

GELOSE CFC

DENOMBREMENT DES *PSEUDOMONAS*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose CFC est un milieu sélectif destiné au dénombrement de *Pseudomonas* spp, contaminant fréquemment rencontré dans les viandes et volailles au cours de leur conservation par réfrigération.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 13720, pour le dénombrement des *Pseudomonas* présomptifs dans les viandes et produits à base de viande.

2 HISTORIQUE

La formule du milieu de base constitue une modification du milieu de King A dans lequel le chlorure de magnésium et le sulfate de potassium favorisent la production de pyocyanine. En 1976, le supplément sélectif CFC a été mis au point par Mead et Adams afin de permettre le développement sélectif de la majorité des *Pseudomonas* psychrophiles qui contaminent les produits d'origine aviaire.

3 PRINCIPES

La peptone pancréatique de gélatine et la Tryptone constituent les substrats nutritifs nécessaires à la multiplication rapide des *Pseudomonas*.

La production de pyocyanine (pigment bleu, non fluorescent, soluble dans l'eau et le chloroforme) est stimulée en présence de chlorure de magnésium et de sulfate de potassium.

La concentration en céphalotine (antibiotique de la famille des céphalosporines) permet d'inhiber la majeure partie des germes contaminants, et plus particulièrement les entérobactéries, les staphylocoques et les streptocoques.

Le fusidate de sodium inhibe le développement des *Acinetobacter/Moraxella* sans intervenir sur la croissance des *Pseudomonas*.

Les levures contaminantes sont inhibées par le cétrimide, ammonium quaternaire.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine	16,0 g
- Tryptone	10,0 g
- Sulfate de potassium.....	10,0 g
- Chlorure de magnésium.....	1,4 g
- Cétrimide.....	10,0 mg
- Fusidate de sodium.....	10,0 mg
- Céphalotine	50,0 mg
- Agar agar bactériologique	12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,2 ± 0,2.

Pour 49 g de base BK118 ou 1 litre de BM096

- Peptone pancréatique de gélatine	16,0 g
- Tryptone	10,0 g
- Sulfate de potassium	10,0 g
- Chlorure de magnésium.....	1,4 g
- Agar agar bactériologique.....	12,0 g

Pour un flacon de supplément BS022

- Cétrimide	5,0 mg
- Fusidate de sodium	5,0 mg
- Céphalotine.....	25,0 mg

5 PREPARATION

A partir du milieu déshydraté et du supplément lyophilisé :

- Mettre en suspension 49,4 g de milieu déshydraté (BK118) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
 - Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
 - Répartir en flacons à raison de 100 mL.
 - Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
 - Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- ✓ **Reconstitution :**
49,4 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C
- Réhydrater le supplément lyophilisé CFC (BS022) avec 5 mL d'eau stérile.
 - Agiter ou vortexer le flacon de façon à obtenir une dissolution complète, tout en évitant la formation de mousse.
 - Ajouter stérilement 1 mL de supplément dans chaque flacon de 100 mL de milieu.
 - Couler en boîtes de Petri stériles.
 - Laisser solidifier sur une surface froide.

A partir du milieu prêt-à-liquéfier :

Faire fondre le milieu (s'il est préparé à l'avance) ou bien le milieu prêt-à-liquéfier (BM096) pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction totale.

- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Ajouter stérilement 2 mL de supplément dans chaque flacon de 200 mL de milieu (BM096).
- Couler en boîtes de Petri stériles.
- Laisser solidifier sur une surface froide.

6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert
- A la surface du milieu, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales successives.
- Ensemencer l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 25 ± 1 °C pendant 44 ± 4 heures.

✓ **Ensemencement :**
0,1 mL en surface

✓ **Incubation :**
44 h à 25 °C

7 LECTURE

Procéder au comptage des boîtes ne contenant pas plus de 150 colonies.

Les *Pseudomonas* présentent souvent des colonies pigmentées ou fluorescentes mais tous les types de colonies doivent être confirmées par un test Oxydase.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-crème, fluide et homogène.

Supplément sélectif : lyophilisat blanchâtre, donnant après reconstitution une solution blanchâtre à jaunâtre, opaque.

Milieu préparé : gélose blanchâtre.

Réponse culturale sur milieu complet après 44 heures d'incubation à 25 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	WDCM 00115	$P_R \geq 50 \%$
<i>Pseudomonas fragi</i>	WDCM 00116	$P_R \geq 50 \%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée, score 0

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30 °C.

Supplément sélectif pour gélose CFC : 2-8 °C.

Milieu de base prêt-à-liquéfier : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu de base préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu complet préparé en boîtes (*) : 8 jours à 2-8 °C.

Supplément CFC réhydraté (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu de base déshydraté (sans cétrimide, ni fusidate de sodium, ni céphalotine) :

Flacon de 500 g BK118HA

Supplément sélectif pour gélose CFC (cétrimide, fusidate de sodium, cephalotine):

Coffret de 10 flacons qsp 500 mL..... BS02208

Milieu de base prêt-à-liquéfier (sans cétrimide, ni fusidate de sodium, ni céphalotine) :

Pack de 10 flacons de 200 mL BM09608

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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. présomptifs.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : CFC_FR_V9

Date création : 04-2001

Date de révision : 03-2016

Motif de révision : Révision générale

ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

Gélose CFC

Détection et dénombrement des *Pseudomonas*.

Lecture :

Croissance obtenue après 48 heures d'incubation à 25 °C.



***Pseudomonas* spp.**

Colonies caractéristiques :
couleur jaune à verdâtre,
parfois fluorescentes.