ALLIANCE BIO EXPERTISE

Référence: FLWR3021 **A.B.E. - Fiche technique**

Produit: **Gélose pour dénombrement (PCA)**

Principe

Milieu pour le comptage des plaques aérobies par la méthode d'inoculation de surface (gélose standard sur plaque) conformément aux normes ISO 4833, 8552 et 17410 et IFU n ° 6.

Présentation

	Détails de l'emballage	Durée de vie	Conservation
10 Bouteille préparée Flacon 125 ml avec: 100 ± 3 ml	1 boîte de 10 flacons de 125 ml. Bouchon injectable: Bouchon intérieur à vis en plastique. L'utilisation d'aiguilles pour seringues d'un diamètre supérieur à 0,8 mm n'est pas recommandée.	16 mois	8-25 ºC

Formule * en g/L

Composition (g/l):
Peptone de caséine 5.00
Extrait de levure..... 2.50
Dextrose..... 1.00
Agar..... 15.00

Description

Description
La formulation de la Gélose sur plaque PCA est conforme à celle de Buchbinder et al. comme recommandé dans leur étude des milieux pour le comptage des micro-organismes sur plaque.
La formulation originale de la gélose standardisée pour la microbiologie laitière a été modifiée afin d'éviter l'ajout de lait. Cette nouvelle composition permet la croissance de la plupart des micro-organismes sans aucun ajout supplémentaire.
La formulation de ce milieu est équivalente à celle écrite par les `` Méthodes standard pour l'examen des produits laitiers '', la `` Tryptone Glucose Yeast Agar '' de l'USP, la `` Deutsche Landswirtchaft '' et la Plate Count Agar de l'APHA, de l'ISO et de l'AOAC. C'est le support de choix pour le comptage sur plaque de tout type d'échantillon.
Technique
Pour l'utiliser, le contenu de la bouteille doit être versé dans des boîtes de pétri. La fusion du milieu de culture doit être effectuée selon les instructions du fabricant, soit au bain-marie, soit au four à micro-ondes. N'appliquez jamais de chaleur directe pour faire fondre un support. Les températures et les temps de fusion dépendent de la forme du récipient, du volume de fluide et de la source de chaleur. Avant de faire fondre tout support, desserrez le bouchon à vis du récipient pour éviter de le casser. Le milieu ne doit être fondu qu'une seule fois et utilisé. Les milieux avec de la gélose ne doivent pas être fondus à plusieurs reprises car leurs caractéristiques changent à chaque refusion. La surchauffe doit être évitée autant que le chauffage prolongé, en particulier en ce qui concerne les milieux à pH acide ou alcalin.
Une fois fondues, verser les plaques en utilisant des techniques aseptiques. Pour inoculer, suivez les méthodes de laboratoire standard ou les normes applicables. Méthode de plaque en spirale, placage par stries, méthodes économétriques, banques de dilution, placage par étalement, etc.
Préparer dix fois des dilutions en série de l'échantillon et prélever des aliquotes de 1 mL en double de chaque dilution et les mettre dans des boîtes de Pétri stériles. Versez 20 ml environ. de milieu stérile refroidi (environ 45 ° C) dans chacune des plaques. Mélanger doucement en faisant tourbillonner la plaque sous la forme d'une figure 8. Laisser les plaques intactes pour se solidifier et incuber dans une position inversée. La durée et la température d'incubation dépendent du type de microorganisme étudié. Pour une numération aérobie générale, incuber pendant 3 jours à 30 ° C. Prendre des lectures après 24, 48 et 72 heures.
La méthode de comptage sur plaque proposée par l'APHA consiste à verser la gélose fondue à 50 ° C sur des plaques contenant les échantillons dilués (technique de la plaque de coulée). Le comptage final est effectué après 48 heures d'incubation à 32 -35 ° C.
Pour les micro-organismes ayant d'autres exigences de température, les incubations suivantes ont été suggérées: 2 jours à 32-35 ° C, 2 -3 jours à 45 ° C, 2 jours à 55 ° C, 3-5 jours à 20 ° C, 7- 10 jours à 5-7 ° C.
Les dilutions d'échantillons sont préparées avec une solution 1/4 de Ringer, de l'eau peptonée tamponnée ou du diluant de récupération maximale selon leur nature.
La méthode de comptage des plaques coulées est préférée à la technique des plaques étalées, car elle donne des comptages plus élevés.
Néanmoins, ce dernier facilite l'isolement et le réensemencement des colonies.
Remarque : Les milieux solides peuvent être fondus de différentes manières : autoclave, bain-marie et, si le client le juge approprié, également au micro-ondes. Afin d'éviter la rupture des contenants lors de la fonte, il est recommandé de desserrer le bouchon à vis. Lorsque l'option micro-ondes est choisie, il est nécessaire de placer le flacon ou le tube dans un bain d'eau au micro-ondes. La température et le temps de fusion dépendront de la forme du contenant, du volume de milieu et de la source de chaleur. Évitez la surchauffe ainsi que des périodes de chauffage excessives.

Contrôle qualité

Contrôle physico-chimique

Couleur : Giallastro pH: 7.0 ± 0.2 at 25ºC

Contrôle microbiologique

Milieu fondu - Préparer les plaques - Ensemencement en spirale: / Plage pratique 100 ± 20 UFC. min. 50 UFC (productivité)

Contrôle microbiologique selon ISO 11133: 2014 / A1: 2018.

Méthodologie analytique selon ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aérobiose. Incubation à 30 ± 1 ºC, lecture à 72 ± 3h

Ps. fluorescens ATCC 13525 (10 jours/ 6,5 ºC ±1) dacord ISO

Micro organismes	**Croissance**
Bacillus subtilis ATCC® 6633, WDCM 00003	Bon (≥70%)
Listeria monocytogenes ATCC® 35152	Bon (≥70%)
Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012	Bon (≥70%)
Stph. aureus ATCC® 25923, WDCM 00034	Bon (≥70%)
Ps. fluorescens ATCC®13525	Bon (≥70%)

Contrôle de la stérilité

Incubation 48 h à 30-35 ºC et 48 h à 20-25 ºC: PAS DE CROISSANCE.
Vérifier 7 jours après l'incubation dans les mêmes conditions.

Références

· 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 (2001) Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms.
· MARSHALL, R.T. (1992) Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. APHA. Washington.
· PASCUAL ANDERSON. Mª.Rº. (1992) Microbiología Alimentaria. Díaz de Santos, S.A. Madrid.