



CALDO MÜLLER-KAUFFMANN TETRATONATO-NOVOBIOCINA (MKTTn)

USO

O Caldo MKTTn é usado como um dos dois meios de enriquecimento seletivo, juntamente com o caldo RVS, para salmonelas em leite e laticínios (NF EN ISO 6785) e em outros produtos alimentícios seguindo o método horizontal descrito na norma ISO 6579. Associado com o meio MSRV, ele é também utilizado no protocolo para isolamento e identificação de *Salmonella* em ambientes de produção animal (NF U 47-100), em aves (NF U 47-101) e em mamíferos (NF U 47-102).

O caldo MKTTn é também usado como um segundo caldo de enriquecimento seletivo para a detecção de *Salmonella* em água seguindo o protocolo descrito na norma NF ISO 19250.

HISTÓRIA

O meio foi descrito por Müller em 1923 para favorecer a inibição de bactérias coliformes ao mesmo tempo em que permitia o desenvolvimento dos bacilos tífico e paratífico. Kauffmann modificou a fórmula e obteve um maior número de resultados positivos com este método de enriquecimento do que com o método direto de isolamento em meios seletivos despejados em placas.

PRINCÍPIOS

- Os sais biliares e o verde brilhante inibem principalmente o desenvolvimento de bactérias Gram-positivas.
- A produção do tetratonato resultante da ação da solução de iodo-iodeto sobre o tiosulfato sódico, inibe as bactérias coliformes e a maioria das bactérias intestinais.
- A novobiocina inibe o desenvolvimento de *Proteus*.
- O carbonato de cálcio neutraliza o ácido sulfúrico produzido quando o tetratonato é reduzido. O efeito resultante é manter o pH a um nível constante.

PREPARAÇÃO

- Suspender 89,4 g do meio desidratado (BK169) em 1 litro de água destilada ou deionizada.
- Lentamente levar a fervera com agitação.
- Continuar a fervera por 2 minutos.
- Não autoclavar.

INSTRUÇÕES PARA USO

- Resfriar o meio para 25°C.
- Dissolver 4 g de iodo em 20 mL de uma solução contendo 5 g de iodeto de potássio em um frasco estéril.
- Adicionar a solução de iodo-iodeto ao meio.
- Adicionar 5 mL da solução de novobiocina (1 frasco reconstituído de Suplemento Seletivo Novobiocina 40 mg BS056). A adição de novobiocina é opcional nas normas francesas NF U 47-100, NF U 47-101, e NF U 47-102.
- Misturar completamente.
- Não aquecer o meio uma vez preparado.
- Se necessário, ajustar o pH até o valor desejado, seguindo o protocolo utilizado.
- Assepticamente dispensar em tubos de 10 mL.
- Transferir a quantidade do inóculo requerido pelo protocolo escolhido para cada tubo, ou em tubos com meio completo pronto para uso BM078 (com iodo-iodeto e novobiocina) a partir do meio pré-enriquecido usado: Água Peptonada Tamponada (BK018, BK131, BM010, BM057, BM131, BM132).
- Incubar a uma quantidade de tempo e temperatura designada de acordo com o protocolo analítico escolhido.
- Isolar em ágar XLD (ISO 6579: BK168, BM087) e em um segundo meio de isolamento seletivo, com uma alça de platina.
- Usando colônias bem formadas, inocular em um ágar nutriente que sirva como ponto de partida para a identificação.

COMPOSIÇÃO TÍPICA do meio base, sem iodo e novobiocina

(pode ser ajustada para se obter um melhor desempenho)

Para 1 litro de meio:

- Triptona.....	8,6 g
- Extrato de carne.....	4,3 g
- Sais biliares	4,78 g
- Cloreto de sódio.....	2,6 g
- Carbonato de cálcio.....	38,7 g
- Tiosulfato sódico anidro	30,45 g
- Verde brilhante	9,6 mg

CONTROLE DE QUALIDADE

- Meio desidratado: pó esbranquiçado, de fluxo livre e homogêneo.
- Meio preparado (completo): suspensão azulada opaca, com precipitado abundante quando deixada em repouso.
- Típica resposta da cultura após enriquecimento por 24 horas a 37°C, seguido de subcultura em ágar XLD (ISO 6579):

Microrganismos	Crescimento
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC® 14028 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	≥ 10 colônias características (vermelhas com centro preto)
<i>Salmonella</i> Enteritidis CIP 82.97 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	≥ 10 colônias características (vermelhas com centro preto)
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	≤ 10 colônias inibido, valor 0

ESTOCAGEM / SHELF LIFE

Meio base desidratado: 2-30°C.

- A data de validade está indicada na etiqueta.

Meio preparado (valor de referência*):

- Meio base em tubos ou frascos: 1 mês entre 2-8°C, ao abrigo da luz.
- Meio completo em tubos ou frascos: usar imediatamente após a adição da solução de iodo-iodeto e novobiocina.

Suplemento Seletivo Novobiocina,

Meio completo pronto para uso em tubos:

- Armazenar entre 2-8°C, ao abrigo da luz.
- A data de validade está indicada na etiqueta.

EMBALAGEM

Código

Meio pronto para uso (completo) em tubos:

- 50 x 10 mL BM07808

Meio base desidratado (sem iodo e novobiocina):

- Frasco de 500 g BK169HA

Suplemento Seletivo Novobiocina 40 mg:

- Embalagem de 8 frascos BS05608

Suplemento Seletivo Novobiocina 10 mg:

- Embalagem de 10 frascos BS03308

BIBLIOGRAFIA

MÜLLER, L.. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. Comptes Rendus de la Société de Biologie, **89** : 434-437.

KAUFFMANN, F.. 1935. Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonella bazillen. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheit, **117** : 26-32.

JEFFRIES, L.. 1959. Novobiocin-tetrathionate broth: a medium of improved selectivity for the isolation of salmonellae in feces. Journal of Clinical Pathology, **12** : 568-571.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 6579 (V 08-013). Mars 2007. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

NF U 47-100. 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 U 47-101. 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 U 47-102. 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 6785 (V 04-031). Avril 2008. Lait et produits laitiers. Recherche de *Salmonella* spp.

NF ISO 19250 (T 90-435). Octobre 2010. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp.

*O valor de referência corresponde à vida de prateleira esperada quando preparados sob condições laboratoriais normais, seguindo as instruções do fabricante. É fornecido apenas como guia e sem garantia, expressa ou implícita associada com esta informação.

As informações fornecidas na embalagem procedem de formulações ou instruções descritas neste documento.

As informações e especificações contidas nesta ficha técnica datam de 12/10/2010.

Elas estão sujeitas a alterações a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: BK169/A/2003-07: 7.