

Especificación

Medio de enriquecimiento selectivo para salmonelas, según la norma ISO 6579.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos			
Botella con 100 ml con: 100 ± 3 ml	1 caja con 10 botellas de 125ml, tapón metálico, No inyectable .	12 meses	8-25°C

Composición

Composición (g/l):

Sales biliares N.º 3.....	4,7800
Extracto de carne.....	4,3000
Peptona de caseína.....	8,6000
Cloruro sódico.....	2,6000
Carbonato cálcico.....	38,700
Tiosulfato sódico. 5 H ₂ O.....	47,800
Verde brillante.....	0,0096
Novobiocina.....	0,0400

Descripción/Técnica

El Caldo de Tetrathionato es un medio clásico para el enriquecimiento de patógenos intestinales, sobre todo los miembros de género *Salmonella*, a partir de materiales muy contaminados con otras bacterias, como heces, orina, aguas fecales, etc.

Durante la preparación, al añadir el yodo al medio de cultivo se forma tetrathionato a partir del sulfato y esta sal, junto con las sales biliares provoca una fuerte inhibición de la mayoría de bacterias intestinales, excepto aquellas capaces de reducir el tetrathionato, como las salmonelas. Esta reducción libera ácido sulfúrico, que queda neutralizado por el carbonato presente, impidiéndose así un fuerte descenso del pH, que sería perjudicial incluso para las salmonelas.

Sin embargo, muchas especies de *Proteus* resisten bien la concentración de sales biliares y además son capaces de reducir el tetrathionato, por lo cual muchos autores preconizan la adición simultánea de otros inhibidores, como verde brillante en solución al 0,1% que inhiben además a la microbiota Gram positiva o bien otras sustancias de acción más específica, como novobiocina en concentraciones comprendidas entre 4 y 40 mg/L.

Técnica:

El precipitado blanco es de carbonato cálcico y debe considerarse normal.

Recoger, diluir y preparar muestras y volúmenes según sea necesario de acuerdo a las especificaciones, directivas, reglamentos oficiales estándar y / o resultados esperados.

Proceder de acuerdo a la normativa UNE - ISO 6579 : 2017, inoculando las muestras de acuerdo a sus especificaciones.

Inmediatamente antes de inocular el medio Muller-Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth (MKTTn), suplementar los tubos/botellas con la solución Ioduro. Iodurada (49931900) a razón de:

2 ml de Sol. Yodo/Yoduro por cada 100 ml de medio base.

0.2 ml de Sol. Yodo/Yoduro por cada 10 ml de medio base.

Inocular asépticamente tubos o botellas con la muestra previamente preparada.

Incubar 24±3h a 37±1 °C.

Proceder a subcultivo para confirmar aislamiento de *Salmonella spp* en medios selectivos como XLD.

Cada laboratorio evaluará los resultados según especificaciones.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : Verde Azulado - Turbidez pH: $8 \pm 0,2$ a 25°C

Control de Fertilidad

Añadir suplementos c.s.p. funcionalidad - rango práctico 100 ± 20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad)/ 10^4 - 10^6 UFC (Selectividad).

Añadir 20ml/l de solución yodo yodurada

Aerobiosis. Incubación a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$, lectura a las 24 ± 3 h

Microorganismo

Enterococcus faecalis ATCC® 29212, WDCM 00087

Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012

S. typhimurium (14028) + *E. coli* (8739) + Ps. (27853)

S. enteritidis (13076) + *E. coli* (8739) + Ps. (27853)

Desarrollo

Parcialmente Inhibido; ≤ 100 UFC Recuperación en TSA

Parcialmente Inhibido; ≤ 100 UFC Recuperación en TSA

Çöln. caract. de *Salmonella* in XLD ($37^{\circ}\text{C} \pm 1$ / 24 ± 3 h) ≥ 10

Çöln. caract. de *Salmonella* in XLD ($37^{\circ}\text{C} \pm 1$ / 24 ± 3 h) ≥ 10

Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30 - 35°C y 48 horas a 20 - 25°C : SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

Bibliografía

- DIN Standard 10160 Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen: Nachweis von Salmonellen. Referenzverfahren.
- DIN Standard 10181 Mikrobiologische Milchuntersuchung: Nachweis von Salmonellen. Referenzverfahren.
- DOWNES, F.P. & K.I.TO (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. APHA. Washington. DC. USA.
- FDA (Food and Drug Administrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. Revision A. AOAC International. Gaithersburg. MD. USA.
- FIL-IDF Standard 93 (2001) Milk and milk products: Research of *Salmonella*.
- HORWITZ, W. (2000) Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC International. Gaithersburg. MD. USA.
- ISENBERG, H.D. (1992) Clinical Microbiology Procedures Handbook. Vol. 1. APHA. Washington. DC. USA.
- ISO Standard 6579-1 (2017) Microbiology of food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* - Part 1 : Detection of *Salmonella* spp.
- ISO Standard 6785 (2001) Milk and Milk Products - Detection of *Salmonella* spp.
- ISO Standard 3565 (1975) Meat Products: Reference Method for detection of Salmonellae.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- KAUFFMAN, F. (1931) Ein Kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus und Paratyphus Bazillen. Zblt. Bakt Microbiol. Hyg Abt. I. Orig. 119:148.
- MARSHALL, R.T. (1993) Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed. APHA Washington. DC. USA.
- MULLER, L. (1923) Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique est des partyphyques. Comp. Rend. Soc. Biol. 89:434-437.
- U.S. PHARMACOPOEIA (2002) 25th ed. <61> Microbial Limits Test. US Pharmacopeial Convention Inc. Rockville. MD. USA.