



PCA COM LEITE DESNATADO

ENUMERAÇÃO DO TOTAL DE MICRORGANISMOS EM PRODUTOS LÁCTEOS

USO

O Plate Count Agar com leite desnatado é usado em bacteriologia de alimentos e laticínios para enumerar bactérias aeróbicas no leite em pó e laticínios.

Também é usado na enumeração de microrganismos psicrotróficos.

A composição típica está em conformidade com o definido nas normas NF ISO 17140, NF EN ISO 4833-1 & 2 e XP V08-034; ISO 8552, ISO 8553, ISO 14461-1 e 2 e ISO 6730 para o controle de produtos lácteos.

HISTÓRIA

O Plate Count Agar é preparado com os mesmos ingredientes originalmente usados por Buchbinder *et al.* Esses autores compararam vários lotes de extrato de levedura e mostraram que os resultados obtidos (sem adição de leite ao meio) foram satisfatórios para a contagem de bactérias que estavam contaminando amostras de leite cru e pasteurizado. A transparência do meio e o tamanho relativo das colônias formadas levaram a uma enumeração descomplicada.

PRINCÍPIOS

Os nutrientes fornecidos pelo leite desnatado e triptona, vitaminas do extrato de levedura e glicose usada como fonte de energia favorecem o crescimento da maioria das bactérias.

O leite desnatado permite responder às recomendações das normas em termos de bacteriologia do leite.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

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

Para 1 litro de meio:

- Triptona5,0 g
- Extrato de levedura..... 2,5 g
- Glicose.....1,0 g
- Leite em pó desnatado (isento de substâncias inibidoras).....1,0 g
- Ágar bacteriológico.....12,0 g

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

PREPARAÇÃO

Preparação a partir de meios desidratados:

- Dissolver 21,5 g de meio desidratado (BK161) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada;
- Levar lentamente à ebulição, com agitação constante até completa dissolução;
- Dispensar em tubos ou frascos;

✓ **Reconstituição**
21,5 g/L

✓ **Esterilização**
15 min a 121°C



- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos;
- Resfriar e manter o meio em estado fundido a 44-47°C;
- Para inoculação de superfície, deixar as placas solidificarem em uma superfície fria e plana antes de usar.

Uso de meios prontos para derreter:

- Derreter o meio (se foi preparado com antecedência como acima) ou use o meio pronto para derreter (BM086) e derreta o ágar pelo tempo mínimo necessário para atingir a liquefação total.

INSTRUÇÃO DE USO

Inoculação de superfície (NF EN ISO 4833-2):

- Secar as placas em uma incubadora com as tampas parcialmente removidas;
- Na superfície das placas, transferir 0,1 mL da amostra para teste e suas diluições em série;
- Inocular na superfície usando uma alça de Drigalski ou “taco de *hockey*”;
- Incubar a 30 ± 1°C por 72 ± 3 horas.

- | |
|---|
| ✓ <u>Inoculação</u>
0,1 mL na
superfície |
| ✓ <u>Incubação</u>
72h a 30°C |

NOTA:

- Um sistema de inoculação em espiral pode ser usado.
- Para a detecção de microrganismos psicrotróficos em microbiologia de alimentos, de acordo com o padrão (NF ISO 17410), incubar as placas durante cerca de 10 dias a 6,5°C.

Inoculação em placas vazadas (NF EN ISO 4833-1):

- Transferir o inóculo e suas diluições seriadas para placas de Petri sucessivas;
- Despejar aproximadamente 15 mL de meio mantido em estado fundido a 44-47°C, por placa;
- Misturar bem e deixar solidificar em uma superfície plana e fria;
- Incubar a 30 ± 1°C por 72 ± 3 horas.

- | |
|---|
| ✓ <u>Inoculação</u>
1 mL em placas
vazadas |
| ✓ <u>Incubação</u>
72h a 30°C |

NOTA:

No caso de suspeita de colônias invasoras da superfície do ágar, é possível derramar uma segunda camada de ágar após a primeira camada solidificar (cerca de 4 mL de ágar adicional).

Para todos os outros usos, consulte a referência ou norma em vigor.

RESULTADOS

Placas de contagem contendo no mínimo 10 e no máximo 300 colônias, de acordo com as normas aplicadas. Bactérias caseinólicas formam um halo claro ao redor de cada colônia (proteólise da caseína do leite).

CONTROLE DE QUALIDADE

Meios desidratados: pó bege, de fluxo livre homogêneo.

Meio preparado: ágar âmbar.

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



Microrganismo		Crescimento (Relação de produtividade: P _R)
<i>Escherichia coli</i> 00013	WDCM	P _R ≥ 70%
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> 00003	WDCM 00034 WDCM	P _R ≥ 70% P _R ≥ 70%

ARMAZENAMENTO / CONSERVAÇÃO

Meio desidratado: 2-30°C.

Meios em frascos prontos para derreter: 2-25°C.

As datas de validade estão indicadas nos rótulos.

Meios preparados em tubos ou frascos (*): 180 dias a 2-25°C.

Meio preparados em placas (*): 30 dias a 2-8°C.

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

EMBALAGEM

Meios desidratados:

Garrafa de 500 g
BK161HA

Meios prontos para derreter:

10 frascos de 200 mL
BM21708

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NF ISO 17410. Novembre 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des microorganismes psychrotrophes.

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.

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.

ISO 8552 / IDF 132. Mai 2004. Lait. Estimation des micro-organismes psychrotrophes. Technique par comptage des colonies à 21°C (méthode rapide).

ISO 8553 / IDF 131. Mai 2004. Lait. Dénombrement des micro-organismes méthode de l'anse sur boîtes de Petri à 30°C.



ISO 14461-2 / IDF 169-2. Avril 2005. Lait et produits laitiers. Contrôle de qualité en laboratoires microbiologiques. Partie 2 : Détermination de la fiabilité des comptages de colonies en boîtes parallèles et des dilutions décimales suivantes.

ISO 14461-1 / IDF 169-1. 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.

ISO 6730 / IDF 101. Septembre 2005. Lait. Dénombrement des unités formant colonies de micro-organismes psychrotrophes - Technique par comptage des colonies à 6,5°C.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

As informações fornecidas nos rótulos têm precedência sobre as formulações ou instruções descritas neste documento e são suscetíveis de modificação a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: PCA WITH SKIMMED MILK_ENv8.

Data de criação: 04-2003

Data de revisão: 03-2016

Motivo da revisão: Atualização geral.