

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

TSN AGAR

Định lượng vi sinh vật khử sulfite

1 Mục đích

TSN agar là môi trường dùng để phát hiện và đếm vi sinh vật sử dụng sulfur tại 46^{0C} có trong thực phẩm, đặc biệt là thực phẩm đóng gói sẵn.

2 Lịch sử

Tryptone Sulfite Neomycin Agar được đề xuất bởi Mossel và được phát triển bởi Marschall năm 1965 về phương pháp phân lập và đếm *Clostridium perfringens* trong thực phẩm và các sản phẩm khác có nguồn gốc từ động vật, chủ yếu là bị ô nhiễm đáng kể bởi hệ vi sinh vật. Quá trình phát hiện của *Clostridium perfringens* dựa vào các đặc điểm sau:

- Tăng trưởng tối ưu ở 46°C,
- Khả năng chịu neomycin và polymyxin,
- Khả năng khử sulfite cao

3 Nguyên tắc hoạt động

Neomycin và Polymyxin ức chế sự tăng trưởng của enterobacteria, Neomycin ức chế sự phát triển của chủng *Clostridium bifermentans*.

Clostridium perfringens khử sulfite thành sulfide, kết hợp với sắt citrate tạo ra sắt sunfide (màu đen) xung quanh các khuẩn lạc.

4 Thành phần môi trường

Các thành phần có thể được điều chỉnh để đạt được hiệu suất tối ưu

Trong 1 lít môi trường :

- Tryptone.....	15,0 g
- Yeast extract	10,0 g
- Sodium sulfite.....	1,0 g
- Ferric ammonium citrate.....	0,5 g
- Neomycin sulfate	50 mg
- Polymyxin B sulfate.....	20 mg
- Bacteriological agar	13,5 g

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

5 Chuẩn bị

- Hòa tan hoàn toàn 40,0 g môi trường bột khô (BK001) trong 1 lít nước cất vô trùng hoặc nước khử ion.
- Đun sôi từ từ và khuấy nhẹ cho đến khi tan hoàn toàn.
- Chia vào trong các ống nghiệm hoặc trong bình.
- Tiệt trùng bằng nồi hấp ở 121°C trong 15 phút.
- Làm lạnh và bảo quản môi trường ở 44-47 °C.

✓ Hòa tan: 40g/l
✓ Tiệt trùng: 15 phút ,
121°C

6 Hướng dẫn sử dụng

Sử dụng trong ống nghiệm :

- Đun nóng sản phẩm để phân tích nhằm tiêu diệt các tế bào sinh dưỡng và kích hoạt bào tử.
- Chuyển 1 mL dung dịch chứa vi khuẩn gây bệnh đã pha loãng theo nồng độ thấp phân trong các ống, tránh để không khí xâm nhập vào môi trường.
- Đồng nhất bằng cách đảo đều.
- Làm lạnh trong bồn nước lạnh.
- Ủ ở 46 ± 1 °C trong 24 ± 2 h.

✓ Ủ: 46°C, 24h
✓ Cấy 1ml

Chú ý : Không đun quá lâu môi trường. Tránh làm nóng ống nghiệm sau khi cấy.

Sử dụng trong đĩa petri :

- Chuyển 1ml mẫu và nồng độ pha loãng liên tiếp vào đĩa petri vô trùng.
- Độ khoảng 15ml môi trường cho mỗi đĩa.
- Đồng nhất và để mẫu đặc lại trên bề mặt phẳng, lạnh.
- Ủ các đĩa trong bình yếm khí với sự có mặt của hỗn hợp hydro và carbon dioxide.

7 Kết quả

Các đĩa được đọc ngay sau khi mở bình, vì các khuẩn lạc có thể nhạt hơn do quá trình oxy hóa sắt sulfide bởi không khí bên ngoài. Đếm những khuẩn lạc được bao quanh bởi quầng màu đen bao quanh.

Xem phụ lục 1: Hình ảnh hỗ trợ

8 Kiểm soát chất lượng

Môi trường khô : bột màu be, chảy tự do và đồng nhất

Môi trường pha sẵn : màu hổ phách.

Phản ứng tiêu biểu sau khi ủ yếm khí trong 24h ở 46 °C :

Vi sinh vật	Tăng trưởng (Tỉ lệ hiệu suất : P_R)	Đặc điểm
-------------	---	----------

<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	$P_R \geq 70 \%$	Khuẩn lạc màu đen
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00080	$P_R \geq 70 \%$	Khuẩn lạc màu đen
<i>Bacillus cereus</i>	WDCM 00001	Bị ức chế	-
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Bị ức chế	-

9 Bảo quản

Môi trường bột : 2-30 °C.

Hạn sản xuất được in trên bao bì.

Môi trường pha sẵn : khuyến khích sử dụng ngay sau khi chuẩn bị.

10 Đóng gói

Môi trường khan :

Chai 500 gBK001HA

11 Tham khảo

Mossel, D.A.A.. 1959. Enumeration of sulphite-reducing clostridia occurring in foods. Journal of the Science of Food and Agriculture, **10** :662-669.

Arbuckle, R. E.. 1960. The influence of temperature on the growth of *Clostridium perfringens*. M.A. Thesis, Indiana Univ., Bloomington.

Collee, J.G., Knowlton, J.A., and Hobbs, B.C.. 1961. Studies on the growth, sporulation and carriage of *Clostridium welchii* with special reference to food poisoning strains. Journal of Applied Bacteriology, **24** : 326-339.

Marschall, R.S., Steenbergen, J.F., and McClung, L.S.. 1965. Rapide technique for the enumeration of *Clostridium perfringens*. Applied Microbiology, **13(4)** : 559-563.

RODIER, J.. 1984. L'analyse de l'eau. Recherche et dénombrement des *Clostridium perfringens*. Dunod 7ème Ed., 855-857.

12 Thông tin bổ sung

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

Mã tài liệu : TSN_AGAR_ENv9

Ngày tạo : 04-2003

Ngày cập nhật : 06-2016

Lý do cập nhật : Cập nhật chung.

Phụ lục 1 : Hình ảnh hỗ trợ

TSN Agar

Định lượng vi sinh vật khử sulfite

Kết quả :

Sự tăng trưởng của vi sinh vật sau 24 h và ủ ở 46 °C.

