

Egalement nommé

Gélose pour dénombrement, Gélose Plate Count Agar

Principe

Milieu pour le comptage des boîtes aérobies par la méthode d'inoculation de surface, conformément aux normes ISO 4833, 8552, 17410 et IFU no. 6.

Formule * en g/L

Peptone de caséine.....	5.0
Extrait de levure.....	2.5
Dextrose.....	1.0
Agar.....	15.0

pH final 7.0 ± 0.2 à 25 °C

*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

Préparation

Suspender 23,5 g de poudre dans 1 L d'eau distillée. Dissoudre en portant à ébullition en remuant fréquemment. Répartir dans les récipients définitifs et stériliser à l'autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes.

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 décrite par les " Méthodes standard pour l'examen des produits laitiers ", la " Tryptone Glucose Yeast Agar " de l'USP, la " Deutsche Landwirtschaft " et l'APHA et l'AOAC's Plate Count Agar. C'est le support de choix pour le comptage sur plaque de tout type d'échantillon.

Utilisation

Préparez des dilutions en série au 1 : 10 de l'échantillon et prélevez des aliquotes de 1 ml de chaque dilution (en double) et placez-les dans des boîtes de Pétri stériles. Versez environ 20 ml de milieu stérile refroidi (environ 45 ° C) dans chacune des plaques. . Mélanger doucement en faisant tourbillonner la plaque en forme de 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 à l'étude. Pour une numération aérobie générale, incuber pendant 3 jours à 30 ° C. Lecture 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 microorganismes ayant d'autres exigences de température, les incubations suivantes ont été proposées: 2 jours à 32-35 ° C, 2-3 jours à 45 ° C, 2 jours à 55 ° C, 3-5 jours à 20 ° C, 10 jours à 6,5 ° C ± 1 ° 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.

Contrôle qualité
Température d'incubation: 30 ± 1 °C

Temps d'incubation: 72 ± 3 h

Inoculum: Gamme d'utilisation 100 ± 20 UFC. min. 50 UFC (productivité) selon l'ISO 11133: 2014 / Amd 1: 2018. Ensemencement en spirale.

Micro-organismes
Croissance
Remarques

<i>Bacillus subtilis</i> ATCC® 6633	Productivité > 0.70	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Productivité > 0.70	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC® 35152	Productivité > 0.70	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739	Productivité > 0.70	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC® 13525	Productivité > 0.70	10 jours/ 6.5 °C ± 1 °C (ISO 17410:2019)

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) Prüfungsbestimmungen für Milch und Milcherzeugnisse. Deutsche Landwirtschaft, Fachbereich Ernährung.
- 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, thermophilic 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 30°C.
- ISO 8552 (2004) Milk - Estimation of psychrotrophic microorganisms. Colony count technique at 21°C (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.

Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).