

Base de Caldo Muller-Kauffmann con Verde Brillante y Novobiocina (MKTTN) ISO

Cat. 1173

Para enriquecimiento selectivo de Salmonella.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Enriquecimiento	Salmonella

Industria: Aguas de consumo / Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 19250 / ISO 6579



Principios y usos

Base de Caldo Muller-Kauffmann con Verde Brillante y Novobiocina (MKTTN) está recomendada por la norma ISO 6579 e ISO 19250 para ser utilizada como caldo de enriquecimiento selectivo para la detección de *Salmonella* spp en todos los tipos de alimentos, incluyendo leche y productos lácteos, moluscos y otros pescados, y en muestras de agua e hisopos ambientales.

El extracto de carne y la peptona de caseína proporcionan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El carbonato de calcio es un neutralizador que absorbe los metabolitos tóxicos. Las sales biliares, verde brillante y novobiocina inhiben otros organismos distintos de *Salmonella*. La selectividad también se obtiene mediante tiosulfato de sodio y tetrionato, suprimiendo los coliformes. El tetrionato se forma en el medio con la adición de la solución de yodo y yoduro de potasio. Los organismos que contienen la enzima tetrionato reductasa prosperarán en este medio. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico.

Fórmula en g/L

Digerido enzimático de caseína	8,6	Extracto de carne	4,3
Verde brillante	0,0096	Carbonato cálcico	38,7
Novobiocina	0,04	Bilis de buey	4,78
Cloruro sódico	2,6	Tiosulfato de sodio	30,5

Preparación

Suspender 89.53 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Evitar el exceso de calor. NO AUTOCLAVAR. Enfriar a 45-50 °C. Añadir asepticamente 20 ml de una solución de yodo y yoduro de potasio (20 g de yodo y 25 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua destilada estéril). Homogeneizar suavemente y dispensar en recipientes estériles.

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 pre-enriquecimiento, el Caldo Soja Rappaport (Vassiliadis) (Cat. 1174) y el Caldo MKTTN (Cat. 1173).

El Caldo Soja Rappaport se incubaba 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 Verde Brillante (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	Blanco	Azul-verde	8,0 ± 0,2

Test microbiológico

De acuerdo a ISO 11133

Condiciones de incubación: (34-38 °C / 24±3 h).

Condiciones de inoculación: Microorganismos objetivo (<100 CFU) / Microorganismo no objetivo (> 1000 CFU) / Selectividad (10⁴-10⁶ CFU).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
<i>Salmonella</i> typhimurium ATCC 14028 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	> 10 colonias en XLD o otro medio elegido	Colonias con centro negro y una zona clara y transparente de color rojizo debido al cambio de color del medio
<i>Salmonella</i> enteritidis ATCC 13076 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	> 10 colonias en XLD o otro medio elegido	Colonias con centro negro y una zona clara y transparente de color rojizo debido al cambio de color del medio.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<10 colonias en TSA	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Inhibición parcial <100 colonias en TSA	

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C

Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp

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 MSR and SC.
Kauffmann, F. 1935. Weitere erfahrungen mit dem kombinierten anreicherungsverfahren fur Salmonella bazillen. Ztschr. F. Hyg. 117: 26-32.
ISO 19250 water quality-detection of Salmonella spp

DOMINIQUE DUTSCHER SAS