

## TÀI LIỆU KỸ THUẬT

### PCA WITH SKIMMED MILK

### ĐỊNH LƯỢNG TỔNG VI SINH VẬT TRONG SẢN PHẨM SỮA

## 1 MỤC ĐÍCH

Plate Count Agar with skimmed milk được sử dụng trong Vi khuẩn thực phẩm và sữa để định lượng các vi khuẩn hiếu khí trong sữa bột và các sản phẩm từ sữa,

Nó cũng được sử dụng để định lượng vi sinh vật chịu lạnh.

Thành phần tiêu biểu phù hợp với tiêu chuẩn NF ISO 17140, NF EN ISO 4833-1 & 2 và XP V08-034; ISO 8552, ISO 8553, ISO 14461-1 & 2 và ISO 6730 để kiểm soát các sản phẩm sữa.

## 2 LỊCH SỬ

Plate Count Agar được chuẩn bị với các thành phần giống như những chất ban đầu được sử dụng bởi Buchbinder và cộng sự. Các nhà nghiên cứu này so sánh nhiều lô chiết xuất nấm men và thấy rằng các kết quả thu được (không có sữa thêm vào môi trường) đã đạt yêu cầu về việc định lượng vi khuẩn trong các mẫu sữa nguyên liệu và sữa thanh trùng bị nhiễm. Độ trong suốt của môi trường và kích thước tương đối của hình dạng khuẩn làm cho việc định lượng đơn giản.

## 3 NGUYÊN TẮC

Các chất dinh dưỡng được cung cấp bởi sữa tách kem và tryptone, các vitamin từ chiết xuất nấm men và glucose được sử dụng làm nguồn năng lượng giúp cho sự phát triển của hầu hết các vi khuẩn.

Sữa tách kem cho phép đáp ứng các khuyến nghị của tiêu chuẩn về vi trùng học sữa.

## 4 THÀNH PHẦN

Thành phần có thể được điều chỉnh để có được hiệu quả tối ưu

Đối với 1 lít môi trường:

- Tryptone ..... 5,0 g
- Yeast extract ..... 2,5 g
- Glucose ..... 1,0 g
- Powdered skimmed milk (ngoại trừ các chất ức chế)..... 1,0 g
- Bacteriological agar..... 12,0 g

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

- Cân 21,5 g môi trường bột khô (BK161) trong 1 lit nước cất vô trùng hoặc nước khử ion.
- Đun từ từ cho đến khi sôi, khuấy liên tục cho đến khi môi trường tan hoàn toàn.
- Phân phối vào các ống nghiệm hoặc lọ
- Tiệt trùng bằng nồi hấp ở 121 °C trong 15 phút
- Duy trì môi trường ở trạng thái lỏng ở 44-47°C.
- Đối với cấy bề mặt, để các đĩa đông lại trên bề mặt phẳng, mát trước khi sử dụng.

**Sử dụng môi trường pha sẵn ready-to-melt:**

- Làm nóng chảy môi trường (nếu môi trường được chuẩn bị trước như trên) hoặc sử dụng môi trường pha sẵn ready-to-melt (BM086), làm nóng chảy thạch trong khoảng thời gian tối thiểu cần thiết để đạt được tổng số hóa lỏng.

**6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG**

---

**Cấy bề mặt (NF EN ISO 4833-2):**

- Làm khô các đĩa trong tủ ẩm.
- Chuyển 0,1 mL mẫu cần kiểm tra và các độ pha loãng tiếp theo của nó lên trên bề mặt đĩa thạch
- Cấy trải bề mặt bằng cách sử dụng que cấy tam giác vô trùng hoặc que hockey.
- Ủ ở  $30 \pm 1$  °C trong  $72 \pm 3$  giờ.

**GHI CHÚ**

- Một hệ thống cấy xoắn ốc có thể được sử dụng.
- Đối với chỉ tiêu phát hiện vi sinh vật chịu lạnh trong vi sinh học thực phẩm, theo tiêu chuẩn (NF ISO 17410), ủ các đĩa trong khoảng 10 ngày ở 6,5 °C.

**Cấy đổ đĩa (NF EN ISO 4833-1):**

- Chuyển mẫu cấy và các pha loãng nối tiếp của nó vào các đĩa Petri trống.
- Đổ khoảng 15 mL vào mỗi đĩa môi trường giữ trong trạng thái lỏng ở 44-47 °C
- Trộn đều và để thạch đông lại trên bề mặt lạnh, phẳng.
- Ủ ở  $30 \pm 1$  °C trong  $72 \pm 3$  giờ.

**GHI CHÚ**

Trong trường hợp tránh các khuẩn lạc xâm lấn bị nghi ngờ trên bề mặt của thạch, có thể đổ một lớp thạch thứ hai của sau khi lớp thứ nhất đông lại (khoảng 4 ml thạch bổ sung).

Đối với tất cả các cách sử dụng khác, tham khảo tài liệu hoặc tiêu chuẩn

**7 KẾT QUẢ**

---

- Đếm các đĩa chứa ít nhất là 10 và tối đa là 300 khuẩn lạc, theo các tiêu chuẩn được áp dụng. Vi khuẩn gây bệnh sốt rét tạo thành một quang sáng rõ xung quanh mỗi khuẩn lạc (phân giải protein của casein sữa).

## 8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG

Môi trường dạng bột: bột màu be, chảy tự do, đồng nhất.

Môi trường đã được chuẩn bị: thạch màu vàng

Phản ứng nuôi cấy đặc trưng của môi trường sau 72 giờ ủ ở 30 °C (NF EN ISO 11133):

| Vi sinh vật                  |            | Tăng trưởng<br>(Tỉ suất: $P_R$ ) |
|------------------------------|------------|----------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i>      | WDCM 00013 | $P_R \geq 70\%$                  |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | WDCM 00034 | $P_R \geq 70\%$                  |
| <i>Bacillus subtilis</i>     | WDCM 00003 | $P_R \geq 70\%$                  |

## 9 BẢO QUẢN

Môi trường dạng bột: 2-30 °C

Môi trường pha sẵn (ready-to-melt) trong chai : 2-25°C

- Hạn sử dụng được ghi trên nhãn.
- Môi trường pha sẵn trong ống hoặc lọ nhỏ: 180 ngày ở 2-25 °C
- Môi trường pha sẵn trong đĩa: 30 ngày ở 2-8 °C

(\*) Benchmark value được xác định theo điều kiện tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất

## 10 ĐÓNG GÓI

Môi trường bột khô :

Chai 500 g.....BK161HA

Môi trường Ready-to-melt :

10 ống x 200 mL.....BM08608

## 11 THAM KHẢO

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.

## **12 THÔNG TIN BỔ SUNG**

---

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

Mã tài liệu: PCA WITH SKIMMED MILK\_ENv8

Ngày tạo: 04-2003

Cập nhật: 03-2016

Nguồn gốc của bản sửa đổi: Cập nhật chung