

DỮ LIỆU KỸ THUẬT

TRYPTOPHAN BROTH

PHÁT HIỆN SINH INDOLE

1 MỤC ĐÍCH

Tryptophan broth cho phép nuôi cấy vi sinh vật không có yêu cầu tăng trưởng đặc biệt. Môi trường được sử dụng để thực hiện thử nghiệm sinh indole, được sử dụng đặc biệt trong việc khẳng định *Escherichia coli*, *Shigella* và *Salmonella*.

Thành phần điển hình tương ứng với định nghĩa trong tiêu chuẩn NF EN ISO 9308-1, NF EN ISO 6579-1, NF EN ISO 16654.

2 NGUYÊN TẮC

Trong điều kiện hiếu khí, các chủng có tryptophanase làm phân huỷ tryptophan thành indole. Sau khi nuôi cấy, các indole sinh ra được phát hiện bằng cách bổ sung thuốc thử Kovac.

3 THÀNH PHẦN

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

Trong 1 lit môi trường:

- Tryptone.....10,0 g
- DL-Tryptophan.....1,0 g
- Sodium chloride5,0 g

pH môi trường hoàn chỉnh ở 25 °C: $7,5 \pm 0,2$

4 CHUẨN BỊ

- Hòa tan 16,0 g môi trường bột khô (BK163) trong 1 lit nước cất vô trùng hoặc nước khử ion
- Khuấy từ từ cho đến khi môi trường tan hoàn toàn.
- Phân phối vào ống nghiệm 3-5 ml môi trường
- Tiệt trùng bằng nồi hấp ở 121 °C trong 15 phút.
- Để nguội ở nhiệt độ phòng.

5 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Khẳng định *Escherichia coli* (NF EN ISO 9308-1)

- Chuyển một khuẩn lạc lấy từ thạch Tergitol 7 vào một ống 3 mL môi trường chuẩn bị như mô tả hoặc sử dụng môi trường đồ sẵn (BM076).
- Ủ ở $44,0 \pm 1,0$ °C trong 21 ± 3 giờ.
- Thêm 0,2 mL thuốc thử Kovac.

Phát hiện sinh indole (*Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157)

- Lấy một khuẩn lạc thuần từ Nutrient Agar và cấy vào một ống 5 mL tryptophan broth chuẩn bị như mô tả.
- Ủ trong 24 ± 3 giờ ở nhiệt độ $37,0 \pm 1,0$ °C.
- Thêm 1 mL thuốc thử Kovac

6 KẾT QUẢ

Sự hiện diện của indole được đặc trưng bởi sự xuất hiện của một vòng màu đỏ trong pha cồn của thuốc thử Kovac.

Vòng màu vàng nâu cho các phép thử âm tính.

Xem PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH MINH HỌA.

Escherichia coli cho thử nghiệm indole dương tính

Shigella sonnei và *Salmonella* cho thử nghiệm di động, indole âm tính.

Các *Shigella* khác hay thay đổi.

7 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

- Môi trường dạng bột: bột màu trắng, chảy tự do, đồng nhất.
- Môi trường đã được chuẩn bị: dung dịch trong, màu vàng
- Phản ứng đặc trưng của môi trường sau 21 giờ ủ ở 44 °C, phương pháp định lượng (FD T90-461):

Vi sinh vật		Phát triển	Sinh indole
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Tốt, số 2	Dương tính
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Tốt, số 2	Dương tính
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00179	Tốt, số 2	Dương tính
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	Tốt, số 2	Âm tính
<i>Enterobacter aerogenes</i>	WDCM 00175	Tốt, số 2	Âm tính

8 BẢO QUẢN

Môi trường dạng bột: 2-30 °C

Môi trường pha sẵn dạng ống : 2-25 °C

- Hạn sử dụng được ghi trên nhãn.

Môi trường chuẩn bị trong ống : 180 ngày ở 2-25 °C

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

9 ĐÓNG GÓI

Môi trường bột:

Chai 500 g..... BK163HA

Môi trường pha sẵn dạng ống:

50 ống x 3ml..... BM07608

11 THAM KHẢO

NF EN ISO 9308-1. Septembre 2000. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des Escherichia coli et des bactéries coliformes. Partie 1 : Méthode par filtration sur membrane.

NF EN ISO 16654. Juillet 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des Escherichia coli O157. Modifié par Amendement A1 en Juin 2017.

NF EN ISO 21567. Mars 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de Shigella spp..

FD T90-461. Août 2016. Qualité de l'eau - Microbiologie - Contrôle qualité des milieux de culture.
NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des Salmonella - Partie 1 : recherche des Salmonella spp..

12 THÔNG TIN BỔ SUNG

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

Mã tài liệu: TRYPTOPHAN BROTH_ENv8

Ngày tạo: 07-2003

Ngày sửa đổi: 01-2018

Nguồn gốc của bản sửa đổi: Mục lục tham khảo

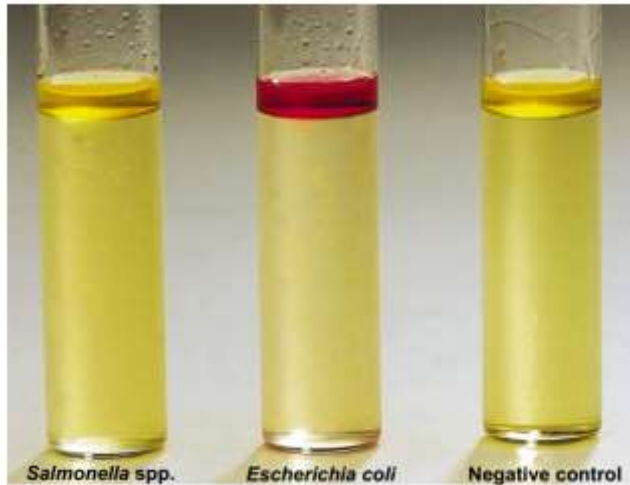
PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH MINH HOA

Tryptophan Broth

Nghiên cứu sản sinh indole

Kết quả:

Tăng trưởng đạt được sau 24 giờ ủ ở 37 °C.



Đặc điểm: sản sinh Indole ở *Escherichia coli* được đặc trưng bởi sự xuất hiện của một vòng màu đỏ trong pha còn của thuốc thử Kovac (phân hủy tryptophan).

Đối chứng âm: không màu đến màu vàng.