

PHƯƠNG PHÁP CÂY TRUYỀN CÁC TẾ BÀO VI KHUẨN

■ Minh Biện

Trường ĐHSP - Đại học Huế

Chuyển một loại vi khuẩn nhất định đang sống từ bình nuôi hoặc giống gốc sang môi trường thích hợp để các vi khuẩn này tiếp tục được nhân lên, gọi là cấy hay cấy truyền. Để tránh tạp nhiễm người ta thường tiến hành cấy truyền trong các tủ cấy có thổi khí vô trùng với các thao tác quy định. Trong bài viết này chúng tôi giới thiệu các phương pháp cấy truyền các tế bào vi khuẩn thông dụng.

1. Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất, môi trường và chủng vi khuẩn

a. *Dụng cụ*: pipet pasteur có nút bông; bao gói kín, khử trùng khô; que cấy đầu tròn (inoculating loop) đường kính 2-4mm làm bằng dây platin, may-xo gắn vào cán nhôm hoặc hợp kim không gỉ, chuôi cán có bọc nhựa tránh nóng dài khoảng 16-17cm (hình 1); que tăm bông vô khuẩn; bơm tiêm và kim tiêm chịu nhiệt: khử trùng bằng hơi nước 121⁰C/20-30 phút; đèn cồn; giá cầm ống nghiệm; giá cầm pipet...

b. *Hóa chất, môi trường*: nước muối sinh lý vô khuẩn; môi trường lỏng vô khuẩn; môi trường đặc vô khuẩn; dung dịch sát khuẩn cresyl 3 - 5% hay cồn 70⁰

c. *Vi khuẩn*: (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*...) đã nuôi cấy trên môi trường đặc, hoặc mẫu có vi khuẩn (sữa chua, tôm chua, biosubtyl...).

2. Tiến hành cấy truyền trên môi trường lỏng

a. *Chuẩn bị* đủ phương tiện cần thiết như pipet nếu ống giống là lỏng, hoặc que cấy nếu ống giống là môi trường thạch cứng.

b. *Đánh dấu ống môi trường* cho phù hợp với ống giống (dán nhãn ghi tên vi khuẩn, ngày cấy truyền vào thành ống nghiệm dưới nút bông một chút)

c. *Cấy truyền bằng pipet pasteur*

- Khử trùng pipet pasteur qua ngọn lửa đèn cồn
- Tay trái cầm ống giống gốc, dùng ngón tay út phải mở nút bông của ống giống, hơ và xoay miệng ống giống qua ngọn lửa đèn cồn để sát khuẩn.
- Cho pipet pasteur vào ống giống lỏng để lấy dịch vi khuẩn (dịch dâng lên trong pipet từ từ theo lực mao dẫn), nhanh chóng đặt ngón tay trở phải lên đầu pipet, rút pipet ra khỏi ống, đẩy nút bông lại rồi đặt ống giống vào giá.
- Cầm ống môi trường mới bằng tay trái, mở nút bằng ngón tay út phải, khử khuẩn miệng ống, cho pipet vào tới khi đầu pipet chạm vào môi trường và để chảy ra vài giọt dịch chứa vi khuẩn. Rút pipet ra, khử trùng miệng ống, đẩy nút.
- Đặt pipet vào bình đựng thuốc sát khuẩn.

d. *Cấy truyền bằng que cấy*

- Cầm que cấy thẳng đứng, đốt đầu que cấy trên ngọn lửa đèn cồn, đưa ngang phần kim loại trên đèn vài lần ta có que cấy đã vô trùng.
- Lấy một vòng que cấy đầu tròn vi khuẩn từ ống giống thạch nghiêng trong điều kiện vô trùng (các thao tác như tiến hành như cấy truyền bằng pipet pasteur)
- Khi đầu que cấy chạm vào môi trường thì lắc khẽ que cấy cho vi khuẩn tan trong môi trường.
- Khử trùng que cấy bằng cách đốt trên ngọn lửa đèn cồn.

- Sau khi cấy truyền xong đặt môi trường vào tủ ẩm ở nhiệt độ, thời gian thích hợp tùy từng loài vi khuẩn.

Nhận xét kết quả:

- Vi khuẩn làm đục đều môi trường
- Vi khuẩn phát triển lắng xuống đáy môi trường
- Vi khuẩn mọc thành vầng trắng trên mặt môi trường.

3. Cấy truyền trên môi trường đặc

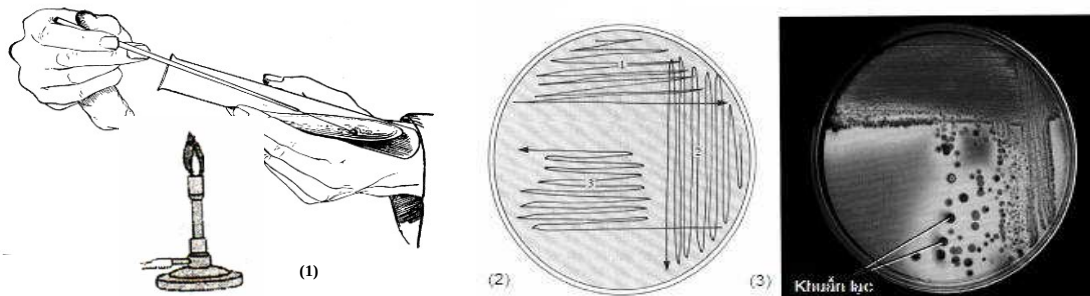
a. *Cấy truyền trên môi trường thạch đĩa*: có thể cấy truyền trên đĩa petri theo một trong các cách sau:

- Cách 1:

+ Tay trái cầm đĩa môi trường, khử trùng nơi định mở trên ngọn lửa đèn cồn, dùng ngón tay cái và ngón giữa tay trái đẩy nắp hộp lồng lên.

+ Tay phải cầm que cấy lấy một vòng mẫu, ria cấy trên môi trường theo phương pháp cấy cạn dần (hình 1).

+ Đậy nắp môi trường, đốt đỏ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn.



Hình 1: Cách cấy truyền trên môi trường thạch đĩa: (1) Cách lấy giống, (2) Cách ria cấy, (3) Kết quả sau 24 - 48 giờ nuôi ở nhiệt độ 28-30°C.

- Cách 2:

+ Hút 0,1ml dịch cấy, nhỏ lên đĩa petri có môi trường dinh dưỡng đặc

+ Dùng que trang gạt phân phối giọt dịch đều khắp mặt thạch đĩa

- Cách 3:

+ Hút 0,1ml dịch cấy, nhỏ lên đĩa petri có môi trường dinh dưỡng đặc ở nhiệt độ 50°C

+ Lay nhẹ đĩa thạch theo chiều đông-bắc, tây-nam cho vi khuẩn phân bố đều trong môi trường thạch còn nóng.

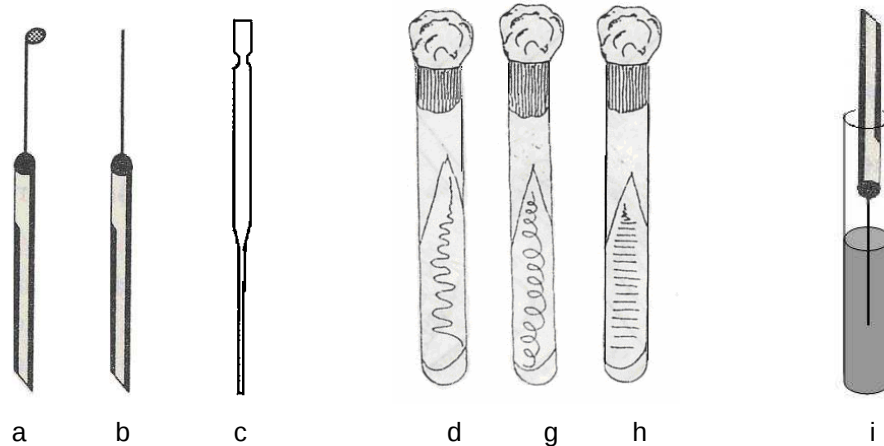
Đặt vào tủ ẩm ở nhiệt độ thích hợp 28-30°C, thời gian 24 – 48 giờ.

b. *Cấy truyền trên môi trường thạch ống*

Khi cấy truyền thì tay trái cầm ống nghiệm, phần dưới ống nghiệm nằm trong lòng ngón tay và bàn tay. Mỗi lần cầm nhiều nhất là 3 ống, trong đó 1 ống giống và 2 ống có môi trường chưa cấy. Tay phải cầm que cấy đốt đỏ sợi kim loại để khử trùng. Dùng tay phải mở nút bông bằng cách kẹp giữa ngón tay rồi hơ và xoay tròn miệng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn cho đến khi nóng bông mới thôi. Dí đầu que cấy đã nguội vào ống giống và gạt nhẹ chỗ có giống mọc tốt đem vạch lên ống thạch mới từ dưới lên theo đường hình chữ chi hoặc vòng xoắn (hình 2: d, g, h).... sao cho đầu que cấy không chạm vào ống nghiệm còn nóng. Khi 2 ống đã cấy xong thì

ta hơ miệng ống nghiệm qua ngọn lửa đèn cồn rồi đẩy nút bông lại. Các que cấy đã cấy xong cần được đốt cho vô trùng. Muốn cấy vi khuẩn kỵ khí ta dùng que cấy hình kim tiêm sâu vào môi trường. Các bình, dụng cụ chứa môi trường có vi khuẩn mới cấy cần được đưa ngay vào tủ ẩm có bộ phận điều nhiệt và điều chỉnh nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của chúng. Thông thường duy trì nhiệt độ thích hợp là 20-30°C, thời gian 24 – 48 giờ.

Nhận xét kết quả: Nhận xét hình thái khuẩn lạc: màu sắc, kích thước, dạng: S (Smooth) - nhẵn, bóng hay dạng R (Rough) - nhăn nheo, hoặc dạng M (Mucoid) - nhầy nhót.



Hình 2: Một số dụng cụ và kỹ thuật gieo cấy vi khuẩn

a) Que cấy vòng, b) que cấy hình kim, c) pipet pasteur ; Một số kiểu cấy (d, g, h), i) Cấy vi khuẩn kỵ khí bằng que cấy hình kim

Câu hỏi: 1) Nguyên tắc cấy truyền tế bào vi khuẩn sống? 2) Mục đích của việc cấy truyền vi khuẩn? 3) Khi cấy truyền vi khuẩn cần lưu ý những điểm gì? Vì sao? 4) Cơ sở khoa học của phương pháp cấy cấy dần?

4. Những điểm cần lưu ý

- Môi trường đặc phải có bề mặt khô, phẳng. Nếu ống môi trường còn đọng nước cần dụng ống mới cấy vào giá ống nghiệm, tránh nước làm hoen vết cấy.
- Khi tiến hành cấy truyền tránh chạm đầu que cấy dùng để lấy vi khuẩn vào bất cứ vật gì.
- Nếu dịch vi khuẩn cấy truyền rơi xuống mặt bàn cần lau ngay bằng panh kẹp bông thấm cồn hoặc nước sát trùng.
- Nếu bình nuôi quá to cần có người phụ giúp trong việc kéo, đẩy nút bông...
- Khi cấy truyền vi khuẩn người ta dùng tay trái cầm hai ống nghiệm; ống có vi sinh vật ở xa và ống môi trường ở gần người thao tác. Trước và sau khi cấy truyền xong phải hơ que cấy trên ngọn lửa đèn cồn để vô trùng que cấy. ♦

Tài liệu tham khảo

- [1] Vũ Thị Minh Đức (2001), *Thực tập vi sinh vật học*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
- [2] John William Henry Eyre, (2009), *A Laboratory Guide for Medical, Dental, and Technical Students*, <http://www.gutenberg.org/>