

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

TRYPTONE-CASEIN SOY BROTH sửa đổi (MTSB)

PHÁT HIỆN *ESCHERICHIA COLI* O157

1 MỤC ĐÍCH

Tryptone-Soy Broth cải tiến (mTSB) là môi tăng sinh để phát hiện các kiểu huyết thanh (serotypes) gây bệnh *Escherichia coli*, đặc biệt là kiểu huyết thanh O157: H7 trong thực phẩm và các mẫu có khả năng gây ô nhiễm khác từ nguồn gốc động vật.

Thành phần điển hình của môi trường đáp ứng tiêu chuẩn ISO 16654

2 LỊCH SỬ

Kiểu huyết thanh O157 của *Escherichia coli* là một kiểu huyết thanh gây bệnh, được xác định lần đầu tiên vào năm 1982 là tác nhân gây ra bệnh viêm đại tràng xuất huyết. Sản phẩm thực phẩm có nguồn gốc động vật là những nguồn chính nhiễm bệnh cho con người. Thịt bò, thịt lợn, gia cầm và sữa chưa thanh trùng bị nhiễm toxi do có liên quan đến *Escherichia coli* O157. Vi sinh vật này được phân lập từ khoai tây, rượu táo và nước máy

Nhiều tác giả đã sử dụng thành công Tryptone-Soy Broth cải tiến cho việc tăng sinh chọn lọc của *Escherichia coli* O157: H7. Công thức cơ bản của Tryptone-Soy Broth ban đầu được sửa đổi bằng cách thêm 1,5g/L dipotassium phosphate và 1,5g/L muối mật. Năm 1987, Doyle và cộng sự đề xuất bổ sung 20mg/L novobiocin để củng cố tính chọn lọc và nâng cao khả năng phát hiện *Escherichia coli* O157: H7

3 NGUYÊN TẮC

Các chất dinh dưỡng cơ bản kết hợp Tryptone, papaic digest của bột đậu nành và glucose cung cấp cho sự phát triển tối ưu của *Escherichia coli* O157: H7.

Sự hiện diện kết hợp của muối mật và novobiocin đảm bảo sự ức chế các vi sinh vật Gram dương và một số vi sinh vật Gram âm nhất định như *Proteus*.

Dipotassium phosphate duy trì pH và do đó làm tăng khả năng phục hồi.

4 THÀNH PHẦN

Có thể được điều chỉnh để có được hiệu suất tối ưu

Trong 1 lit môi trường:

- Tryptone	17,0 g
- Papaic digest of soybean meal	3,0 g
- Glucose	2,5 g
- Bile salts n°3	1,5 g
- Sodium chloride	5,0 g

- Dipotassium phosphate..... 4,0 g
 - Novobiocin..... 20,0 mg
- pH cho môi trường hoàn chỉnh ở 25 °C : $7,4 \pm 0,2$.

5 CHUẨN BỊ

- Hòa tan 33,0 g môi trường dạng bột (BK150) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion.
- Khuấy từ từ cho đến khi tan hoàn toàn.
- Phân phối 225 ml vào mỗi bình.
- Tiệt trùng trong nồi hấp ở 121 °C trong 15 phút.
- Hoàn nguyên chất bổ sung chọn lọc Novobiocin 40 mg (BS056) với 20 mL nước cất vô trùng hoặc chất bổ sung chọn lọc Novobiocin 10 mg (BS033) với 5ml
- Lắc hoặc vortex để đồng nhất hoàn toàn, tránh tạo bọt
- Thêm vô trùng 2,25 mL chất bổ sung hoàn nguyên vào mỗi bình chứa 225 mL dung dịch, hoặc 0,9 ml vào mỗi bình 90 mL.
- Đồng nhất hoàn toàn

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Thêm vô trùng X gam mẫu cần kiểm tra vào mỗi bình chứa 9X mL môi trường.
- Lắc đều.
- Ủ ở $41,5 \pm 1$ °C trong 6 giờ, 12h-18h.

7 KẾT QUẢ

Sau 6h ủ, bằng thao tác vô trùng, loại bỏ một phần dịch cấy, thực hiện kỹ thuật phân tách miễn dịch-từ tính (immunomagnetic separation-IMS), sau đó phân lập trên môi trường CT-SMAC Agar (BK150)

Kéo dài thời gian ủ thêm 12 đến 18h. Thực hiện lại kỹ thuật phân tách miễn dịch-từ tính, sau đó phân lập trên môi trường CT-SMAC agar

8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Môi trường dạng bột: bột màu trắng, chảy tự do, đồng nhất.

Môi trường hoàn chỉnh chuẩn bị sẵn: dung dịch màu hổ phách, trong suốt

Chất bổ sung chọn lọc Novobiocin: viên màu trắng, khi hoàn nguyên thành dung dịch không màu

Phản ứng nuôi cấy đặc trưng sau 24 giờ ủ ở 41,5 °C, sau đó cấy chuyển trên môi trường CT-SMAC Agar :

VI SINH VẬT		PHÁT TRIỂN
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	WDCM 00014	> 10 khuẩn lạc đặc trưng
+ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	
+ <i>Proteus mirabilis</i>	WDCM 00023	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	NCTC 13126	> 10 khuẩn lạc đặc trưng
+ <i>Enterobacter aerogenes</i>	WDCM 00175	
+ <i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	ức chế
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	ức chế

9 BẢO QUẢN

Môi trường dạng bột: 2-30 °C

Chất bổ sung chọn lọc Novobiocin: 2-8°C

Hạn sử dụng được ghi trên nhãn.

Môi trường cơ bản chuẩn bị sẵn trong chai (*): 180 ngày ở 2-8 °C

Môi trường hoàn chỉnh trong chai (*): 30 ngày ở 2-8 °C

Chất bổ sung Novobiocin đã hoàn nguyên (*): 30 ngày, 2-8 °C

(*) Giá trị chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

10 ĐÓNG GÓI

Môi trường bột khô (không có Novobiocin) :

Chai 500 g..... BK150HA

Môi trường bột khô (không có Novobiocin) :

8 ống x 40mg BS05608

10 ống x 10mg BS03308

11 THAM KHẢO

Doyle, M.P., and J.L. Schoeni. 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl. Envir. Microbiol. 53: 2394-2396.

Feldsine, P.T., M.T. Falbo-Nelson, S.L. Brunelle, and R.L. Forgey. 1997. Assurance Enzyme Immunoassay for the Detection of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Selected Foods: Collaborative Study. Journal of AOAC International. 80: 530-543.

NF EN ISO 16654. Juillet 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157.

12 THÔNG TIN BỔ SUNG

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: mTSB BROTH_ENv7

Ngày tạo: 09-2001

Cập nhật: 09-2018

Nguồn gốc sửa đổi: Hoàn nguyên chất bổ sung.