



ÁGAR PARA CONTAGEM TOTAL (PCA)

ENUMERAÇÃO DE MICRORGANISMOS TOTAIS

USO

O Ágar para Contagem Total de microrganismo, denominado “*Plate Count Agar*” ou PCA, é usado em bacteriologia para a enumeração de bactérias aeróbias em alimentos, ração animal e amostras ambientais.

Também é utilizado para enumerar microrganismos psicrotóxicos.

A fórmula padrão atende à composição definida nas normas NF ISO 4833-1 e 2, NF ISO 17410, XP V08-034; T90-425 e ISO 14461-1.

HISTÓRIA

O PCA é preparado com os mesmos ingredientes usados originalmente por Buchbinder *et al.*

PRINCÍPIOS

Nutrientes fornecidos pela triptona, fatores vitamínicos do extrato de levedura e glicose (fonte de energia) promovem o crescimento da maioria das bactérias a serem enumeradas.

Para análise de leite, é recomendado adicionar 1 g de leite em pó desnatado por litro de meio reconstituído (ágar de enumeração de leite desnatado; BK161HA ou BM086)

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

– Triptona	5,0 g
– Extrato de levedura autolítica	2,5 g
– Glicose	1,0 g
– Ágar bacteriológico.....	12,0 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,0 ± 0,2.

PREPARAÇÃO

Preparação do meio:

- Suspender 20,5 g de meio desidratado (BK144) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve o meio para ferver com agitação constante até sua completa dissolução.
- Distribuir em tubos ou frascos.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar e manter o meio a 44-47°C.
- Para uso em superfície, despejar em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria.

- Reconstituição: 20,5 g/L

- Esterilização: 15 min a 121°C



Uso do meio pronto para liquefazer:

- Derreter o meio (se preparado com antecedência) ou o meio pronto (BM015 ou BM033) durante o tempo mínimo necessário para a liquefação total.

INSTRUÇÃO DE USO

Semeadura em superfície (NF EN ISO 4833-2):

- Secar as placas em incubadora.
- Na superfície do meio, transferir 0,1 mL da amostra a ser analisada e suas diluições decimais sucessivas.
- Espalhar utilizando alça de Drigalski estéril.
- Incubar a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72 ± 3 horas.

- Semeando: 0,1 mL na superfície
- Incubação: 72 h a 30°C

NOTA:

- Para a pesquisa de microrganismos psicrotróficos de alimentos (NF ISO 17410), incubar as placas por 10 dias a $6,5^\circ\text{C}$.

Semeadura por profunda – *Pour Plate* (NF EN ISO 4833-1):

- Transferir 1 mL do inóculo e suas diluições decimais sucessivas em placas de Petri estéreis.
- Despejar cerca de 15 mL de meio por placa.
- Homogeneizar realizando movimento em 8 e deixar solidificar em superfície fria.
- Incubar a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72 ± 3 horas.

- Semeando: 1 mL por profundidade
- Incubação: 72 h a 30°C

LEITURA

Contar as colônias das placas contendo menos de 300 colônias.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó cremoso e homogêneo.

Meio preparado: ágar âmbar transparente.

Resultado do cultivo após 72 horas de incubação a 30°C (NF EN ISO 11133):

Microrganismos	Crescimento (Relatório de produtividade: P_R)
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	$P_R \geq 70 \%$
<i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034	$P_R \geq 70 \%$
<i>Bacillus subtilis ssp. spizizenii</i> WDCM 00003	$P_R \geq 70 \%$

ARMAZENAMENTO / VALIDADE

Meio desidratado: $2-30^\circ\text{C}$.

Meio pronto em frascos: $2-25^\circ\text{C}$.

As datas de validade são mencionadas nas etiquetas.

Meio pronto em tubos ou frascos (*): 180 dias a $2-25^\circ\text{C}$.

Meio pronto em placas (*): 30 dias a $2-8^\circ\text{C}$.

(*) Valor indicativo determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.



APRESENTAÇÃO

Meio desidratado:

Frasco de 500 g BK144HA
Frasco de 5 kgBK144GC

Meio pronto em placas de Petri (Ø 90 mm)

Caixa com 20 placas BM21708
Caixa com 120 placasBM21808

Meio pronto para liquefazer:

Embalagem de 10 frascos de 100 mLBM01508
Embalagem com 10 frascos de 200 mL.....BM03308

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Buchbinder, Baris, Alff, Reynolds, Dillon, Pessin, Pincus and Strauss. 1951. Public Health Reports, 66: 327.

NF EN ISO 4833-1. Octobre 2013. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes. Partie 1: comptage des colonies à 30 °C par la technique d'ensemencement en profondeur.

NF EN ISO 4833-2. Octobre 2013. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes. Partie 2: comptage des colonies à 30 °C par la technique d'ensemencement en surface.

NF ISO 17410. Novembre 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes psychrotrophes.

XP V 08-034. Septembre 2010. Microbiologie des Aliments. Dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenues à 30°C après ensemencement par la méthode spirale.

NF T 72-171. Novembre 1988. Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité bactéricide en présence de substances interférentes de référence. Méthode par filtration sur membranes.

T 90-425. Février 1992. Essais des eaux. Examens bactériologiques des récipients et systèmes de bouchage destinés aux eaux conditionnées.

ISO 14461-1. Mai 2005. Lait et produits laitiers. Contrôle de qualité en laboratoires microbiologiques. Partie 1: Evaluation de la performance des analystes effectuant les comptages de colonies.

NF ISO 8784-1. Février 2015. Pâte, papier et carton - Analyse microbienne - Partie 1: dénombrement des bactéries et des spores bactériennes basé sur la désintégration

NF EN ISO 20743. Septembre 2013. Textiles. Détermination de l'activité antibactérienne des produits finis antibactériens.



OUTRAS INFORMAÇÕES

As declarações feitas nas etiquetas têm precedência sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: GELOSE PCA_FR_V12.

Data de criação: 06-2003

Data de revisão: 04-2020

Motivo da revisão: adição de novas referências.