

RECUESTO ESTANDAR EN PLACA (Aerobic Plate Count) EN PRODUCTOS DE LA PESCA

BERTULLO, E.

D.M.V. Instituto de Investigaciones Pesqueras.
Facultad de Veterinaria.
Tomás Basáñez 1160.
Montevideo - Uruguay.

1. INTRODUCCION.

Dentro de los diversos aspectos que debe encarar el profesional veterinario en la industria pesquera, los métodos objetivos de valoración de los productos deben ser utilizados como apoyo fundamental a la inspección sensorial de pescados, moluscos y crustáceos. Desde la inspección higiénico - sanitaria de las materias primas hasta el control de calidad, y principalmente en éste, la metodología microbiológica en sus diversos aspectos se ha cimentado tanto a nivel oficial como en la propia industria privada.

Dentro del amplio panorama de técnicas de laboratorio aplicables en el control de calidad, y exigibles por los diversos mercados compradores de los productos pesqueros uruguayos, indudablemente la determinación de Bases Volátiles Nitrogenadas (BVNT, TMA y N de TMA), y el Recuento Estandar en Placa, cada uno desde su ángulo de importancia, representan pilares fundamentales del control técnico en la industria.

Obviamente, tanto desde el punto de vista sensorial como objetivo, cada producto de acuerdo a sus características y manipulación a que ha sido objeto, requerirá otras técnicas complementarias y no menos importantes, como los son el Recuento de Coliformes Totales, Recuento de Coliformes Fecales, Numeración de *Staphylococcus aureus*, etc . . .

La dispersión de técnicas e información, junto con nuestra experiencia práctica, nos han llevado a preparar una metodología que sin ser única ni pretender aparecer novedosa, trae los elementos básicos con los cuales podrá manejarse el técnico actuante.

2. MATERIAL.

Servicios de laboratorio bacteriológico; elementos cortantes (bisturí, éscalpelo, sierra); licuadora; pipetas de 1 cc.; pipetas de 10 cc.; cajas Petri; diluyente fosfato buffer o diluyente peptonado al 0,1% ó diluyente salino;

agar ATP o Tryptycasa soy agar o Tryptona - glucosa levadura agar. Agregar 0,5% de NaCl al medio seleccionado. Todo el material convenientemente esterilizado.

3. METODO.

Corte asépticamente trozos uniformes de una zona predeterminada del producto, que respetará a lo largo de todos los ensayos.

Después de la completa randomización de la muestra, pese 10 gramos de una porción representativa en un recipiente estéril y transfíralo luego al vaso de licuadora. Agregue 90 ml. del diluyente seleccionado y agite a velocidad uniforme durante 1 minuto; al cabo de 5" vuelva a agitar por otro minuto adicional. En estas condiciones obtendrá en el material licuado una dilución de 1:10.

Proceda seguidamente a realizar las siguientes diluciones decimales transfiriendo 10 cc. del licuado a un Erlenmeyer con 90 cc. de diluyente. Tome las debidas precauciones durante el pipeteado. Agite manualmente 20 veces. Obtendrá así la dilución 1:100.

Repita la operación hasta obtener diluciones de 1:10.000 a 1:1.000.000 según considere pueda estar la contaminación del material a investigar. No deberán pasar más de 15 minutos entre la dilución inicial y las subsecuentes que se realicen.

Comenzando con la porción más diluída, tome asépticamente 1 cc. de mezcla y viértala en placa Petri, realizando doble placa por cada dilución. Seguidamente agregue 15 cc. de medio de cultivo no selectivo a 45° C en cada placa, el que previamente había fundido y mantenido a la temperatura indicada mediante baño maría.

Agite circularmente sobre la mesa de trabajo cada placa antes que el medio de cultivo se solidifique, cuidando que no llegue a tocar los bordes superiores de la placa durante la operación.

Cuando el agar se haya solidificado, incube las placas invertidas en estufa a 20 - 25° C (numeración de psicrófilos) o a 35° C (numeración de mesófilos) durante 96 y 48 horas respectivamente.

Tabla de valores logarítmicos para uso en contajes de bacterias.

Cuenta	Logaritmo	Cuenta	Logaritmo	Cuenta	Logaritmo	Cuenta	Logaritmo	Cuenta	Logaritmo
1.000	3.00	61.000	4.79	310.000	5.49	910.000	5.96	6.100.000	6.79
2.000	3.30	62.000	4.79	320.000	5.51	920.000	5.96	6.200.000	6.79
3.000	3.48	63.000	4.80	330.000	5.52	930.000	5.97	6.300.000	6.80
4.000	3.60	64.000	4.81	340.000	5.53	940.000	5.97	6.400.000	6.81
5.000	3.70	65.000	4.81	350.000	5.54	950.000	5.98	6.500.000	6.81
6.000	3.78	66.000	4.82	360.000	5.56	960.000	5.98	6.600.000	6.82
7.000	3.85	67.000	4.83	370.000	5.57	970.000	5.99	6.700.000	6.83
8.000	3.90	68.000	4.83	380.000	5.58	980.000	5.99	6.800.000	6.83
9.000	3.95	69.000	4.84	390.000	5.59	990.000	5.99	6.900.000	6.84
10.000	4.00	70.000	4.85	400.000	5.60	1.000.000	6.00	7.000.000	6.85
11.000	4.04	71.000	4.85	410.000	5.61	1.100.000	6.04	7.100.000	6.85
12.000	4.08	72.000	4.86	420.000	5.62	1.200.000	6.08	7.200.000	6.86
13.000	4.11	73.000	4.86	430.000	5.63	1.300.000	6.11	7.300.000	6.86
14.000	4.15	74.000	4.87	440.000	5.64	1.400.000	6.15	7.400.000	6.87
15.000	4.18	75.000	4.88	450.000	5.65	1.500.000	6.18	7.500.000	6.88
16.000	4.20	76.000	4.88	460.000	5.66	1.600.000	6.20	7.600.000	6.88
17.000	4.23	77.000	4.89	470.000	5.67	1.700.000	6.23	7.700.000	6.89
18.000	4.26	78.000	4.89	480.000	5.68	1.800.000	6.26	7.800.000	6.89
19.000	4.28	79.000	4.90	490.000	5.69	1.900.000	6.28	7.900.000	6.90
20.000	4.30	80.000	4.90	500.000	5.70	2.000.000	6.30	8.000.000	6.90
21.000	4.32	81.000	4.91	510.000	5.71	2.100.000	6.32	8.100.000	6.91
22.000	4.34	82.000	4.91	520.000	5.72	2.200.000	6.34	8.200.000	6.91
23.000	4.36	83.000	4.92	530.000	5.72	2.300.000	6.36	8.300.000	6.92
24.000	4.38	84.000	4.92	540.000	5.73	2.400.000	6.38	8.400.000	6.92
25.000	4.40	85.000	4.93	550.000	5.74	2.500.000	6.40	8.500.000	6.93
26.000	4.42	86.000	4.93	560.000	5.75	2.600.000	6.42	8.600.000	6.93
27.000	4.43	87.000	4.94	570.000	5.76	2.700.000	6.43	8.700.000	6.94
28.000	4.45	88.000	4.94	580.000	5.76	2.800.000	6.45	8.800.000	6.94
29.000	4.46	89.000	4.95	590.000	5.77	2.900.000	6.46	8.900.000	6.95
30.000	4.48	90.000	4.95	600.000	5.78	3.000.000	6.48	9.000.000	6.95
31.000	4.49	91.000	4.96	610.000	5.79	3.100.000	6.49	9.100.000	6.96
32.000	4.51	92.000	4.96	620.000	5.79	3.200.000	6.51	9.200.000	6.96
33.000	4.52	93.000	4.97	630.000	5.80	3.300.000	6.52	9.300.000	6.97
34.000	4.53	94.000	4.97	640.000	5.81	3.400.000	6.53	9.400.000	6.97
35.000	4.54	95.000	4.98	650.000	5.81	3.500.000	6.54	9.500.000	6.98
36.000	4.56	96.000	4.98	660.000	5.82	3.600.000	6.56	9.600.000	6.98
37.000	4.57	97.000	4.99	670.000	5.83	3.700.000	6.57	9.700.000	6.99
38.000	4.58	98.000	4.99	680.000	5.83	3.800.000	6.58	9.800.000	6.99
39.000	4.59	99.000	4.99	690.000	5.84	3.900.000	6.59	9.900.000	6.99
40.000	4.60	100.000	5.00	700.000	5.85	4.000.000	6.60	10.000.000	7.00
41.000	4.61	110.000	5.04	710.000	5.85	4.100.000	6.61	11.000.000	7.04
42.000	4.62	120.000	5.08	720.000	5.86	4.200.000	6.62	12.000.000	7.08
43.000	4.63	130.000	5.11	730.000	5.86	4.300.000	6.63	13.000.000	7.11
44.000	4.64	140.000	5.15	740.000	5.87	4.400.000	6.64	14.000.000	7.15
45.000	4.65	150.000	5.18	750.000	5.88	4.500.000	6.65	15.000.000	7.18
46.000	4.66	160.000	5.20	760.000	5.88	4.600.000	6.66	16.000.000	7.20
47.000	4.67	170.000	5.23	770.000	5.89	4.700.000	6.67	17.000.000	7.23
48.000	4.68	180.000	5.26	780.000	5.89	4.800.000	6.68	18.000.000	7.26
49.000	4.69	190.000	5.28	790.000	5.90	4.900.000	6.69	19.000.000	7.28
50.000	4.70	200.000	5.30	800.000	5.90	5.000.000	6.70	20.000.000	7.30
51.000	4.71	210.000	5.32	810.000	5.91	5.100.000	6.71	30.000.000	7.48
52.000	4.72	220.000	5.34	820.000	5.91	5.200.000	6.72	40.000.000	7.60
53.000	4.72	230.000	5.36	830.000	5.92	5.300.000	6.72	50.000.000	7.70
54.000	4.73	240.000	5.38	840.000	5.92	5.400.000	6.73	60.000.000	7.78
55.000	4.74	250.000	5.40	850.000	5.93	5.500.000	6.74	70.000.000	7.85
56.000	4.75	260.000	5.42	860.000	5.93	5.600.000	6.75	80.000.000	7.90
57.000	4.76	270.000	5.43	870.000	5.94	5.700.000	6.76	90.000.000	7.95
58.000	4.76	280.000	5.45	880.000	5.94	5.800.000	6.76	100.000.000	8.00
59.000	4.77	290.000	5.46	890.000	5.95	5.900.000	6.77	200.000.000	8.30
60.000	4.78	300.000	5.48	900.000	5.95	6.000.000	6.78	300.000.000	8.48

Pasado el lapso de incubación cuente las colonias de las placas que contengan entre 30 y 300 colonias. Recuerde que esta metodología brinda una estimación del número de microorganismos viables del material a investigar de acuerdo al medio empleado, el tiempo y la temperatura de incubación. Dado que no existe seguridad absoluta que los gérmenes se hayan distribuido aisladamente durante las diluciones, refiera los resultados al número de colonias que Ud. halle.

Nota: Diversos autores indican como conveniente el descongelado de las muestras de productos pesqueros congelados. A tales efectos la bibliografía sugiere realizar esa operación a temperatura ambiente durante 2 horas; a 37° C durante 30 a 60 minutos; o a temperatura de refrigerador (4° C) por no más de 18 horas según el tipo de material.

4. CALCULO.

Una vez obtenido el número de colonias halladas por placa y por cada dilución, de acuerdo al esquema presentado más arriba, anote los siguientes valores:

1. Cuenta en placa x dilución.
2. Valores logarítmicos obtenidos de acuerdo a cada cuenta. (Tabla No. 1) (Según ciertos autores) (*).
3. Promedio de los logaritmos respectivos.
4. Recuento final de acuerdo al logaritmo promedio.

5. EXPRESION DE LOS RESULTADOS.

No. de colonias x gramo de producto (a temperatura de referencia).

REFERENCIAS.

- A.O.A.C. (1980) Microbiological Methods Cap. 46. 13th Edition. William Horwitz, Editor, Washington D.C. USA.
- APHA (1966) Recommended Methods for the Microbiological Examination of Foods. J.M. Sharf, Editor. New York N.Y. USA.
- (1976) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Marvin L. Speck, Editor. Washington D.C. USA.
- Bacteriological Analytical Methods for Foods (1972) Superintendent of Documents. U.S. Government Printing Office Washington D.C. USA.
- Calabrese, R.H.; Goraicochea, J. (1974) Calidad de filete de merluza en las bocas de expendio de Mar del Plata. CARPAS. Sexta Reunión. Montevideo, Uruguay.
- Calabrese, R.H. (1965) Valoración de la frescura de la merluza mediante la determinación de TMA y tirosina. Segundo Congreso de Promoción Pesquera. Necochea. Argentina.
- Marchelli, R.; Dalchiale, A.; Dovot, A. (1975) Técnicas Bacteriológicas empleadas por el Laboratorio de Análisis y ensayos Montevideo, Uruguay.
- Pacific Fisheries Technologists (1962) Scientific Methods Fish and Fishery Products. Seattle, Washington USA.
- Varona, J.J. (1977) Aspects of Quality of Make frozen on-shore and at sea. Peseanova S.A. Vigo. España.
- Verger, G. (1974) Contribution a l'etude de l'influence du mode de descongelation sur les resultats des Examen Microbiologiques de produits de la feche congelés. Memoire. Université des Sciences et Techniques de Lille. France.
- Werner, J. (1977) Exigencias del mercado alemán para la merluza latinoamericana, Mimeo. presentado a la Industria Privada Nacional.
- * Work Book (1958) Microbiology of Foods - Tanner. Garrard Press. Champaign, Illinois, USA.