

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

COMPASS® ECC AGAR

ĐỊNH LƯỢNG *ESCHERICHIA COLI* VÀ COLIFORM KHÁC

1 MỤC ĐÍCH

Chromogenic Compass Ecc Agar là môi trường chọn lọc dùng để định lượng đồng thời Coliform và *E. coli* mà không cần khẳng định trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.

2 LỊCH SỬ

Việc phân loại Coliform theo truyền thống dựa trên khả năng lên men lactose và sinh acid của vi sinh vật. Quá trình lên men lactose là kết quả của tác động liên tiếp của hai enzyme: Đầu tiên, permease chịu trách nhiệm cho sự xâm nhập của đường vào vi khuẩn, và sau đó một β -galactosidase mà cắt giảm glucose thành galactose, qua đó tích cực tham gia quá trình lên men.

Ngay từ năm 1962, Le Minor và Ben Hamida đã chứng minh được lợi thế của việc phát hiện β -galactosidase so với quá trình lên men lactose để xác định đặc tính sinh học của vi khuẩn enterobacteria. Các chủng lên men với lactose chậm hoặc không lên men lactose được biết là tồn tại trong chi coliform và các loài khác. Môi trường truyền thống bỏ qua những biotype β -galactosidase-dương tính nhưng permease-âm tính. Năm 1989, Leclerc & Mossel đề xuất rằng sự hiện diện của β -galactosidase với coliforms được sử dụng như tiêu chuẩn chính để phân loại. Việc sử dụng chất tổng hợp cơ chất sinh màu, không nhạy cảm với sự khác nhau về độ thấm của lactose, cho phép sử dụng enzyme này bằng phản ứng so màu.

Năm 1949, Buehler và cộng sự là người đầu tiên xác định sự hiện diện của một β -D-glucuronidase với *Escherichia coli*. Kể từ đó, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng 94 đến 97% *Escherichia coli* có hoạt tính β -D-glucuronidase và hiếm gặp với các loài khác (hoạt động của enzyme đã được phát hiện ở một số chủng *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella* và *Yersinia*).

3 NGUYÊN TẮC

Sự hiện diện đồng thời của hai cơ chất tạo màu (chromogenic substrates) cho phép phát hiện 2 loại hoạt động của enzyme cụ thể: β -galactosidase và β -glucuronidase (GUD).

VI SINH VẬT	TYPICAL PHENOTYPE	MÀU KHUẨN LẠC
<i>Escherichia coli</i>	GUD + / β -gal +	Xanh dương-tím
Coliforms (trừ <i>Escherichia</i>)	GUD - / β -gal +	Hồng
Vi khuẩn Gram âm khác	GUD - / β -gal -	Trắng

4 THÀNH PHẦN

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

Trong 1 lit môi trường:

- Peptones.....	18,40 g
- Buffering system.....	5,80 g
- Growth activators.....	3,55 g
- Chromogenic mixture	0,44 g
- Selective agents	1,61 g
- Bacteriological agar	11,00 g

pH môi trường hoàn chỉnh ở 25 °C : $6,9 \pm 0,2$.

5 CHUẨN BỊ

- Hoà tan 40,8 g môi trường dạng bột (BK202) trong 1 lít cất hoặc nước khử ion.
- Khuấy từ từ cho đến khi tan hoàn toàn.
- Phân phối vào các lọ hoặc ống.
- Tiệt trùng trong nồi hấp ở 121 °C trong 15 phút.
- Làm mát và duy trì ở nhiệt độ 44-47 ° C.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Hút 1 mL mẫu và các nồng độ pha loãng tiếp theo vào đĩa Petri vô trùng.
- Đổ khoảng 15 mL môi trường lỏng vào mỗi đĩa.
- Trộn đều bằng cách xoay đĩa, để đông trên bề mặt phẳng, lạnh
- Ủ ở 37 ± 1 ° C trong 21 ± 3 giờ để định lượng *Escherichia coli* và tổng coliforms.
- Ủ ở 44 ± 1 ° C trong 21 ± 3 để đếm *Escherichia coli* và fecal coliforms.

Chú ý:

Trong trường hợp sản phẩm bị nhiễm khuẩn nặng, nên đổ thêm một lớp môi trường nữa để việc đọc kết quả được chính xác.

7 KẾT QUẢ

Đếm số khuẩn lạc trên các đĩa chứa dưới 300 khuẩn lạc.

Coliforms không phải *Escherichia coli* có khuẩn lạc màu hồng.

Các khuẩn lạc của *Escherichia coli* có màu xanh dương-tím và đôi khi có thể nhìn thấy một quầng sáng màu hồng khuếch tán quanh các khuẩn lạc

XEM PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH MINH HỌA

8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Môi trường dạng bột: bột màu kem, chảy tự do và đồng nhất.

Môi trường chuẩn bị sẵn: thạch màu hồng phách, hơi trắng đục

Phản ứng nuôi cấy đặc trưng sau 21 giờ ủ ở 37°C:

VI SINH VẬT		PHÁT TRIỂN	
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	$P_R \geq 50 \%$	Khuẩn lạc màu xanh-tím
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	$P_R \geq 50 \%$	Khuẩn lạc màu xanh-tím
<i>Enterobacter aerogenes</i>	WDCM 00175	$P_R \geq 50 \%$	Khuẩn lạc màu hồng
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Ức chế	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Ức chế	-

9 BẢO QUẢN

Môi trường dạng bột: 2-30 °C.

Ngày hết hạn được ghi trên nhãn.

Môi trường chuẩn bị trong lọ hoặc ống (*): 90 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 dạng bột:

Chai 500 g..... BK202HA

11 THAM KHẢO

Le Minor, L. et Ben Hamida, F.. 1962. Avantages de la recherche de la β -galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bactériologique, en particulier des *Enterobacteriaceae*. Annales de l'Institut Pasteur (Paris), **102** : 267-277.

Kilian, M. and Bülow, P.. 1976. Rapid diagnosis of *Enterobacteriaceae*. I. Detection of bacterial glycosidases. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, Sect. B **84** : 245-251.

Adams, M.R., Grubb, S.M., Hamer, A., and Clifford, M.N.. 1990. Colorimetric enumeration of *Escherichia coli* based on β -glucuronidase activity. Applied and Environmental Microbiology, **56** : 2021-2024.

Manafi, M., Kneifel, W., and Bascomb, S.. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial dianafagnostics. Microbiological Reviews, **55** : 335-348.

Coiffier, O.. 1992. Les bactéries coliformes, p. 303-323, dans les groupes microbiens d'intérêt laitier, CEPIL, Paris.

12 THÔNG TIN BỔ SUNG

COMPASS® là nhãn hiệu đã đăng ký của SOLABIA S.A.S.

Thông tin được cung cấp trên nhãn được ưu tiên hơn so với các công thức hoặc hướng dẫn được mô tả trong tài liệu này và có thể dễ bị sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần cảnh báo.

Mã tài liệu: COMPASS ECC_ENv2

Ngày tạo: 07-2010

Cập nhật: 03-2016

Nguồn gốc của bản sửa đổi: Bản cập nhật chung.

PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH MINH HỌA

COMPASS® Ecc Agar

Định lượng *Escherichia coli* và các vi khuẩn coliform khác.

Kết quả:

Tăng trưởng thu được sau 24 giờ ủ ở 37°C

