di produzione primaria).

Dalle piastre risultate positive è opportuno effettuare una subcoltura prelevando la crescita dal bordo estremo dell'alone di migrazione. L'identificazione presuntiva è ottenuta inoculando su XLD agar (ref. 10056) in modo da ottenere colonie ben separate. Ripetere l'operazione utilizzando un secondo terreno solido per *Salmonella* come Chromatic *Salmonella* (ref. 11614).

Confermare le colonie presuntive attraverso test biochimici e sierologici appropriati.

ASPETTO

Blu, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

Conservare a $10-25^{\circ}\text{C}$ al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

2 anni.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il terreno viene inoculato con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 10^4 UFC.

Inoculo per selettività: 10^5-10^6 UFC

Condizioni di incubazione: $2 \times (24 \pm 3 \text{ ore}) / 41.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Tabella CQ.

Microrganismo		Specifiche
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030	Alone grigio-bianco torbido che si estende dai punti inoculati. Dopo 24-48 ore le zone torbide saranno migrate quasi completamente sulla piastra
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	Alone grigio-bianco torbido che si estende dai punti inoculati. Dopo 24-48 ore le zone torbide saranno migrate quasi completamente sulla piastra
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Possibile crescita nei punti inoculati senza alone torbido
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Nessuna crescita

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso in ambito professionale e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI









Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

- ISO 6579-1:2017+Amd1:2020. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*. Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
- EN ISO 11133:2014+Amd1:2018. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- 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.
- DeSmedit 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.
- 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.
- Rappaport F., N. Konforti and B Navon (1956) A new enrichment medium for certain salmonellae. J. Clin. Pathol. 9:261-266.

PRESENTAZIONE	Formato	Confezionamento	Ref.
MSRV Agar	Provette	Provette 100 x 20 ml	26478
MSRV Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 200 ml	412310
MSRV Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 500 ml	470380

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT	Codice del lotto	 Tenere al riparo dalla luce	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF	Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com