

## TÀI LIỆU KỸ THUẬT

### SLANETZ AND BARTLEY AGAR

#### ĐỊNH LƯỢNG ENTEROCOCCI

#### 1 MỤC ĐÍCH

Slanetz và Bartley Agar là một môi trường chọn lọc được sử dụng để đếm enterococci đường ruột trong nước uống, đồ uống, nước thải, nước hồ bơi và các sản phẩm sinh học khác nhau có nguồn gốc động vật, bằng phương pháp màng lọc. Công thức được định nghĩa trong Tiêu chuẩn NF EN ISO 7899-2 và NF T90-421.

#### 2 LỊCH SỬ

Môi trường được tạo ra bởi Slanetz et al. để đếm enterococci trong nước và đồ uống bằng phương pháp màng lọc. Một biến thể của phương pháp, liên quan đến việc bổ sung TTC (triphenyltetrazolium clorua) dẫn đến việc đếm số lượng khuẩn lạc tốt hơn khi màng được đặt trực tiếp trên bề mặt thạch. Các công thức hiện nay cũng cho kết quả tương đương như các phương pháp được phát triển bởi Litsky, Mallmann và Fifield để phát hiện các Staphylococci phân..

#### 3 NGUYÊN TẮC

Natri azit ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn Gram âm.

TTC là một nhân tố tăng trưởng của vi khuẩn. Nó bị biến đổi thành một chất không hòa tan ở bên trong tế bào. Phản ứng này được nhìn thấy bởi sự hình thành khuẩn lạc từ đỏ đến nâu.

#### 4 THÀNH PHẦN

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

Cho 1L môi trường :

- Tryptose .....	20,0 g
- Yeast extract.....	5,0 g
- Glucose.....	2,0 g
- Dipotassium phosphate .....	4,0 g
- Sodium azide.....	0,4 g
- 2, 3, 5 triphenyltetrazolium chloride.....	0,1 g
- Bacteriological agar.....	10,0 g

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

##### Đối với 41,5 g môi trường kháng BK037

- Tryptose.....	20,0 g
- Yeast extract.....	5,0 g
- Glucose.....	2,0 g
- Dipotassium phosphate .....	4,0 g
- Sodium azide .....	0,4 g
- 2, 3, 5 triphenyltetrazolium chloride.....	0,1 g
- Bacteriological agar .....	10,0 g

##### Đối với 41,4 g môi trường kháng BK129

- Tryptose .....	20,0 g
- Yeast extract .....	5,0 g
- Glucose.....	2,0 g
- Dipotassium phosphate.....	4,0 g
- Sodium azide .....	0,4 g
- Bacteriological agar.....	10,0 g

##### Đối với lọ bổ sung BS027

- 2, 3, 5 triphenyltetrazolium chloride.....	50 mg
----------------------------------------------	-------

## 5 CHUẨN BỊ

### Đối với môi trường khan hoàn chỉnh :

- Hòa tan hoàn toàn 41,5g môi trường khan (BK037) vào 1 lít nước cất vô trùng hoặc nước khử ion.
- Đun nhẹ từ từ cho đến sôi, khuấy nhẹ cho đến khi tan hoàn toàn.
- Không đun quá nóng.
- Không hấp khử trùng.
- Để nguội môi trường ở 44-47°C (không đun tan chảy lại môi trường)
- Đổ vào các đĩa Petri vô trùng (lớp thạch nên dày 5 mm).
- Để cho thạch nguội và bề mặt rắn lại.

### Đối với môi trường khan (không có TTC) :

- Hòa tan 41,4 g môi trường khan (BK129) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion vô trùng.
- Đun sôi từ từ, khuấy đều liên tục cho đến khi hòa tan hoàn toàn.
- Phân thành 100 ml môi trường vào các bình vô trùng (Nếu cần thiết môi trường có thể hấp tiệt trùng 20 phút ở 110°C)
- Làm lạnh và duy trì môi trường ở 44-47 ° C .
- Pha 5 mL nước tiệt trùng vào ống chứa TTC 50 mg Supplement (BS027).
- Bằng kỹ thuật vô trùng thêm 1 ml dung dịch đã pha TTC 50 mg Supplement (BS027) vào mỗi bình.
- Đồng nhất hoàn toàn.
- Đổ vào các đĩa Petri vô trùng (lớp thạch nên dày 5 mm).
- Ủ ở  $(36 \pm 2) ^\circ \text{C}$  ( $44 \pm 4$ ) Giờ.

## 6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Lọc vô trùng một thể tích mẫu cần test thông qua một màng lọc nitrocellulose.

Để bề mặt của các tấm được chuẩn bị như trên hoặc trên môi trường được đổ trước (BM094 hoặc BM146), trước đó được đưa đến nhiệt độ phòng, đặt màng lên bề mặt của thạch, được lọc lên trên, bảo đảm tiếp xúc đúng và đồng nhất với môi trường thạch bề mặt.

Ủ ở  $36 \pm 2^\circ \text{C}$  trong  $44 \pm 4$  Giờ.

## 7 KẾT QUẢ

Những khuẩn lạc đỏ, nâu sẫm hoặc hồng được coi là các khuẩn lạc đặc trưng.

Tiến hành khẳng định các khuẩn lạc điển hình bằng Bile Esculin Azide Agar (BK158 hoặc BM104), gia nhiệt trước tới  $44^\circ \text{C}$ .

XEM PHỤ LỤC 1 : HÌNH ẢNH HỖ TRỢ .

## 8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

- Môi trường khan: kem trắng bột, chảy tự do và đồng nhất.
- Lyophilisate: chất trắng, sau khi hòa tan nước tạo dung dịch không màu, trong suốt.
- Môi trường chuẩn bị: thạch màu hổ phách đến màu cam hồng .
- Kết quả nuôi cấy đặc trưng sau 44 giờ ủ ở  $36^\circ \text{C}$  (NF EN ISO 7899-2, NF EN ISO 11133):

Vi sinh vật		Phát triển
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	$P_R \geq 50 \%$
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00176	$P_R \geq 50 \%$
<i>Enterococcus faecium</i>	WDCM 00178	$P_R \geq 50 \%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	ức chế, score 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00009	ức chế, score 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	ức chế, score 0

**Môi trường khan (BK037) :** 2-30 °C, tránh ánh sáng.  
**Môi trường khan cơ bản không có TTC (BK129) :** 2-30 °C.  
**TTC 50 mg Supplement:** 2-8 °C, shielded from light.  
**Pre-poured media in Petri plates :** 2-8 °C, tránh ánh sáng.  
Hạn sử dụng được in trên nhãn.

**Môi trường pha sẵn cơ bản không có TTC trong ống được hấp khử trùng(\*) :** 180 ngày ở 2-8 °C.  
**Môi trường pha sẵn trong lọ(\*) :** không khuyến khích.  
**Supplement đã thêm nước(\*) :** 30 ngày ở 2-8 °C, tránh ánh sáng.  
**Môi trường pha sẵn trong đĩa (\*) :** 30 ngày ở 2-8 °C, tránh ánh sáng.  
(\*) Giá trị chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

---

## 10 ĐÓNG GÓI

### Môi trường khan :

Chai 500 g.....BK037HA

### Môi trường khan cơ bản (không có TTC) :

500 g bottle .....BK129HA

### TTC 50 mg Supplement:

10 lọ/ gói tương đương 500 mL.....BS02708

### Môi trường đổ đĩa (Ø 55 mm) :

20 đĩa .....BM14608

120 đĩa .....BM09408

---

## 11 THAM KHẢO

Slanetz, L.W., Bent, D.F., and Bartley, C.H. 1955. Use of the membrane filter technique to enumerate enterococci. Public Health. Rep., 70: 67.

Slanetz, L.W., and Bartley, C.H. 1957. Numbers of enterococci in water, sewage, and faeces, determined by the Membrane Filter Technique with an improved medium. J. Bacteriol., 74 (5): 591.

Rodier, J. 1984. L'analyse de l'eau. Dénombrement des streptocoques fécaux présumés. (Méthode par filtration sur membrane). Dunod 7è Ed., 828-829.

NF EN ISO 7899-2. Août 2000. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux. Partie 2 : Méthode par filtration sur membrane.

NF T90-421. Aout 2006. Qualité de l'eau - Examens bactériologiques des eaux de piscines.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau – préparation, stockage et essais de performance des milieux de culture – Microbiologie des aliments pour animaux et des eaux.

---

## 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 : SLANETZ & BARTLEY\_ENv10  
Ngày tạo : 01-2003  
Ngày cập nhật : 01-2017  
Nguyên nhân cập nhật : tham khảo.

## PHỤ LỤC 1 : HÌNH ẢNH HỖ TRỢ

---

### Slanetz & Bartley Agar

Định lượng *Enterococci*

### Kết quả :

Sinh trưởng sau 44 giờ và ủ ở 36 °C (màng lọc).

#### *Enterococcus faecalis*

Characteristic colony : Red to maroon color  
(Reduction of T

