

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

CLED AGAR

PHÁT HIỆN VÀ ĐẾM CÁC HỆ VI KHUẨN ĐƯỜNG TIẾT NIỆU

1 MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

CLED (Cystine Lactose Electrolyte Deficient) agar được dùng để phân lập, đếm và phân biệt các vi khuẩn đường tiết niệu.

2 LỊCH SỬ

Năm 1960, Sandys nghiên cứu cách để tránh *Proteus* phơi nhiễm vào các đĩa môi trường, bằng cách sử dụng một môi trường thiếu chất điện giải, cách này thích hợp để quan sát các khuẩn lạc được hình thành từ các vi sinh vật ô nhiễm khác. Môi trường sau đó được Mackey & Sandys thêm cystine vào công thức để tăng sinh Coliforms. Công thức mới này, được áp dụng cho các vi khuẩn đường tiết niệu, đã được sử dụng thành công trong sản xuất thạch trượt ngâm trong các mẫu nước tiểu.

3 NGUYÊN TẮC

Bromothymol blue là chất chỉ thị pH trong môi trường. Khi có sự lên men lactose sinh acid, môi trường sẽ chuyển từ màu xanh sang vàng do thay đổi pH.

Cystine thích hợp cho tăng sinh coliforms hình thành nên các khuẩn lạc nhỏ trong môi trường.

Môi trường thiếu hụt chất điện giải làm giảm sự xâm nhiễm của *Proteus*.

4 THÀNH PHẦN MÔI TRƯỜNG

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

Cho 1 lít môi trường :

- Pancreatic digest of gelatin	4,0 g
- Tryptone	4,0 g
- Meat extract.....	3,0 g
- L-cystine	128,0 mg
- Lactose	10,0 g
- Bromothymol blue	20,0 mg
- Bacteriological agar	15,0 g

pH sử dụng ở 25 °C : 7,3 ± 0,2.

5 CHUẨN BỊ

- Hòa tan 36,1 g môi trường khan (BK020) trong 1 lít nước vô trùng hoặc đã khử khoáng.

- Đun sôi từ từ, khuấy cho đến khi tan hoàn toàn.
- Chiết vào các ống hoặc lọ.
- Hấp vô trùng ở 115 °C trong 20 phút.
- Làm mát và duy trì ở 44-47 °C.
- Đổ vào các đĩa Petri vô trùng và để rắn lại trên một bề mặt lạnh.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Làm khô trong tủ ẩm (mở hé nắp).
- Cấy mẫu.
- Ủ ở 37 °C từ 18 đến 24 giờ.

Note : Nếu thời gian ủ lâu hơn 24 giờ có thể dẫn đến hiện tượng tái kiểm hóa của môi trường, có thể làm biến đổi màu sắc của khuẩn lạc.

7 KẾT QUẢ

Các khuẩn lạc có hình dạng khác nhau :

Đặc điểm	Chủng vi sinh
Khuẩn lạc lớn màu vàng, được bao quanh bởi một quầng sáng vàng	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i>
Khuẩn lạc lớn màu vàng, nhớt, có quầng sáng vàng bao quanh	<i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i>
Khuẩn lạc lớn trong suốt, có quầng sáng xanh lam bao quanh	<i>Proteus</i> , <i>Serratia</i>
Khuẩn lạc lớn màu xanh lục, với tâm màu nâu nhạt, có quầng sáng xanh lam bao quanh	<i>Pseudomonas</i>
Nhỏ, màu vàng đục	Streptococci
Khuẩn lạc đục, rất nhỏ màu vàng	Staphylococci
Khuẩn lạc xám nhỏ	<i>Corynebacterium</i>

8 QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG

Môi trường khan : màu be, chảy tự do và đồng nhất.

Môi trường chuẩn bị sẵn : Màu xanh lam, thạch mềm.

Phản ứng tiêu biểu sau 24 giờ ủ ở 37 °C, phương pháp định tính

Vi sinh vật	Tăng trưởng	Đặc điểm

<i>Escherichia coli</i> WDCM 00090 <i>Enterobacter aerogenes</i> WDCM 00175 <i>Salmonella</i> Enteritidis WDCM 00030 <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034	Good, score 2 Good, score 2 Good, score 2 Good, score 2 Good, score 2	Khuẩn lạc vàng, có tâm đen Khuẩn lạc vàng Khuẩn lạc xanh lam Khuẩn lạc xanh lam, không xâm lấn Khuẩn lạc nhỏ, vàng đậm
---	---	--

9 LƯU TRỮ/BẢO QUẢN

Môi trường khan : 2-30 °C.

Hạn sử dụng ghi trên nhãn.

Môi trường chuẩn bị sẵn trong lọ (*) : 6 tháng ở 2-8 °C.

Prep Môi trường chuẩn bị sẵn trên đĩa(*) : 30 ngày ở 2-8 °C.

(*) Giá trị chuẩn, ghi nhận trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

10 ĐÓNG GÓI

Môi trường khan :

Chai 500gBK020HA

11 TÀI LIỆU THAM KHẢO

Sandys, G.H. 1960. A new method of preventing swarming of *Proteus* spp. with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J. Med. Lab. Technol., 17: 224.

Benner, E.J. 1970. Simple disposable method for quantitative cultures of urine. Appl. Microbiol., 19 (3): 409.

12 THÔNG TIN THÊM

Các thông tin ghi trên nhãn sẽ có giá trị hơn các công thức hoặc hướng dẫn trong tài liệu này. Các thông tin trong đây có thể bị thay đổi bất cứ khi nào.

Mã tài liệu : CLED_ENv7

Ngày tạo : 06-2003

Ngày cập nhật : 04-2016

Nguyên nhân cập nhật : Cập nhật chung.

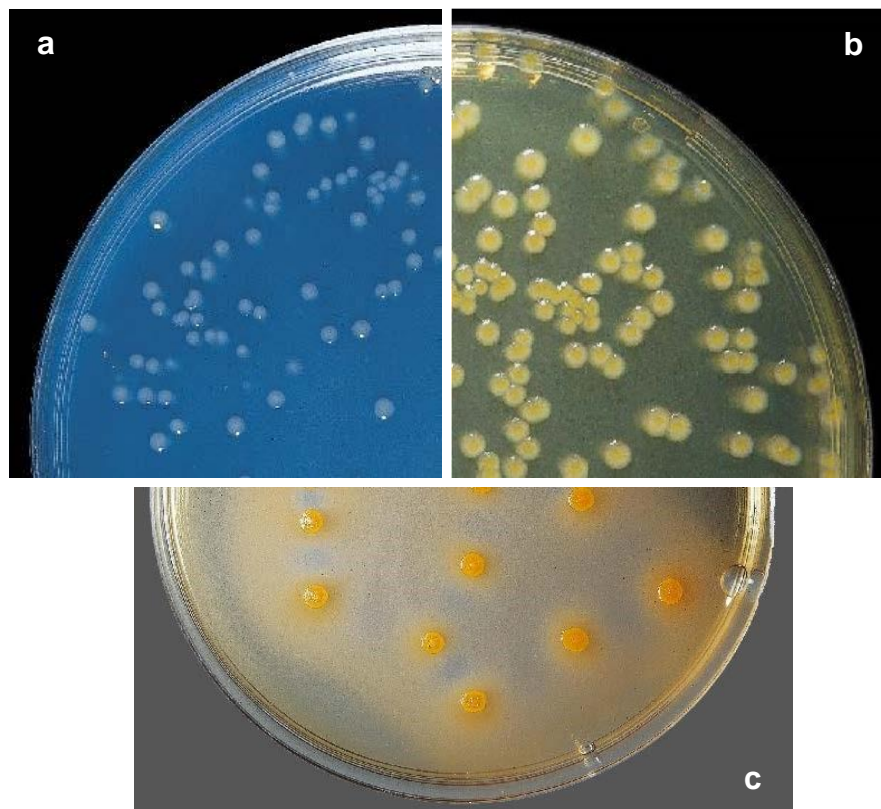
PHỤ LỤC 1 : HÌNH ẢNH HỖ TRỢ

CLED agar

Phân lập, đếm và phân biệt vi khuẩn đường tiết niệu.

Kết quả :

Tăng trưởng sau 24 giờ ủ ở 37 °C.



- (a) *Proteus* : Khuẩn lạc trong suốt trên nền xanh (hoặc được bao quanh bởi một vòng màu xanh), không xâm lấn.
- (b) *Staphylococci* : Khuẩn lạc đục nhỏ, vàng, không quầng.
- (c) *Escherichia coli* : Khuẩn lạc vàng lớn, có quầng vàng bao quanh.