

DỮ LIỆU KỸ THUẬT

BRILLIANT GREEN BILE BROTH (BGBB)

Khả năng định Coliform

1 MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Brilliant Green Bile Broth (BGBB) dùng để phát hiện và định lượng coliform, coliform chịu nhiệt trong thực phẩm, nước dùng trong xử lý thực phẩm và mẫu nước thải. Nó cũng có thể được dùng để định lượng coliform trong các sản phẩm từ sữa và kem đông lạnh.

Công thức phù hợp với vi sinh thực phẩm tiêu chuẩn NF ISO 4831 và NF ISO 4832. Nó cũng được dùng trong tiêu chuẩn kiểm soát nguồn nước NF T90-413 và PR NF T90-413.

2 LỊCH SỬ

Quá trình nghiên cứu và phát triển môi trường nuôi ức chế các loài vi sinh ngoại trừ khuẩn coliform đã từ lâu là một đề tài đáng chú ý cho các nhà vi sinh vật học. Năm 1926, Dunham và Schoenlein nghiên cứu kết hợp tỷ lệ mật và brilliant green cho ra kết quả tốt. Jordan chỉ ra rằng môi trường này tốt hơn Lactose broth trong việc phát hiện coliform trong nước. Đối với kiểm soát sữa vô trùng, MacCrady và Langevin đã chứng minh việc sử dụng hiệu quả BGBB để phát hiện coliform. Mackenzie đã chứng minh rằng Brilliant Green làm ức chế khuẩn lên men kỵ khí đường lactose, đặc biệt là Clostridium perfringens.

3 NGUYÊN TẮC HOẠT ĐỘNG

Muối mật ox bile và brilliant green gây ức chế hầu hết các vi sinh vật gram dương và vi khuẩn gram âm khác trừ Coliform.

Nồng độ brilliant green được xác định cụ thể để ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn kỵ khí lên men đường lactose ở nhiệt độ 44°C, tránh trường hợp dương tính giả.

Sự phát triển của vi khuẩn coliform được thể hiện bằng độ đục và sự sinh khí trong các ống Durham- kết quả của quá trình lên men lactose.

4 THÀNH PHẦN MÔI TRƯỜNG

Thành phần có thể điều chỉnh để đạt hiệu quả tối ưu

Trong 1 lít môi trường:

- Tryptone..... 10,0 g
- Bacteriological ox bile 20,0 g
- Lactose 10,0 g
- Brilliant green 13,3 mg

pH sử dụng ở 25 °C : 7,2 ± 0,2.

5 CHUẨN BỊ

- Hòa tan 40.0 g môi trường khan (BK002) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion
- Khuấy từ từ cho đến khi tan hoàn toàn.
- Chia vào trong các ống nghiệm hoặc trong bình.
- Khử trùng bằng nồi hấp ở 121°C trong 15 phút.
- Sau khi làm nguội, các ống Durham không còn chứa không khí

Lưu ý :

Dung dịch có nồng độ gấp độ có thể được sử dụng cho một số ứng dụng cụ thể.
Huyền phù 80,0 g môi trường khan (BK002) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử khoáng.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Khả định coliforms (ISO standard 4831) :

- Cấy một loop từ Laurylsulfate Tryptose broth (nồng độ đơn và đôi) trong ống chứa BGGB được chuẩn bị như trên hoặc chuẩn bị sẵn (BM011).
- Ủ trong 24 ± 2 h ở 30 ± 1 °C hoặc ở 37 ± 1 °C, tùy quy trình sử dụng.
- Nếu không thấy xuất hiện bọt khí trong cả quá trình, tiếp tục ủ thêm 48 ± 2 h.

Khả định coliforms (ISO standard 4832) :

- Lấy 5 khuẩn lạc đặc trưng từ VRBL agar và cấy chúng vào ống chứa BGGB được chuẩn bị như trên hoặc chuẩn bị sẵn (BM011).
- Ủ trong 24 ± 2 h ở 30 ± 1 °C hoặc 37 ± 1 °C, tùy quy trình sử dụng

Khả định coliforms trong nước (NF standard T90-413) :

- Từ môi trường ủ trước đó (Lactose broth hoặc Laurylsulfate nồng độ đơn hoặc đôi), ủ 1 loop khuẩn lạc cần xác nhận vào ống BGGB được chuẩn bị như trên hoặc chuẩn bị sẵn (BM011).
- Ủ trong 48 h ở 37 ± 1 °C đối với coliform hoặc 44 ± 1 °C trong bồn nước đối với coliform chịu nhiệt.

7 KẾT QUẢ

Quá trình lên men Lactose, với kết quả là hiện tượng sinh khí trong ống Durham (lượng khí sinh ra ít nhất bằng 1/10 thể tích mỗi ống) trong vòng chưa đầy 48h chỉ ra sự hiện diện của coliform..

8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Môi trường khan : bột màu xanh lá, đồng nhất, chảy tự do.

Môi trường pha sẵn : dung dịch trong, màu xanh lá.

Môi trường phản ứng đặc trưng sau 24-48 h , ủ ở 30 °C (NF EN ISO 11133) :

Vi sinh vật		Phát triển	Sinh khí (ống Durham)
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Tốt, score 2	≥ 5 mm
<i>Citrobacter freundii</i>	WDCM 00006	Tốt, score 2	≥ 5 mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Ức chế một phần, score 0-1	Âm tính

Môi trường phản ứng đặc trưng sau 48 h , ủ ở 37 °C (FD T 90-461) :

Vi sinh vật		Phát triển	Sinh khí (ống Durham)
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00179	Tốt, score 2 Partially	≥ 5 mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00176	Bị ức chế, score 0-1	Âm tính

9 BẢO QUẢN

Môi trường khan: 2-30°C.

Môi trường chuẩn bị sẵn, nồng độ đơn, trong ống có ống Durham: 2-8°C.

Hạn sử dụng ghi trên bao bì.

Môi trường chuẩn bị trước trong ống (giá trị chuẩn): 3 tháng ở 2-25°C, tránh ánh sáng.

10 QUY CÁCH

Môi trường khan :

Chai 500 g..... BK002HA

Môi trường pha sẵn (nồng độ đơn) trong ống Durham :

50 x 10 mL/ ống..... BM01108

11 THAM KHẢO

Dunham, H.G. and Schoenlein , H.W.. 1926. Stain Technology, **1** : 129. Jordan. 1927. Journal of American Water Works Association, **18** : 337.

McCrary and Langevin. 1932. Journal of Dairy Science, **15** : 321.

Mackenzie, E.F.W., Taylor, W.E., and Gilbert, W.E.. 1948. Recent experiments in the rapid identification of *Bacterium coli* type I. Journal of General Microbiology, **2** : 197-204.

Rodier, J. 1984. L'analyse de l'eau. Dénombrement des coliformes, coliformes fécaux, et *Escherichia coli* présumés. Dunod 7ème Ed., 793-798.

NF T 90-413. Octobre 1985. Essais des eaux. Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants. Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP).

PR NF T 90-413. Mars 2012. Essais des eaux. Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants. Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP).

Journal Officiel du 21 Septembre 1968. Méthodes officielles de prélèvement et d'analyse bactériologiques des glaces et crèmes glacées (Arrêté du 30 Août 1968).

NF ISO 4831. Octobre 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des coliformes. Technique du nombre le plus probable.

NF ISO 4832. Juillet 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes. Méthode par comptage des colonies.

12 THÔNG TIN KHÁC

Thông tin được cung cấp trên nhãn được ưu tiên hơn các công thức hoặc hướng dẫn mô tả trong tài liệu này và có thể sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần cảnh báo.

Mã tài liệu : BGBB_EN v7
Ngày tạo : 01-2003
Ngày cập nhật : 08-2016
Lý do cập nhật : cập nhật chung.