Referencia: FLWR3021 **A.B.E. - Ficha Técnica**

Producto: # Plate Count Agar (PCA)

Especificación

Medio para la enumeración aeróbica en placas por el método de inoculación superficial según las normas ISO 4833, 8552 y 17410, y IFU N.º 6.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos Botella 125 ml con: 100 ± 3 ml	1 caja con 10 botellas de 125 ml. Tapón plástico con rosca.	16 meses	8-25 ºC

Composición

Composición (g/l):
Peptona de caseína..... 5,00
Extracto de levadura.....2,50
D(+) Glucosa..... 1,00
Agar..... 15,00

Descripción/Técnica

Descripción:
El Agar de Recuento en Placa sigue esencialmente las normativas del estudio de Buchbinder y cols. respecto a las características de un medio para el recuento general en placa de microorganismos de la leche.
La formulación inicial del agar normalizado para la bacteriología láctea se ha ido modificando para prescindir de la adición de leche hasta obtener una formulación capaz de permitir el crecimiento de la mayoría de microorganismos sin más adiciones.
El Agar de Recuento en Placa Scharlau se ajusta en su formulación a los prescritos por los “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” y Tryptone Glucose Yeast Agar de la USP, AOAC, DIN y APHA (Standard Methods Agar). En la actualidad éste es el medio de elección para el recuento en placa de cualquier tipo de muestra.
Técnica:
A partir de una serie de diluciones decimales de la muestra a analizar, se toma 1 mL de cada dilución y por duplicado se depositan en placas de Petri estériles. A continuación se vierten alrededor de 20 mL del medio de cultivo, previamente enfriado a 45°C sobre cada una de las placas. Se mezcla suavemente, moviendo la placa en forma de ocho sobre una superficie plana y lisa. Una vez solidificadas se incuban en posición invertida.
El tiempo y la temperatura de incubación dependerán del tipo de microorganismos a enumerar. Para un recuento aeróbico general se incubará 3 días a 30°C, realizando también lecturas a las 48 y 72 horas.
El método de recuento propuesto por APHA es simplemente, un inóculo en masa por vertido del agar fundido a 50°C, sobre las placas donde se han depositado las diluciones de las muestras. La enumeración definitiva se lleva a cabo a las 48 horas de incubación a 32 -35°C.
En otras ocasiones, en función del tipo de microorganismo buscado, se han recomendado otros plazos de incubación a distintas temperaturas por ejemplo: 2 días a 32-35°C, 2-3 días a 45°C, 2 días a 55°C, 3-5 días a 20°C ó 10 días a 6,5 ºC ± 1 ºC.
Las diluciones de muestras se preparan con solución Ringer 1/4, Agua de Peptonada Tamponada, o Diluyente Universal, según su naturaleza.
Se recomienda más el método de enumeración por inóculo en masa que el de extensión superficial ya que por lo general, suele dar resultados más altos, sin embargo el de superficie permite una mayor facilidad en el aislamiento y resiembra de las colonias.
Nota: Los medios sólidos pueden fundirse de diferentes maneras: autoclave, baño y si el cliente lo ve conveniente también el microondas. Siempre que se escoja la opción del microondas es necesario tomar ciertas medidas de seguridad para evitar la rotura del frasco o tubo, tales como aflojar el tapón y poner la botella o tubo en un baño maría dentro del microondas. Las temperaturas y tiempos de fusión dependerán de la forma del envase, del volumen de medio y de la fuente calorífica. Deben evitarse tanto los sobrecalentamientos como los calentamientos prolongados.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Amarillento pH: 7,0 ± 0,2 a 25ºC

Control de Fertilidad

Fusión - Preparación Placas - Sembrar en espiral rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad)

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación a 30 ± 1 ºC, lectura a 72 ± 3h

Ps. fluorescens ATCC 13525 (10 dias/ 6,5 ºC ±1) según ISO 17410

Microorganismo	**Desarrollo**
Bacillus subtilis ATCC® 6633, WDCM 00003	Bueno (≥70%)
L. monocytogenes ATCC® 35152, WDCM 00109	Bueno (≥70%)
Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012	Bueno (≥70%)
Stph. aureus ATCC® 25923, WDCM 00034	Bueno (≥70%)
Ps. fluorescens ATCC®13525, WDCM 00115	Bueno (≥70%)

Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35ºC y 48 h a 20-25 ºC: SIN CRECIMIENTO
Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

Bibliografia

· ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
· BUCHBINDER, L., Y. BARIS & L. GOLDSTEIN (1953) Further studies on new milk-free media for the standard plate count of dairy products. Am. J. Public Health 43:869-872.
· CLESCERI, L.S., A.E.GREENBERG and A.D. EATON (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed., APHA, AWWA, WPCF. Washington.
· DIN 10192 (1971) Prüfungesbestimmungen für Milch und Milcherzeugnisse. Deutsche Landwirtsachft, Fachbereit und Ernahrung.
· DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed., APHA, Washington.
· FIL/IDF Standards 3 (1958), 100, 101 (1981), 109 (1982) and 132 (2004).
· HORWITZ, W. (2000) Official Methods of Analysis. AOAC International. Gaithersburg.
· IFU Method No 6 (1996) Mesophilic, thermoduric and thermophilic bacteria: Spores Count. D-1 Mesophilic Aerobic Sporeforming bacteria: Spores count.
· ISO 4833 (2003) Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Colony count technique at 30ºC.
· ISO 8552 (2004) Milk - Estimation of psychrotrophic microorganisms. Colony count technique at 21ºC (Rapid method).
. ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
· ISO 17410 (2019) Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms.
· MARSHALL, R.T. (1992) Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. APHA. Washington.