

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

KF STREPTOCOCCUS AGAR (BASE)

ĐỊNH LƯỢNG *ENTEROCOCCI*

1 MỤC ĐÍCH

KF (Kenner Fecal) Streptococcus Agar là một môi trường chọn lọc được sử dụng để phân lập và định lượng enterococci trong các sản phẩm thực phẩm bằng cách sử dụng các kỹ thuật đếm cổ điển trên các đĩa Petri. Nó cũng được khuyến nghị trong tiêu chuẩn về thành phần của men axit lactic trong các sản phẩm sữa (ISO 27205), để phát hiện *enterococci* như là chất gây ô nhiễm.

2 LỊCH SỬ

KF Agar được sử dụng bởi Kenner et al. năm 1960 cho việc định lượng các *Streptococci* phân trong mẫu nước và tìm thấy khả năng phục hồi tuyệt vời so với các môi trường khác được sử dụng tại thời điểm đó. Các tác giả quan sát thấy rằng môi trường dẫn đến một đặc tính tuyệt vời của cầu khuẩn đường ruột cũng như của vi sinh vật có đặc tính sinh hóa và kháng nguyên tương tự: *Streptococcus bovis* và *Equinus Streptococcus*.

3 NGUYÊN TẮC

Khả năng dinh dưỡng cao của môi trường là do sự hiện diện của polypeptone với tỷ lệ cao, chiết xuất men và carbohydrate.

Natri clorua duy trì trạng thái cân bằng thẩm thấu.

Lactose và maltose là nguồn năng lượng cho các vi sinh vật có thể sử dụng chúng.

Sự axit hóa của môi trường được thể hiện bằng bromocresol chuyển từ màu tím sang màu vàng.

Natri azide ức chế sự phát triển của vi khuẩn Gram âm.

TTC được thêm vào ngay trước khi sử dụng là một chỉ số cho sự phát triển của vi khuẩn. Nó được khử thành một formazan không hòa tan bên trong các tế bào. Phản ứng này được nhận thấy bằng sự xuất hiện của các khuẩn lạc màu đỏ đến nâu sẫm.

4 THÀNH PHẦN

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

Trong 1 lít môi trường hoàn chỉnh :

- Polypeptone	10,0 g
- Yeast extract	10,0 g
- Maltose	20,0 g
- Lactose	1,0 g
- Sodium chloride	5,0 g

- Sodium glycerophosphate.....10,0 g
- Sodium azide0,4 g
- Bromocresol purple..... 15,0 mg
- 2, 3, 5 triphenyltetrazolium chloride.....0.1 g
- Bacteriological agar12,0 g

pH của môi trường chuẩn bị sẵn ở 25 °C : 7,2 ± 0,2.

Đối với 68,4 g môi trường khan cơ bản BK132

- Polypeptone.....10,0 g
- Yeast extract.....10,0 g
- Maltose20,0 g
- Lactose1,0 g
- Sodium chloride5,0 g
- Sodium glycerophosphate10,0 g
- Sodium azide0,4 g
- Bromocresol purple15,0 mg
- Bacteriological agar12,0 g

Đối với 1 lọ chất bổ sung BS027

- Triphenyltetrazolium.....50 mg (chloride)

5 CHUẨN BỊ

- Hòa tan 68,4 g môi trường khan cơ bản (BK132) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử khoáng.
- Đun sôi từ từ, khuấy liên tục cho đến khi tan hoàn toàn.
- Tiếp tục đun sôi trong 5 phút mà không vượt quá thời gian gia nhiệt này.
- Không hấp tiệt trùng.
- Để nguội và duy trì môi trường ở trạng thái nóng chảy 44-47 °C
- Hoàn nguyên TTC supplement (BS027) với 5 mL nước cất hoặc nước khử ion.
- Trộn hoặc vortex lọ chất bổ sung để đảm bảo hòa tan hoàn toàn, tránh trường hợp tạo bọt.
- Thêm 1 mL chất bổ sung hoàn nguyên vào 100 mL môi trường cơ bản được giữ ở 44-47 °C.
- Đổ vào đĩa petri vô trùng, để đông lại trên bề mặt lạnh.

☐ Nồng độ

68,4 g/L

☐ Tiệt trùng :

Không

☐ Hoàn nguyên chất bổ sung

5 mL nước cất

☐ Thêm vào môi trường cơ bản :

1 mL / 100 mL

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Chuyển 0,1 ml của mẫu xét nghiệm đã pha loãng lên trên bề mặt của thạch.
- Trải đều bằng que trang vô trùng.
- Ủ ở (43 ± 1)°C trong 48 giờ.

☐ Cấy

0,1 mL trên bề mặt

☐ Ủ

48 giờ - 43 °C

NOTE :

Môi trường cũng có thể được cấy bằng kỹ thuật đổ đĩa, với 1 ml dung dịch cấy trên mỗi đĩa.

7 KẾT QUẢ

Khuẩn lạc màu đỏ, nâu sẫm và hồng, xung quanh có quầng màu vàng được xem là những khuẩn lạc đặc trưng.

Xem PHỤ LỤC 1 : HÌNH ẢNH HỖ TRỢ.

8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Môi trường khan: bột hơi trắng, đồng nhất và chảy tự do.

Chất bổ sung đông khô : viên trắng, sau khi pah cho ra dung dịch trong suốt.

Môi trường pha sẵn hoàn chỉnh : thạch tím - xanh.

Phản ứng điển hình sau 48h và ủ ở 43 °C :

Vi sinh vật		Tăng trưởng (Tỉ suất : P_R)
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	$P_R \geq 70 \%$
<i>Enterococcus faecium</i>	WDCM 00010	$P_R \geq 70 \%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Ức chế, score 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Ức chế, score 0

9 BẢO QUẢN

Môi trường khan cơ bản : 2-30 °C.

TTC 50 mg Supplement: 2-8 °C.

Hạn sử dụng được ghi trên nhãn dán.

Môi trường đồ đĩa hoàn chỉnh (*) : 8 ngày ở 2-8 °C, tránh ánh sáng.

Rehydrated supplement (*) : 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.....BK132HA

TTC 50 mg Supplement:

10 LọBS02708

11 THAM KHẢO

Kenner, B.A., Clark, H.F., and Kabler, P.W. 1961. Fecal Streptococci. I. Cultivation and Enumeration of Streptococci in Surface Waters. Appl. Microb., 9: 15-20.

MacFaddin, J.F. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Maintenance of Medical Bacteria. Vol 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 395-398.

ISO 27205. Février 2010. Produits laitiers. Ferments acidifiants. Norme de composition.

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 : KF AGAR_ENv6
Ngày tạo : 01-2003
Cập nhật : 05-2016
Nguồn gốc sửa đổi : cập nhật chung.

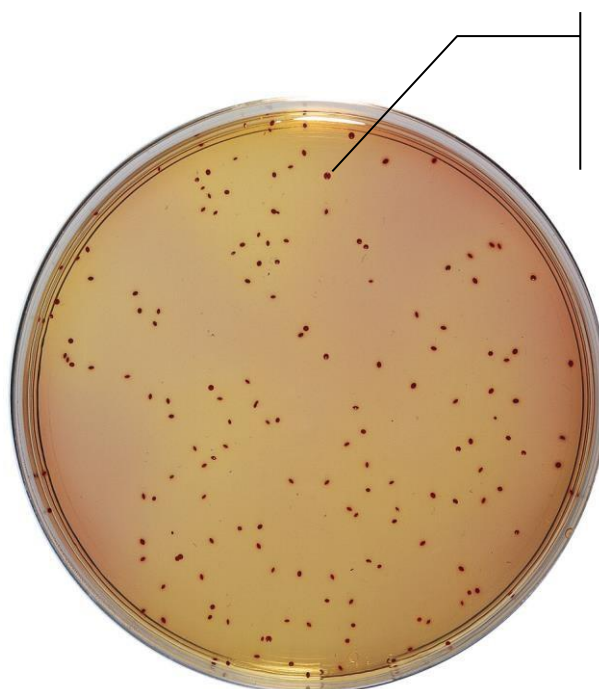
PHỤ LỤC 1 : HÌNH ẢNH HỖ TRỢ

KF AGAR

Phát hiện và định lượng enterococci.

Kết quả :

Tăng trưởng sau 48h và ủ ở 43 °C.



Enterococcus faecalis

Khuẩn lạc đặc trưng :
Khuẩn có màu đỏ đến nâu
sẫm, xung quanh có quầng
màu vàng.