

**NORMA
VENEZOLANA**

**COVENIN
902-87**

**ALIMENTOS.
METODO PARA RECUESTO DE
COLONIAS DE BACTERIAS
AEROBIAS EN PLACAS DE PETRI.**

(2^{da.} REVISION)



PROLOGO

La presente Norma sustituye totalmente a la Norma Venezolana COVENIN 902-78. Alimentos. Método para recuento de microorganismos aerobios en placas de Petri.

TRAMITE

COMITE: CT10 PRODUCTOS ALIMENTICIOS
VICEPRESIDENTE : DR. JOSE FELIX CHAVEZ
SECRETARIA: LIC. OMAIRA GUAITA

SUBCOMITE: CT10/SC3 MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS
COORDINADORA: ING. MILAGROS DIAZ

PARTICIPANTES

ENTIDAD

MINISTERIO DE SANIDAD Y
ASISTENCIA SOCIAL

INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
- FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

ASOCIACION AMERICANA DE SOYA

FUNDACION CIEPE

CAVIDEA

REPRESENTANTES

VICMAR DE PERNIA

MARIELA CALDERON
ROSARIO GARRIDO

MARIA LUISA NOVOA
MANUELA RIOS

FANNY CARRILLO DE PADILLA
CARMEN ELENA GARCIA

JOSE LUIS VIDAURRETA
SILVIA MENDOZA

JOSE FELIX CHAVEZ

ISMENIA DE MENDEZ

MANUEL COLS PAEZ

DISCUSION PUBLICA:

Fecha de envio: 20-05-87

Duración: 45 días

FECHA DE APROBACION POR EL COMITE: 01-10-87

FECHA DE APROBACION POR LA COVENIN: 08-12-87

NORMA VENEZOLANA
ALIMENTOS
METODO PARA RECUENTO DE COLONIAS
DE BACTERIAS AEROBIAS EN
PLACAS DE PETRI

COVENIN
902-87

1 NORMAS COVENIN A CONSULTAR

COVENIN 1126-77 Alimentos. Codificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico.

2 OBJETO

Esta norma establece el método de ensayo para la determinación cuantitativa de colonias de bacterias aerobias en alimentos, mediante la utilización de placas de Petri y un medio de cultivo apropiado.

3 RESUMEN DEL ENSAYO

El método consiste en mezclar un volumen dado de una muestra representativa y homogénea del alimento a analizar o de diluciones de la misma, con un medio de cultivo en placas de Petri. Después del periodo de incubación, se determina el número de unidades formadoras de colonias (ufc) de las bacterias mediante un contador de colonias.

4 EQUIPO

4.1 CONTADOR DE COLONIAS

4.2 INCUBADORA regulada a $7 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.3 INCUBADORA regulada a $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.4 INCUBADORA regulada a $55 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.5 PIPETAS GRADUADAS de 1,0 ml; 1,1 ml y 2,0 ml, estériles.

4.6 TERMOMETRO, con escala graduada de 0°C a 100°C .

4.7 MATRACES Y/O TUBOS DE ENSAYO.

4.8 PLACAS DE PETRI de 10 mm x 100 mm, estériles.

4.9 BAÑO DE AGUA regulado de 45°C a 50°C .

4.10 GRADILLA PARA TUBOS

5 MEDIOS DE CULTIVO

5.1 AGAR ESTANDAR PARA RECUESTO EN PLACAS. (Agar triptona glucosa levadura).

Fórmula:

| | |
|---------------------------------------|---------|
| Digerido pancreático de caseína | 5,0 g |
| Extracto de levaduras | 2,5 g |
| Glucosa | 1,0 g |
| Agar | 15,0 g |
| Agua destilada c.s.p | 1000 ml |

Preparación:

Los ingredientes se disuelven en el agua por ebullición, luego se esteriliza el medio a 121°C por 15 min. El pH final del medio debe ser $7,0 \pm 0,2$ a 25°C después de la esterilización.

6 PREPARACION Y CONSERVACION DE LAS MUESTRAS

El material a ensayar consiste en una muestra representativa del alimento y su codificación y preparación se hará según lo establecido en la Norma Venezolana COVENIN 1126.

7 CONDICIONES DE ENSAYO

7.1 Previo al análisis, las muestras deben mantenerse en condiciones apropiadas.

7.2 Todo el análisis debe realizarse en condiciones de asepsia.

8 PROCEDIMIENTO

8.1 Se coloca 1 ml de la muestra original ó 1 ml ó 0,1 ml de las diluciones respectivas según sea el caso, en placas de Petri por duplicado.

8.2 Se añade a cada placa, de 12 a 15 ml del medio de cultivo previamente fundido y temperado a 45°C - 50°C. Se mezcla convenientemente y se deja solidificar sobre una superficie plana. No deben transcurrir más de 20 min desde el momento de la preparación de la dilución hasta el agregado del medio de cultivo.

8.3 Se invierten las placas y se incuban bajo las condiciones siguientes:

| Tipo de bacteria | Temperatura | Tiempo |
|------------------|--------------|----------|
| Psicrotrofas | 7 ± 1°C | 10 días |
| Mesófilas | 32 ± 1°C | 48 ± 3 h |
| Termófilas | 55 ± 1°C (1) | 48 h (1) |

(1) NOTA: Debe mantenerse la humedad necesaria dentro de la estufa para prevenir la deshidratación del agar (Las placas con el agar no deben perder más del 15% de su peso original).

8.4 Finalizado el período de incubación, se seleccionan preferentemente las placas donde aparezcan entre 30 y 300 colonias. Con la ayuda de un cuenta colonias o en su defecto, una lente de aumento, se cuentan todas las colonias, incluyendo las que se observan como pequeños puntos, y se anota la dilución correspondiente.

Debe evitarse contar como colonias, partículas de muestra, pequeñas burbujas, u otros.

8.4.1 Si las placas de todas las diluciones tienen más de 300 colonias, se seleccionan aquellas que tengan el valor más cercano a 300.

8.4.2 Si las placas de todas las diluciones tienen menos de 300 colonias, se seleccionan aquellas que tengan el valor más cercano a 30.

8.4.3 El número de colonias promedio de las dos placas de una misma dilución se multiplica por la dilución correspondiente y este será el resultado final.

8.4.4 Si placas de dos diluciones decimales consecutivas presentan entre 30 y 300 colonias se multiplica cada recuento por la dilución correspondiente, se establece el promedio y éste será el resultado final. Si el recuento más alto es superior a dos veces el más bajo, se descarta y se toma como resultado el valor más bajo.

9 EXPRESION DE LOS RESULTADOS

9.1 Los resultados se expresan como recuento estándar por mililitro o gramo de muestra.

9.2 El número de colonias obtenido según 8.4.1 y 8.4.2 se multiplica por la dilución correspondiente y se expresa como "Estimado del recuento estándar".

9.3 Si no hay colonias en ninguna placa, el recuento se reporta como "menos de 1" multiplicado por la primera dilución de la muestra, y se expresa como "Estimado del recuento estándar".

10.1 El informe del ensayo deberá indicar como mínimo la siguiente información:

10.1.1 Ensayo realizado según la Norma Venezolana COVENIN 902.

10.1.2 Fecha en la cual se realizó el ensayo y nombre de quien lo realizó.

10.1.3 Identificación de la muestra.

10.1.4 Resultados.

10.1.5 Observaciones.

BIBLIOGRAFIA

1. APHA 1985 Standards Methods for The Examination of Dairy Products. 15 th Edition. American Public Health Association. Washington D.C.
2. APHA 1984 Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods. 2nd Edition. M. Speck. Editor. Washington D.C.
3. FDA 1984 Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration. Bureau of Foods Division of Microbiology. 6 th Edition. AOAC. Box 540. Benjamin Franklin Station. Washington DC 20044. U.S.A.
4. ICMSF 1978 Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis microbiológico. Volumen I. 2a Edición. Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos. España.

COVENIN
902-87

CATEGORIA
B

COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES
MINISTERIO DE FOMENTO
Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12
Telf. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12
CARACAS

publicación de:



CDU : 576.093.21

ISBN 980 - 06 - 0203 - 8

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS .
Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.
