

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

PLATE COUNT AGAR (PCA)

ĐẾM TỔNG SỐ VI SINH VẬT

1 MỤC ĐÍCH

Plate count Agar có chứa glucose và yeast extract được sử dụng để đếm vi khuẩn hiếu khí trong sữa, thịt, các sản phẩm từ thịt và các sản phẩm thực phẩm khác, cũng như cho các phân tích về dược phẩm, mỹ phẩm và các nguyên liệu liên quan. Nó cũng được sử dụng để đếm các vi sinh vật psychrotrophic.

Thành phần điển hình tương ứng với tiêu chuẩn NF EN ISO 4833-1 & 2, NF ISO 17410, XP V08- 034; T90-425 và ISO 14461-1.

2 LỊCH SỬ

Plate count Agar được chuẩn bị với các thành phần tương tự như những thành phần ban đầu được sử dụng bởi Buchbinder và cộng sự. Một số tác giả so sánh vài chiết xuất nấm men và cho thấy rằng các kết quả thu được (không thêm sữa vào môi trường) rất phù hợp để đếm vi khuẩn trong các mẫu sữa nguyên chất đã thanh trùng. Môi trường dễ đọc, kích thước khuẩn lạc tương đối, vì vậy việc đếm sẽ rất dễ dàng, đơn giản.

3 NGUYÊN TẮC

Các chất dinh dưỡng: Tryptone, vitamin chiết xuất từ nấm men, và glucose được sử dụng như là nguồn năng lượng có lợi cho sự phát triển của vi khuẩn.

Trong các nghiên cứu về nền mẫu sữa, nên bổ sung 1g sữa bột không béo trên mỗi lít môi trường (PCA với sữa tách kem, BK161HA hoặc BM086).

4 THÀNH PHẦN

Có thể được điều chỉnh để có được hiệu suất tối ưu

Trong 1 lit môi trường:

- Tryptone.....	5,0 g
- Yeast Extract.....	2,5 g
- Glucose	1,0 g
- Bacteriological agar	12,0 g

pH của môi trường hoàn chỉnh ở 25 °C: $7,0 \pm 0,2$.

5 CHUẨN BỊ

Chuẩn bị môi trường:

- Pha 20,5 g môi trường (BK144) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion.
- Khuấy từ từ cho đến khi hòa tan hoàn toàn.
- Phân phối vào chai nhỏ.
- Tiệt trùng trong nồi hấp tại 121°C trong 15 phút.
- Làm nguội đến nhiệt độ phòng 44-47°C.
- Để ria trên bề mặt, đổ môi trường vào đĩa petri vô trùng và đợi đến khi thạch đông lại.

✓ **Hoàn nguyên:**
20,5 g/L

✓ **Tiệt trùng:**
15 min at 121 °C

Sử dụng môi trường pha sẵn:

- Làm tan chảy môi trường (nếu nó đã được chuẩn bị trước) hoặc sử dụng môi trường pha sẵn (BM015 hoặc BM033) trong khoảng thời gian tối thiểu cần thiết để môi trường hóa lỏng hoàn toàn.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Cấy bề mặt (NF EN ISO 4833-2):

- Dry the plates in an incubator with the covers partially removed.
- Transfer 0,1 mL of the sample to test to the surface of the agar, along with its serial dilutions.
- Inoculate the plate by using a sterile triangle or « hockey stick ».
- Incubate at 30 ± 1 °C for 72 ± 3 hours.

✓ **Cấy:**
0,1 mL surface inoculation

✓ **Ủ:** 72 h at
30°C

CHÚ Ý

- Để phát hiện vi khuẩn psychrotrophic trong thực phẩm (NF ISO 17410), ủ đĩa trong 10 ngày ở 6,5 ° C..

Phương pháp đổ đĩa (NF EN ISO 4833-1):

- Chuyển 1ml mẫu vào đĩa petri vô trùng.
- Đổ thêm 15 mL môi trường BK144HA (ở nhiệt độ 44-47 °C) vào mỗi đĩa.
- Lắc đều ra đĩa, đợi đến khi môi trường đông lại.
- Ủ ở 30 ± 1 °C trong vòng 72 ± 3 h.

✓ **Cấy:**
1 mL vào mỗi đĩa

✓ **Ủ:** 72 h tại 30 °C

CHÚ Ý

Trong trường hợp nghi ngờ có khuẩn lạc xâm lấn trên bề mặt thạch, có thể đổ thêm lớp thạch thứ hai sau khi lớp thứ nhất đông đặc (khoảng 4 mL thạch bổ sung).

7 KẾT QUẢ

Đếm các đĩa có tổng khuẩn lạc dưới 300.

8 QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG

Môi trường bột khô: bột màu kem, chảy tự do và đồng nhất..

Môi trường đã chuẩn bị: thạch hồ phách, trong.

Nuôi cấy sau 72 giờ ủ ở 30 °C (NF EN ISO 11133) :

Vi sinh vật		Phát triển (hiệu suất thu hồi : PR)
<i>Escherichia coli</i> 00012	WDCM	PR ☐ 70 % PR ☐
<i>Staphylococcus aureus</i> 00034	WDCM	70 % PR ☐ 70 %
<i>Bacillus subtilis ssp. spizizenii</i> 00003	WDCM	

9 BẢO QUẢN/ HẠN SỬ DỤNG

Môi trường bột khô: 2-30 °C,

Môi trường pha sẵn trong chai: 2-25 °C.

Hạn sử dụng được in trên nhãn.

Môi trường đã pha trong chai (*): 180 ngày tại 2-25 °C.

Môi trường đã pha trong đĩa (*): 30 ngày tại 2-8 °C.

10 ĐÓNG GÓI

Môi trường bột khô:

500 g /chai.....BK144HA

5 kg /thùng.....BK144GC

Môi trường chuẩn bị sẵn trong đĩa petri (Ø 90 mm):

20 đĩa BM21708

120 đĩa BM21808

Môi trường pha sẵn trong chai:

10 x 100 mL..... BM01508

10 x 200 mL..... BM03308

11 THAM KHẢO

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.

12 THÔNG TIN BỔ SUNG

Thông tin được cung cấp trên nhằm được ưu tiên hơn các công thức hoặc hướng dẫn mô tả trong tài liệu này và có thể sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần cảnh báo.

Mã tài liệu: PCA_ENv11

Ngày phát hành : 06-2003

Ngày cập nhật : 04-2020

Lý do sửa đổi: Cập nhật chung