

Muller Kaufmannův bujón s brilantní zelení a novobiocinem (MKTTN)

LC1173

Pro selektivní obohacení salmonelou.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Obohacení	<i>Salmonella</i>

Odvětví aplikace: Kvalita vody / Potravinářství

Předpisy: ISO 11133 / ISO 19250 / ISO 6579



Principy a použití

Muller-Kauffmannův bujón s brilantní zelení a novobiocinem (MKTTN) je podle norem ISO 6579 a ISO 19250 doporučen jako selektivní obohacovací bujón pro detekci *Salmonella spp.* ve všech typech potravin, včetně mléka a mléčných výrobků, měkkýšů a jiných rybích produktů, a ve vzorcích vody a stěrech z prostředí.

Hovězí extrakt a kaseinový pepton dodávají dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Uhličitan vápenatý je neutralizátor, který absorbuje toxické metabolity. Žlučové soli, brilantní zeleň a novobiocin inhibují jiné organismy než salmonely. Selektivitu dosahuje také thiosíran sodný i tetrathionát, které potlačují koliformní bakterie. Tetrathionát vzniká v médiu po přidání roztoku jódu a jodidu draselného. V tomto médiu se daří organismům obsahujícím enzym tetrathionátoreduktázu. Chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu.

Složení v g/l

Enzymatický rozklad kaseinu	8,6	Hovězí extrakt	4,3
Brilantní zeleň	0,0096	Uhličitan vápenatý	38,7
Novobiocin	0,04	Hovězí žluč	4,78
Chlorid sodný	2,6	Thiosíran sodný	30,5

Příprava

V jednom litru destilované vody rozpustíte 89,53 g média. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. **VYHNĚTE SE PŘEHŘÁTÍ. NEVAŘTE V AUTOKLÁVU.** Ochladte na 45-50 °C. Asepticky přidejte 20 ml roztoku jódu a jodidu draselného (20 g jódu a 25 g jodidu draselného ve 100 ml sterilní destilované vody). Jemně homogenizujte a rozdělte do sterilních nádob.

Návod k použití

* Pro detekci *Salmonella* spp. v potravinách, krmivech, zvířecích výkalech a vzorcích životního prostředí podle ISO 6579:

- Předběžné obohacení v neselektivním kapalném médiu:

Naočkejte pufovanou peptonovou vodu (LC1402) vzorkem nebo ředěním a inkubujte při teplotě 34-38 °C po dobu 18±2 hodin.

- Obohacování v/na selektivních médiích:

S kulturou získanou ve fázi před obohacením naočkejte Rappaportůvsójevý bujón (Vassiliadis) (LC1174) nebo modifikované polotuhé Rappaportovo Vassiliadisovo médium (MSRV) (LC1376) a bujón MKKTN (LC1173).

Rappaportůvsójevý bujón a modifikované polotuhé Rappaportovo médium se inkubují při teplotě 41,5 °C po dobu 24 ± 3 h a bujón MKKTN při 34-38 °C po dobu 24 ± 3 h.

- Pokovování na selektivních pevných médiích:

Ze selektivních obohacených kultur naočkejte dva selektivní izolační agary; XLD agar (LC1274) a jakékoli jiné selektivní médium doplňující XLD agar (Salmonella Chromogenic Agar (LC1122) a Brilliant Green Agar (LC1143), Bismuth Sulfite Agar (LC1011), DCLS Agar (LC1045), Desoxycholate Citrate Agar (LC1067), Hektoen Enteric Agar (LC1030), Salmonella Shigella Agar (Cat. 1064) a XL T4 Agar (Cat. 1159)).

Inkubujte desky XLD obrácené při teplotě 34-38 °C po dobu 24 ± 3 hodin.

Druhé selektivní médium inkubujte podle pokynů výrobce.

- Potvrzení:

Subkultivujte kolonie předpokládaných salmonel a potvrďte jejich identitu biochemickými a sérologickými testy.

Poznámka: Podle přílohy D normy ISO 6579-1: 2017 by se pro detekci enterica subspecies enterica sérovarů Typhi a Paratyphi měl jako selektivní obohacovací médium přidat Selenite Cystine Broth (kat. č. 1220) a jako druhé selektivní médium by se měl zvolit Bismuth Sulfite Agar (Wilson Blair) (kat. č. 1011).

* Pro detekci *Salmonella* spp. ve vzorcích vody podle ISO 19250:

- Předběžné obohacení v neselektivním médiu:

Naočkejte pufovanou peptonovou vodu (kat. č. 1402) vzorkem nebo ředěním a inkubujte při teplotě 34-38 °C po dobu 18±2 hodin.

- Obohacování v selektivních médiích:

Naočkejte kulturou získanou ve fázi před obohacením Rappaportův sójevý bujón (Vassiliadis) (kat. č. 1174) a MKKTN bujón (kat. č. 1173). Rappaportův sójevý bujón se inkubuje při teplotě 41,5 ± 1 °C a MKKTN bujón při teplotě 34-38 °C, obojí po dobu 24 ± 3 hodin.

- Pokovování na selektivních pevných médiích:

Ze selektivních obohacených kultur naočkejte dva selektivní izolační agary; XLD agar (kat. č. 1274) a jakékoli jiné selektivní médium doplňující XLD agar (např. Brilliant Green Agar (kat. č. 1143) nebo Bismuth Sulfite Agar (kat. č. 1011)).

Inkubujte desky XLD obrácené při teplotě 34-38 °C po dobu 24 ± 3 hodin.

Druhé selektivní médium inkubujte podle pokynů výrobce.

- Potvrzení:

Subkultivujte kolonie předpokládaných salmonel a potvrďte jejich identitu biochemickými a sérologickými testy.

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytku	Jemný prášek	Bílá	Zelenomodrá	8,0± 0,2

Mikrobiologický test

Podle normy ISO 11133:

Inkubační podmínky: (34-38 °C±h).

Podmínky očkování: Cílové mikroorganismy (<100 CFU) / necílové mikroorganismy (>1000 CFU) / selektivita (10⁴-10⁶ CFU).

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	> 10 kolonií na XLD nebo jiném médiu dle výběru	Kolonie s černým středem a světlou průhlednou zónou načervenalé barvy v důsledku změny barvy média.
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 + <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	> 10 kolonií na XLD nebo jiném médiu dle výběru	Kolonie s černým středem a světlou průhlednou zónou načervenalá barva v důsledku změny barvy média.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	< 10 kolonií na TSA	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	parciální inhibice < 100 kolonií na TSA	

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

ISO 6579 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda detekce *Salmonella* spp.

ISO 6579 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda pro detekci *Salmonella* spp. Změna 1: Širší rozsah inkubační teploty, změna stavu přílohy D a oprava složení MSRV a SC.

Kauffmann, F. 1935. Weitere erfahrungen mit dem kombinierten anreicherungsverfahen fur *Salmonella* bazillen. Ztschr. F. Hyg. 117: 26-32.

ISO 19250 kvalita vody-detekce *Salmonella* spp.

