

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

KING B AGAR

XÁC NHẬN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

1 MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Thạch King B cho phép sản xuất fluoresceine (hoặc pyoverdin), một sắc tố màu xanh lục vàng phát huỳnh quang dưới đèn UV ở một số chủng *Pseudomonas*. Môi trường được sử dụng chủ yếu trong phân tích nước để phát hiện và phân biệt *Pseudomonas aeruginosa*, tạo ra sắc tố đặc trưng trong khi các loài *Pseudomonas* khác thì không, không phải.

Thành phần môi trường tuân theo tiêu chuẩn NF EN ISO 16266.

2 LỊCH SỬ

Phương tiện được King, Ward và Raney mô tả năm 1954, sau đó được sửa đổi theo khuyến nghị của Dược điển Hoa Kỳ. Các tác giả cũng chịu trách nhiệm phát triển môi trường King A, môi trường này tạo điều kiện thuận lợi cho việc sản xuất pyocyanin (sắc tố màu xanh huỳnh quang) so với pyoverdin.

3 NGUYÊN TẮC

Dipotassium phosphate làm tăng nồng độ photpho do peptone đóng góp và kích thích sản xuất fluoresceine, đồng thời ức chế sản xuất pyocyanin.

Magie sulfat đóng góp các cation cần thiết cho việc sản xuất pyoverdin.

4 THÀNH PHẦN

Thành phần có thể được điều chỉnh để có được hiệu suất tối ưu.

Đối với 1 lít môi trường hoàn chỉnh:

- Peptone.....	20.0 g
- Glycerol	10.0 mL
- Dipotassium phosphate	1.5 g
- Magnesium sulfate, 7 H ₂ O	1.5 g
- Bacteriological agar	15.0 g

Độ pH của môi trường hoàn chỉnh ở 25 °C: 7,2 ± 0,2.

5 CHUẨN BỊ

- Làm tan chảy môi trường trong khoảng thời gian tối thiểu cần thiết để đạt được sự hóa lỏng hoàn toàn, sau đó nghiêng các ống để thu được các mặt nghiêng xiên sau khi hóa rắn và làm mát.
- Khi môi trường không được sử dụng trong ít nhất 8 ngày sau khi chuẩn bị và đông đặc ban đầu, nên tái sinh môi trường trong bể nước sôi và đông đặc lại trong môi trường thích hợp.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Cấy trên bề mặt nghiêng của thạch King B thành các vệt hẹp với từng khuẩn lạc nghi ngờ được lấy từ môi trường phân lập chọn lọc và đã làm sạch trước đó trên thạch Nutrient.
- Ủ ở $36 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 24 giờ đến 5 ngày. Kiểm tra môi trường nuôi cấy hàng ngày dưới ánh sáng tia cực tím và lưu ý mọi tình huống có thể phát ra huỳnh quang.

- **Cấy:** Bề mặt
- **Ủ:**
24h trong 5 ngày ở 36°C

Chú ý: Cần sử dụng dịch cấy thuần khiết lấy từ trung tâm của các khuẩn lạc riêng biệt để tránh các phản ứng chéo khiến cho việc định danh không thể thực hiện được.

7 KẾT QUẢ

Các khuẩn lạc phát huỳnh quang màu vàng lục dưới ánh sáng UV ở bước sóng 360nm được coi là dương tính với *Pseudomonas aeruginosa* để kiểm soát nước theo phương pháp được mô tả trong tiêu chuẩn NF EN ISO 16266.

8 QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG

Thạch hoàn: thạch hồ phách.

Phản ứng nuôi cấy điển hình sau 24 giờ ủ ở 36°C (ISO 11133-A2):

Vi sinh vật		Sự phát triển	Huỳnh quang ở 360nm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00024	Dương tính	Dương tính
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	Dương tính	Dương tính
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00026	Dương tính	Dương tính
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00090	Dương tính	Âm tính
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00035	Dương tính	Âm tính

9 BẢO QUẢN

Môi trường pha sẵn trong ống: $2-25^\circ\text{C}$.

Ngày hết hạn được ghi trên nhãn.

10 BAO BÌ

Môi trường pha sẵn (với glycerol):

7 x 7 ml ống BM10508

11 THAM KHẢO

King, E. O., Ward, M. K., and Raney, D. E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med. **44**: 301.

NF EN ISO 16266. August 2008. Water quality. Detection and enumeration of *Pseudomonas aeruginosa*. Method by membrane filtration

NF EN ISO 11133. July 2014. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

NF EN ISO 11133-A2. May 2020. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media - Amendment 2

11 THÔNG TIN KHÁC

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

Mã tài liệu: KING B_ENv9

Ngày tạo : 10-2003

Cập nhật : 12-2020

Nguyên nhân cập nhật : Cập nhật thư mục