

MELAB LAURYL TRYPTOSE BROTH

MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

MELAB Lauryl tryptose broth được sử dụng để nuôi cấy phát hiện và định lượng vi khuẩn coliform trong nước, thực phẩm và các mẫu khác.

NGUYÊN LÝ

MELAB Lauryl tryptose broth cung cấp môi trường chọn lọc để phát hiện các sinh vật coliform trong nước, các sản phẩm từ sữa và các mẫu khác. Ngoài ra nó cũng được dùng để phát hiện coliform trong mẫu nước, nước thải bằng phương pháp MPN.

Vi khuẩn tạo bào tử hiếu khí bị ức chế hoàn toàn. Tryptose cung cấp các chất tăng trưởng thiết yếu, chẳng hạn như các hợp chất nitơ và cacbon, sulphat và các thành phần vi lượng. Kali photphat cung cấp hệ thống đệm, trong khi natri clorua duy trì trạng thái cân bằng thẩm thấu. Natri lauryl sulphat ức chế các sinh vật khác ngoài coliform.

Ưu điểm khi sử dụng môi trường này là ngoài việc cho phản ứng lên men đặc trưng của MacConkey Broth, nó còn có thể được kiểm tra trực tiếp sự hiện diện của indole. Điểm khác của môi trường này với MacConkey Broth là môi trường này không chứa chất chỉ thị, nhưng chất này có thể được thêm vào (nếu cần) sau khi ủ.

THÀNH PHẦN BỘ KÍT

Ống nhựa trong suốt có nút xoáy vặn chặt chứa môi trường sử dụng ngay:

Mã sản phẩm	Nội dung
T910763	Hộp 10 ống x 9 ml

CÔNG THỨC

Thành phần trong 1 lít nước tinh khiết

Thành phần	g/l
Tryptose	20.0
Lactose	5.0
Sodium chloride	5.0
Dipotassium hydrogen phosphate	2.75
Potassium dihydrogen phosphate	2.75
Sodium lauryl sulphate	0.1

pH 6.8 ± 0.2 tại 25°C

CHÚ Ý VÀ CẢNH BÁO

- Dùng cho hoạt động chẩn đoán in vitro và trong kiểm tra chất lượng vi sinh.
- Chỉ dùng trong phòng thí nghiệm và dùng bởi người có đủ chuyên môn.
- Sản phẩm có chứa các sản phẩm có nguồn gốc từ động vật. Chúng nhận nguồn gốc hoặc tình trạng vệ sinh của động vật không đảm bảo hoàn toàn việc không có tác nhân gây bệnh truyền nhiễm. Do đó, khuyến cáo rằng các sản phẩm này cần được xử lý như là sản phẩm có khả năng lây nhiễm, và có các biện pháp phòng ngừa như với phòng ngừa các sản phẩm máu thông thường. Không được nuốt, hít vào hoặc để tiếp xúc với da.
- Tất cả các mẫu xét nghiệm phải được coi là mẫu nhiễm khuẩn và được xử lý thích hợp. Cần tuân thủ kỹ thuật vô khuẩn và các biện pháp phòng ngừa để xử lý các vi khuẩn thực hiện. Tham khảo “CLSI M29-A Protection of Laboratory Workers From occupationally Acquired Infections; Approved Guideline- Current Revision”.
- Môi trường nuôi cấy không nên sử dụng như là vật tư hoặc nguyên liệu cho sản xuất.
- Không được sử dụng sản phẩm đã hết hạn sử dụng.
- Không được sử dụng sản phẩm nếu bị vỡ nứt trước đó.
- Không được sử dụng những bị nhiễm hoặc có dấu hiệu hư hỏng khác.
- Dữ liệu hiệu quả được trình bày đã thu được trong quy trình được chỉ rõ trong hướng dẫn sử dụng này. Bất kỳ sự thay đổi quy trình thực hiện nào có thể ảnh hưởng tới kết quả.
- Đọc, giải thích kết quả xét nghiệm cần được xem xét từ tiền sử bệnh nhân, nguồn gốc mẫu bệnh phẩm, hình thái khuẩn lạc và hình thái trên kính hiển vi và nếu cần thiết có thể xem xét từ các test khác.

BẢO QUẢN VÀ HẠN SỬ DỤNG

Bảo quản tube trong hộp đóng gói ở nhiệt độ phòng 20 – 25°C đến khi hết hạn sử dụng, tránh ánh sáng trực tiếp.

ĐỊNH LƯỢNG VI SINH VẬT BẰNG PHƯƠNG PHÁP MPN (Most Probable Number)

Phương pháp MPN dựa trên nguyên tắc xác suất thống kê sự phân bố VSV trong các độ pha loãng khác nhau của mẫu. Mỗi độ pha loãng được nuôi cấy lặp lại nhiều lần (3 – 10 lần). Các độ pha loãng được chọn lựa sao cho trong các lần lặp lại có một số lần dương tính và có một số lần âm tính. Số lần dương tính được ghi nhận và so sánh với bảng thống kê Ö giá trị ước đoán số lượng VSV trong mẫu.

Phương pháp này cho phép định lượng được mật độ VSV thấp trong thể tích mẫu lớn. Vi sinh vật mục tiêu phải có những biểu hiện đặc trưng trên môi trường nuôi cấy VD: sự tạo khí: Coliforms ...

Các bước thực hiện:

- 1 - Chuẩn bị các ống nghiệm có chứa môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng của đối tượng VSV cần định lượng.
2. Cây một thể tích chính xác mẫu ở 3 nồng độ pha loãng (pha loãng bậc 10 liên tiếp).
3. Đem ủ ống ở điều kiện thích hợp.
4. Quan sát các biểu hiện chứng minh sự phát triển của vi sinh vật cần kiểm tra.
5. Ghi nhận số lượng các ống dương tính ở từng độ pha loãng.
6. Tra bảng Mac Crady để suy ra mật độ VSV

KỸ THUẬT:

- Ủ mẫu vào trong ống canh thang MELAB Lauryl Tryptose Broth và kiểm tra các ống sau khi ủ qua đêm ở 35°C. Nếu không thấy xuất hiện khí thì kiểm tra lại sau khi ủ 48 giờ.
- Từ mỗi ống cho thấy quá trình lên men (lên men sơ cấp), cấy và ủ thêm mẫu vào hai ống canh thang MELAB Lauryl Tryptose Broth khác, 1 ống được ủ ở 35°C và 1 ống ủ ở 44°C. Đối với ống ủ ở 44°C nên làm ấm ống trong bể ủ nhiệt (water bath) trước khi cấy mẫu vào.
- Sau khi hai ống canh thang MELAB Lauryl Tryptose Broth đã được cấy mẫu để lên men thứ cấp, kiểm tra sinh indole đối với ống lên men sơ cấp ban đầu (được cấy trực tiếp mẫu). Phản ứng dương tính thể hiện sự có mặt của *Escherichia coli* và kết quả được xác nhận sau với quá trình lên men thứ cấp ở 44°C. Phản ứng indol âm tính trong ống lên men sơ cấp chứng tỏ không có *E. Coli*.
- Kiểm tra canh thang ủ ở 44°C để lên men thứ cấp sau bảy giờ. Nếu dương tính, hãy kiểm tra tạo indole bằng thuốc thử Ehrlich hoặc Kovac's.
- Nếu quá trình lên men vẫn chưa xảy ra sau bảy giờ, hãy để ống qua đêm ở 44°C và kiểm tra vào ngày hôm sau. Phản ứng indole dương tính trong canh thang sinh ra khí ở 44°C cho thấy sự hiện diện của *E. coli*.
- Ống ở 35°C được ủ trong 24 giờ. Nếu không xảy ra quá trình lên men, quá trình lên men sơ cấp được cho là do các sinh vật khác ngoài coliform. Kết quả dương tính giả không phải là hiếm trong các ống lên men sơ cấp, do sự lên men đường sucrose trong mẫu bệnh phẩm bởi các sinh vật không phải là coliform.

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Cấy mẫu xét nghiệm và sau đó lắc đều đồng nhất canh thang
- Ủ các tube ở 35-37°C.
- Sử dụng môi trường này trong kỹ thuật MPN để định lượng coliform theo quy định của phòng xét nghiệm.

ĐỌC VÀ PHIÊN GIẢI KẾT QUẢ

Theo qui trình của cơ sở xét nghiệm.

KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG SẢN PHẨM

Chủng vi sinh vật	Kết quả mong đợi
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bị ức chế
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Phát triển

THẬN TRỌNG

Nếu bảo quản môi trường ở 2 – 8°C sẽ xuất hiện kết tủa.

LOẠI BỎ RÁC THẢI

- Các hóa chất không sử dụng có thể được xem như rác thải không nguy hiểm và loại bỏ theo quy định. Loại bỏ tất cả các hóa chất đã sử dụng như các vật liệu dùng một lần bị nhiễm khác theo quy trình cho các sản phẩm nhiễm trùng hoặc tiềm ẩn gây nhiễm
- Trách nhiệm của mỗi phòng xét nghiệm là xử lý rác thải và nước thải tạo ra theo bản chất tự nhiên của chúng và mức độ độc hại và xử lý và loại bỏ chúng theo quy định được áp dụng

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Oxoid – UK : Hướng dẫn sử dụng
2. CLSI – M22, A3 : Quality control for commercially prepared microbiological media culture, 3rd edition
3. CLSI – M29 : [Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections](#)