


Sinonimia

DRBC Agar

Especificación

Medio selectivo para la enumeración de mohos y levaduras en alimentos de acuerdo a las normas ISO.

Fórmula * en g/L

Peptona micológica.....	5,000
Dextrosa.....	10,000
Fosfato monopotásico.....	1,000
Sulfato magnésico.....	0,500
Dicloran.....	0,002
Rosa de bengala.....	0,025
Cloranfenicol.....	0,100
Agar.....	15,000

pH final a 25 °C, 5,6 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Suspender 31,6 g del polvo en 1 L de agua destilada y disolver por ebullición. Distribuir en recipientes adecuados y esterilizar al autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Descripción

El Agar Dichloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC Agar) es un medio basado en el Agar Dichloran Rosa de Bengala Clortetraciclina que desarrollaron King y cols., en 1979 a partir de la formulación del Rosa de Bengala Clortetraciclina propuesto por Jarvis en 1973.

La combinación de Dichloran y Rosa de Bengala restringe notablemente el desarrollo colonial de los mohos tanto en extensión como en altura. De esta forma se reprime que el crecimiento exacerbado de algunas colonias enmascare a las más lentas o moderadas y al mismo tiempo permite y facilita un recuento colonial más preciso.

La presencia de Cloranfenicol y el reducido pH (5,6) impide el crecimiento de la mayoría de las bacterias. Este medio soporta bien el crecimiento de mohos y levaduras y puede usarse para la enumeración de hongos ya sean toxicogénicos o no, pero no es diagnóstico para la detección de productores de micotoxinas específicos.

En la actual formulación la concentración original de rosa de bengala se ha reducido hasta 25 µg/mL para obtener unos resultados óptimos con el Dichloran. El Cloranfenicol ha sustituido a la clortetraciclina, ya que presenta mayor estabilidad y facilidad de manipulación y es preferido en el sector alimentario y medioambiental.

La mayoría de levaduras y algunos mohos son capaces de incorporar el Rosa de Bengala en las colonias coloreándolas, lo cual facilita y permite su reconocimiento y enumeración. En algunos casos se ha informado de una recuperación muy reducida de determinadas levaduras debido al aumento actividad del Rosa de Bengala a pH 5,6.

Técnica

La muestra se inocula esparciendo un volumen de 0,1-0,2 mL sobre toda la superficie de la placa de 9 cm. de diámetro. Las placas se incuban boca arriba, a 25°C durante 5 días en oscuridad, con exámenes parciales a los 3,4 y 5 días. Si se requiere una identificación precisa es aconsejable prolongar la incubación hasta la formación de colonias características. Las colonias de levadura suelen tomar coloración rosada o rojiza debido al acúmulo del Rosa de Bengala.

Precauciones y Limitaciones del Método

- Algunas cepas de hongos procedentes de tipos de muestras especiales no crecen o crecen mal en este medio debido a su alta selectividad.
- De forma similar puede esperarse que el crecimiento de determinadas cepas bacterianas no sea inhibido lo sea tan sólo parcialmente.
- Este medio es fotosensible. No debe exponerse a la luz ya que se provoca la foto-oxidación del Rosa de Bengala y puede producir compuestos tóxicos para los hongos.
- El medio ya preparado o las placas prontas al uso tienen una vida útil (shelf-life) escasa y se recomienda conservarlo a 4 ± 2°C y en la oscuridad.

Control de calidad
Temperatura de incubación: 25 °C ± 1.0

Tiempo de incubación : ≤ 5 d

Inóculo: Rango práctico 100 ± 20 UFC ; Min. 50 UFC (Productividad) / 10⁴-10⁶ CFU (Selectividad) según UNE-EN ISO 11133:2014/Amd 1:2018 . Método de siembra espiral.

Microorganismo	Crecimiento	Observaciones
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC® 6633	Inhibido	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Inhibido	-
<i>Aspergillus niger</i> ATCC® 16404	Productividad > 0.50	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC® 9763	Productividad > 0.50	-
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231	Productividad > 0.50	-
<i>Mucor racemosus</i> ATCC® 42647	Productividad > 0.50	-

**Bibliografía**

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Culture Media. CRC Press. Boca Raton. Fla. USA.
- BAYLIS, C.L. (2003) Manual of Microbiological Methods for the Food and Drinks Industry. CCFRA. Chipping Campden. Gloucestershire. UK.
- BEUCHAT, L.R. & M.A. COUSIN (2001) Yeasts and Molds. In Downes and Ito (ed.) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. APHA. Washington. USA.
- CORRY, J.E.L., G.D.W. CURTIS & R.M. BAIRD (2003) Handbook of Culture Media for Food Microbiology. Elsevier Science. Amsterdam.
- ISO 21527-1 Standard (2008) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the enumeration of yeast and moulds - Part1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- JARVIS, B.(1973) Comparison of an improved Rose-Bengal-Chlortetracycline Agar with other media for the selective isolation and enumeration of moulds and yeasts in food. J. Appl. Bacteriol. 36:723-727.
- KING, D.A., A.D. HOCKING & J.J.PITT (1979) Dichloran-Rose Bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. Appl. Environm. Microbiol. 37:959-964.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco y seco (entre 4°C y 30 °C).