

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

CFC AGAR

ĐỊNH LƯỢNG *PSEUDOMONAS*

1 MỤC ĐÍCH

CFC Agar là môi trường chọn lọc để định lượng *Pseudomonas* spp. thường gây ô nhiễm thịt và các sản phẩm gia cầm đông lạnh

Thành phần chính đáp ứng tiêu chuẩn NF EN ISO 13720 – định lượng *Pseudomonas* giả định trong thịt và các sản phẩm từ thịt.

2 LỊCH SỬ

Công thức của môi trường cơ bản là sự thay đổi thành phần của môi trường của King A, trong đó magnesium chloride và potassium sulfate có lợi cho việc sản xuất pyocyanin. Chất bổ sung CFC được phát triển bởi Mead và Adams vào năm 1976 để kích thích sự phát triển có chọn lọc của hầu hết *Pseudomonas* ưa lạnh làm nhiễm các sản phẩm gia cầm.

3 NGUYÊN TẮC

Pancreatic digest của gelatin và Tryptone là các chất nền dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển nhanh chóng của *Pseudomonas*.

Việc sản xuất pyocyanin (màu xanh, sắc tố không huỳnh quang, hòa tan trong nước và trong chloroform) được kích thích bởi magnesium chloride và potassium sulfate.

Nồng độ cephalosporin ức chế vi khuẩn gây ô nhiễm nhất, đặc biệt enterobacteria, staphylococci và streptococci.

Fucidin ức chế sự phát triển của *Acinetobacter* / *Moraxella* mà không ảnh hưởng đến sự phát triển của *Pseudomonas*.

Nấm men gây nhiễm bị ức chế bởi cetrimide và các muối ammonium bậc 4.

4 THÀNH PHẦN

Có thể được điều chỉnh để có được hiệu suất tối ưu

Trong 1 lit môi trường:

- Pancreatic digest of gelatin..... 16,0 g
- Tryptone 10,0 g
- Potassium sulfate..... 10,0 g
- Magnesium chloride 1,4 g
- Bacteriological agar..... 12,0 g
- Cetrimide..... 10,0 mg

- Fucidin..... 10,0 mg
 - Cephalotin 50,0 mg
- pH môi trường hoàn chỉnh ở 25 °C : $7,2 \pm 0,2$.

5 CHUẨN BỊ

Sử dụng môi trường bột khô và chất bổ sung đông khô

- Hòa tan 49,4 g môi trường bột khô (BK118) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion.
- Đun từ từ đến sôi, khuấy đều liên tục cho đến khi môi trường tan hoàn toàn.
- Phân phối vào mỗi bình 100ml.
- Tiệt trùng trong nồi hấp ở 121 °C trong 15 phút.
- Duy trì ở nhiệt độ 44-47 °C
- Hoàn nguyên chất bổ sung CFC đông khô (BS022) với 5 mL nước cất vô trùng.
- Lắc hoặc vortex ống để đồng nhất hoàn toàn, tránh tạo ra bọt.
- Thêm vô trùng 1ml chất bổ sung chọn lọc vừa hoàn nguyên vào bình 100ml đã chuẩn bị ở trên
- Đổ khoảng 15 mL môi trường vào các đĩa Petri vô trùng.
- Để đông trên bề mặt phẳng

Sử dụng môi trường pha sẵn (ready-to-melt)

- Làm nóng chảy môi trường (nếu nó được chuẩn bị trước) hoặc làm nóng chảy môi trường pha sẵn (BM096) trong khoảng thời gian cần thiết ít nhất để đạt được sự tái hóa lỏng
- Duy trì ở nhiệt độ 44-47 °C.
- Thêm vô trùng 2 mL chất bổ sung vào mỗi bình 200 ml (BM096).
- Đổ vào đĩa Petri vô trùng.
- Để đông trên bề mặt phẳng

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Làm khô các đĩa trong tủ ẩm bằng cách mở hé một phần nắp
- Trên bề mặt môi trường, cấy trải 0,1 ml mẫu cần phân tích và các nồng độ nối tiếp pha loãng.
- Ủ ở 25 ± 1 °C trong 44 ± 4 giờ

7 KẾT QUẢ

Chỉ đếm những đĩa môi trường chứa không quá 150 khuẩn lạc.

Pseudomonas thường có các khuẩn lạc màu xanh hoặc huỳnh quang, nhưng tất cả các loại khuẩn lạc phải được khẳng định lại qua thử nghiệm test Oxidase.

XEM PHỤ LỤC ẢNH

8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Môi trường bột khô: bột màu trắng kem, chảy tự do, đồng nhất.

Chất bổ sung chọn lọc: viên màu trắng, sau khi đồng nhất: dung dịch trắng đục tới vàng

Môi trường chuẩn bị sẵn: thạch màu hơi trắng

Phản ứng nuôi cấy đặc trưng trên môi trường hoàn chỉnh sau 44 giờ ủ ở 25°C (NF EN ISO 11133) :

VI SINH VẬT	PHÁT TRIỂN (TỈ LỆ NĂNG SUẤT P _R)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> WDCM 00115	P _R ≥ 50 %

<i>Pseudomonas fragi</i> WDCM 00116	$P_R \geq 50 \%$
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	ức chế, score 0

9 BẢO QUẢN

Môi trường dạng bột khô: 2-30 °C
Chất bổ sung chọn lọc CFC: 2-8 °C
Môi trường chuẩn bị sẵn (ready-to-melt): 2-8°C
 Hạn sử dụng được in trên bao nhãn

Môi trường cơ bản chuẩn bị sẵn trong chai (*): 180 ngày ở 2-8°C.
Môi trường hoàn chỉnh chuẩn bị sẵn trong đĩa (*): 8 ngày ở 2-8 °C
Chất bổ sung chọn lọc CFC hoàn nguyên (*): 30 ngày tại 2-8 °C
 (*) 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 bột khô cơ bản (không có cetrinide, fucidin và cephalosporin):
 Chai 500 gBK118HA

Môi trường cơ bản chuẩn bị sẵn ready-to-melt (không có cetrinide, fucidin và cephalosporin):
 10 ống x 200mlBM09608

CFC Selective Supplement (cetrinide, fucidin và cephalosporin):
 10 ống cho 500mlBS02208

11 THAM KHẢO

Barnes, E.M. and Thorney, M.I.. 1966. The spoilage flora of eviscerated chickens stored at different temperatures. Journal of Food Technology, 1:113-119.

Mead, G.C. and Adams, B.W.. 1977. A selective medium for the rapid isolation of pseudomonads associated with poultry meat spoilage. British Poultry Science, 18:661-670.

NF EN ISO 13720. Novembre 2010. Viandes et produits à base de viandes. Dénombrement des *Pseudomonas* spp. présumptifs.

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: CFC_EN V8
 Ngày tạo: 04-2001
 Cập nhật: 04-2016
 Nguồn gốc của bản sửa đổi: Cập nhật chung

HÌNH ẢNH MINH HỌA

CFC Agar

Phát hiện và định lượng *Pseudomonas*

Kết quả:

Sinh trưởng thu được sau 48 giờ ủ ở 25°C



***Pseudomonas* spp.**

Khuẩn lạc đặc trưng:
màu vàng đến hơi xanh,
có khi phát huỳnh quang