

mikrobiologie labor-technik

Müller Kauffman Bulion

PRINCIPIU

Formula **bulionului Müller-Kauffmann** corespunde cu cea descrisă de Müller și modificată de Kauffmann. Acest mediu lichid este folosit ca un bulion de îmbogățire selectiv pentru screening-ul speciilor de *Salmonella* în produsele alimentare, probele de apă și clinice. Mediul este compus din tiosulfat de sodiu, care este oxidat în tetrathionat de o soluție de iod/iodură care se adaugă la bază în ultimul minut. Acest lucru contribuie la inhibarea creșterii bacteriilor coliforme și a bacteriilor care fac parte din flora intestinală. Speciile *Proteus* și *Salmonella* pot reduce tetrathionatul pe care îl folosesc ca sursă de sulf pentru creșterea lor. Calciul neutralizează acidul sulfuric format pentru a preveni orice scădere a nivelului de pH care ar putea compromite dezvoltarea bacteriilor. Verdele brilliant inhibă creșterea bacteriilor Gram pozitive. Oxgall contribuie la creșterea *Salmonellei* prin încetinirea creșterii florei de interferență. Se întrebunțează doar *in vitro*.

FORMULA TIPICĂ

Componente	g/l
Triptonă	7.00
Peptonă din soia	2.30
Clorură de sodiu	2.30
Carbonat de calciu	25.00
Tiosulfat de sodiu 5H ₂ O	40.70
Oxgall	4.75

Soluție de iod/iodură

Iod	20.00 g
Iodură de potasiu	25.00 g
Apă distilată sterilă	100.00 ml

Se dizolvă iodura de potasiu în 5 ml de apă purificată, se adaugă iod și se încălzește ușor pentru dizolvare. Se completează până la 100 ml cu apă distilată.

Soluția de verde brilliant 0.1%

Verde brilliant	0.10 g
Apă distilată	100.00 ml

Se suspendă verde brilliant pulbere în apă distilată și se omogenizează. Se încălzește 30 minute la 100°C, amestecând constant. Soluția preparată se păstrează într-un vas maro.

METODA

Se suspendă 82 g de pulbere într-un litru de apă distilată. Se fierbe timp de un minut, amestecând continuu până la dizolvarea completă. Se răcește la 45-50°C. Se adaugă 19 ml de soluție iod / iodură și 9.5 ml de soluție de verde brilliant 0.1%. Se omogenizează bine și se toarnă 7 ml per tub.

TEHNICA

Se însămânțează tuburile cu 1 sau 2 ml de probă în prealabil îmbogățită în bulion neselectiv. Se omogenizează bine, apoi se incubează la 41-43°C timp de 18-24 de ore sau până la 48 de ore, în funcție de procedură.

REZULTATE

După perioadele de incubare, se subcultivă pe un agar selectiv adecvat (ASAP, Hektoën, X.L.D. sau XLT4 modificat).

LIMITE ȘI PRECAUȚII

Pentru a menține active proprietățile selective ale mediului, soluția verde briliant se adăugă la baza Müller-Kauffmann în conformitate cu specificațiile de preparare. Bulionul Müller-Kauffmann conține carbonat de calciu, care este utilizat ca agent de tamponare care tinde să sedimenteze în partea de jos a tuburilor sau a sticlelor. Tuburile și recipientele trebuie să fie omogenizate înainte de însămânțare. Mediul complet are o valabilitate de o săptămână. Este indicată folosirea unui al doilea bulion selectiv, în paralel cu Müller-Kauffmann, cum ar fi mediul selenit-cistină, care ar trebui incubat la 37°C sau mediul Rappaport Vassiliadis incubat la 42°C.

BIBLIOGRAFIE

1. Muller L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. Comp. rend. Soc. biol. 89:434-437.
2. Kauffmann F. 1935. Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten Anreicherungs-verfahren für Salmonellenbacillien. Z. Hyg. Infek. - Krkh. 117:26-32.
3. Edel W. and Kampelmacher E.H. 1969. Salmonella isolation in nine european laboratories using a standardized technique. Bull. W.H.O. 41:297-306.

AMBALARE

Mediul deshidratat

(A se păstra între 1-30°C)

140189A: Flacon de 500 g

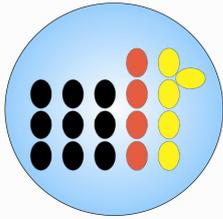
140189L: Flacon de 500 g

Mediul gata preparat

(A se păstra între 2-8°C)

120216: Cutie cu 32 de tuburi de 7 ml

130216: Cutie cu 3 sticle de 200 ml



mikrobiologie labor-technik

Müller Kauffman Broth

PRINCIPLE

Müller-Kauffmann broth's formula corresponds to the one described by Müller, and then modified by Kauffmann. This fluid medium is used as a selective enrichment broth when screening for *Salmonella* in foodstuffs, water and biological specimens.

The medium is composed of sodium thiosulfate that is oxidised into tetrathionate by a solution of iodine/iodide added to the base at the last minute. This contributes to inhibit the growth of coliforms and most of all bacteria belonging to the intestinal flora. *Proteus* and *Salmonella* can reduce tetrathionate and therefore find their intake of sulfur for their growth. Calcium neutralises the formed sulfuric acid in order to prevent any drop of pH levels that might compromise the growth of bacteria. Brilliant green inhibits the growth of gram positive. Oxgall contributes to the growth of *Salmonella* by slowing down the growth of interfering flora.

FORMULA

Components	g/l
Tryptone	7.00
Soy peptone	2.30
Sodium chloride	2.30
Calcium carbonate	25.00
Sodium thiosulfate 5H ₂ O	40.70
Oxgall	4.75

Iodine/iodide Solution

Iodine	20.00 g
Potassium Iodide	25.00 g
Purified sterile water	100.00 ml

Dissolve the potassium Iodide in 5 ml of purified water, add iodine and heat slightly

to help to dissolve. Complete to 100 ml with purified water.

Brilliant Green 0.1% solution.

Brilliant green	0.10 g
Purified water	100.00 ml

Suspend brilliant green powder in to the purified water, homogenise. Heat 30 minutes at 100°C under constant stirring. Keep the prepared solution in a brown flask.

PREPARATION

Suspend 82 g of powder in 1 litre of purified water. Boil for one minute, under continuous stirring until completely dissolved. Cool to 45-50°C. Add 19 ml of Iodine/Iodide solution and 9.5 ml of 0.1 % Brilliant green solution. Homogenise well and dispatch 10 ml per tube.

PROCEDURE

Inoculate 10 ml (or 20 ml) tubes with 1 ml (or 2 ml) of sample primarily enriched in non selective broth. Homogenise well then incubate at 41-43°C for 18-24 hours or up to 48 hours depending on the procedure carried out.

RESULTS

After incubation periods, subculture onto an adequate selective agar (ASAP, Hektoën, X.L.D . or modified XLT4).

LIMITS AND PRECAUTIONS

In order to keep active the selective properties of the complete medium Brilliant green solution must be added to the Müller-Kauffmann base according to the preparation specifications. Müller-Kauffmann broth contains carbonate calcium that is used as a buffering agent which tends to sediment at the bottom of

tubes and flasks. Tubes and flasks have to be homogenised before inoculation. Complete medium has a shelf life of one week. It is wise to use a second selective broth in parallel to Müller-Kauffmann such as selenite cystine which would be incubated at 37°C or Rappaport Vassiliadis incubated at 42°C.

BIBLIOGRAPHY

1. Muller L. 1923. Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. Comp. rend. Soc. biol. 89:434-437.
2. Kauffmann F. 1935. Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten Anreicherung-

verfahren für Salmonellenbacillien. Z. Hyg. Infek. - Krkh. 117:26-32.

3. Edel W. and Kampelmacher E.H. 1969. Salmonella isolation in nine european laboratories using a standardized technique. Bull. W.H.O. 41:297-306.

PACKAGING

Dehydrated medium

Store between 1 and 30°C

140189A: Flask of 500 g

140189L: Flask of 500 g

Ready to use media

Store between 2 and 8°C

120216: Pack of 32 tubes of 7 ml

130216: Pack of 3 flasks of 200 ml