

Especificación

Medio para el recuento en placa de los microorganismos de la leche y derivados lácteos, de acuerdo con las normas DIN y FIL/IDF.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos Botellas 250 ml con: 200 ± 5 ml	1 caja con 10 botellas 250 ml. Tapón metálico, no inyectable.	16 meses	8-25°C

Composición

Composición (g/l):

Triptona.....	5,00
Extracto de levadura.....	2,50
Leche descremada.....	1,00
Dextrosa.....	1,00
Agar.....	10,50

Descripción/Técnica

Descripción:

El Agar de Recuento en Placa con Leche añadida, presenta una riqueza nutritiva mayor que los medios estándares pero, en cambio, su opalescencia a veces dificulta las lecturas tempranas. Por su concentración intermedia de agar puede utilizarse tanto para inoculaciones en masa como superficiales.

Técnica:

La fusión del medio se debe hacer de acuerdo con las instrucciones del fabricante, ya sea en baño maría (100 ° C) o con un horno microondas. Nunca debe aplicarse calor directo para fundir un medio de cultivo. Las temperaturas y tiempos de fusión dependerán de la forma del envase, del volumen de medio y de la fuente calorífica.

Antes de fundir cualquier envase con medio de cultivo, debe aflojarse el tapón roscado para evitar que se rompan los recipientes. El medio debe fundirse una única vez y utilizarse. Los medios con agar no deben refundirse reiteradamente ya que sus características cambian con cada re-fusión. Deben evitarse tanto los sobrecalentamientos como los calentamientos prolongados, sobre todos con medios a pH ácido o alcalino.

Una vez fundido el medio, se verterá a placas con las debidas precauciones de asepsia. El medio sobrante debe desecharse y en ningún caso deberá volver a fundirse un medio si se ha empezado a solidificar.

Técnica de uso recomendada:

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 24 y 48 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 7-10 días a 5-7 °C.

Las diluciones de muestras se preparan con solución Ringer 1/4, Agua de Peptona 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.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : amarillo pálido

pH: $7 \pm 0,2$ a 25°C **Control de Fertilidad**Fusión - Preparación Placas - Sembrar en espiral rango práctico 100 ± 20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad)

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

Aerobiosis. Incubación a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, lectura a las 24-48-72 h**Microorganismo***Bacillus subtilis* ATCC® 6633, WDCM 00003*Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013*Stph. aureus* ATCC® 25923, WDCM 00034*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012**Desarrollo**Bueno ($\geq 70\%$)Bueno ($\geq 70\%$)Bueno ($\geq 70\%$)Bueno ($\geq 70\%$)**Control de Esterilidad**Incubación 48 horas a $30-35^{\circ}\text{C}$ v 48 horas a $20-25^{\circ}\text{C}$: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

Bibliografía

- 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) Prüfungenbestimmungen 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 of the A.O.A.C. AOAC International. Gaithersburg. Va.
- 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 (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. M^a.R^o. (1992) Microbiología Alimentaria. Díaz de Santos, S.A. Madrid.