

Caldo Rappaport Soja (Vassiliadis) ISO

Cat. 1174

Para el enriquecimiento selectivo de Salmonella.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Enriquecimiento selectivo	Salmonella

Industria: Aguas de consumo / Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 19250 / ISO 6579

Principios y usos

El Caldo Soja Rappaport (Vassiliadis) está recomendado por ISO 6579 e ISO 19250, después de la etapa de enriquecimiento previo, para el aislamiento selectivo de Salmonella spp.

Vassiliadis modificó el medio Rappaport reduciendo la concentración de verde de malaquita y aumentando la temperatura de incubación, ofreciendo así una mejor estabilidad del pH del medio preparado y optimizando la concentración de cloruro de magnesio, lo que resultó en una mejor recuperación de Salmonella.

La peptona de soja proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. Los fosfatos de potasio equilibran el bajo pH del medio, combinado con la presencia de cloruro de magnesio para elevar la presión osmótica, y el verde de malaquita para inhibir otros organismos. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico.

Fórmula en g/L

Fosfato dipotásico	0,18	Cloruro magnésico anhidro	13,4
Verde de malaquita	0,036	Fosfato monopotásico	1,26
Cloruro sódico	7,2	Peptona de soja	4,5

Preparación

Suspender 26,6 gramos del medio en 1 litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento con agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Dispensar en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 115 °C durante 15 minutos. NO SOBRECALENTAR.

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 Paratiphy, se debe añadir el medio Caldo Selenito Cistina (Cat. 1220) como medio de enriquecimiento selectivo y el Agar Bismuto Sulfitor (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	Povo fino	Beige	Azul	5,2±0,2

Test microbiológico

De acuerdo a la ISO 11133
Condiciones de incubación: (41,5±1 °C / 24±3 h).
Condiciones de inoculación: Productividad cualitativa (<100 CFU) / Selectividad (10⁴-10⁶ CFU).

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

Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C
Temp. Max.:25 °C

Bibliografía

Rappaport F., Konforti N. and Navon B. (1 956) J. Clin Pathol., 9,261.
Peterz M. Wiberg C. and Norberg P. (1989) J. Appl. Bact. 66: 523-528.
UNE-EN-ISO 6579. Food Microbiology for human consumption and Animal Feed. Horizontal Method for the detection of Salmonella spp.
ISO19250 Water quality-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 MSRV and SC.