

## DRBC AGAR BASE

**Terreno di base in polvere e terreno pronto in flacone ed in piastra per il conteggio di lieviti ed muffe in alimenti e mangimi con attività dell'acqua superiore a 0,95 (ISO 21527-1)**

### FORMULA TIPICA DEL TERRENO DI BASE IN POLVERE (g/L)

Idrolisato enzimatico di tessuti animali e vegetali	5
Glucosio (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	10
Potassio diidrogenofosfato (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1
Magnesio solfato (MgSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O)	0,5
Dichloran (2,6-dichloro-4-nitroanilina)	0,002
Rosa bengala	0,025
Agar	15

### FORMULA TIPICA DEL TERRENO IN FLACONE ED IN PIASTRA (g/L)

Idrolisato enzimatico di tessuti animali e vegetali	5
Glucosio (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	10
Potassio diidrogenofosfato (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1
Magnesio solfato (MgSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O)	0,5
Dichloran (2,6-dichloro-4-nitroanilina)	0,002
Rosa bengala	0,025
Agar	15
Cloramfenicolo	100 mg
Acqua	1000 ml

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 15.5 g in 500 ml di acqua distillata fredda e portare ad ebollizione per sciogliere completamente la polvere. Ricostituire un flacone di Chloramphenicol Antimicrobial Supplement (REF 4240003) secondo le istruzioni ed aggiungerlo al terreno. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare ad una temperatura inferiore a 50°C in bagnomaria termoregolato tra 44 a 47°C. Mescolare e distribuire 15 ml in piastre di Petri sterili. Conservare il terreno al riparo della luce. pH finale 5,6 ± 0.2

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN FLACONE

Scaldare in bagnomaria a 100°C portando ad ebollizione il terreno in flacone agitando di tanto in tanto. Raffreddare a circa 50°C e trasferire in piastre Petri sterili. pH finale 5,6 ± 0.2

### DESCRIZIONE

Il terreno DRBC (Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol) Agar Base, supplementato di cloramfenicolo corrisponde alla formulazione descritta da ISO 21527-1 per il conteggio in piastra di lieviti ed muffe in prodotti destinati all'alimentazione umana ed in mangimi, con attività dell'acqua superiore a 0,95 (uova, carne, derivati del latte, con l'esclusione del latte in polvere, frutta, vegetali, pasta fresca ecc. La procedura qui descritta non si applica al conteggio delle spore fungine e dei funghi resistenti al calore.

Il terreno DRBC Agar è una modificazione del Rose Bengal Agar e contiene dicloran che, in abbinamento con il rosa bengala, inibisce la sovra-crescita fungina espressa come sovra-sviluppo dei miceli aerei.

### IMPIEGO

Preparare la sospensione del campione e le sue diluizioni decimali in accordo allo specifico standard internazionale applicabile

- Trasferire per mezzo di una pipetta sterile 0,1 ml campione tal quale se liquido o 0,1 ml della sospensione madre (10<sup>-1</sup>) per gli altri prodotti. Per facilitare il conteggio di bassi numeri di lieviti e muffe è possibile seminare 0,3 ml in aliquote di 0,1 ml su tre piastre. Ripetere l'operazione per le successive diluizioni impiegando una pipetta sterile per ciascuna diluizione.

- Distribuire l'inoculo sulla superficie delle piastre per mezzo di un'ansa a L, spatolando fino che tutto il liquido è stato assorbito dall'agar.
- Incubare in aerobiosi le piastre non capovolte a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$
- Leggere le piastre dopo 2-5 giorni di incubazione. Selezionare le piastre che contengano meno di 150 colonie e contare in maniera selettiva tutte le varie morfologie di colonie (lieviformi, fungine ecc.
- Riportare come numero di colonie (eventualmente differenziando per tipo) per grammo di campione

**CONTROLLO QUALITA'** (25  $\pm$  1°C, 5 GIORNI)

Produttività (ceppi raccomandati da ISO 21527-1)

*S.cerevisiae* ATCC 9763: crescita*C.albicans* ATCC 10231: crescita*Aspergillus niger* ATCC 16404 crescita con limitato sviluppo del diametro delle colonie e dello sviluppo aereo dei miceli*Mucor racemosus* ATCC 42647 crescita con limitato sviluppo del diametro delle colonie e dello sviluppo aereo dei miceli

Selettività (ceppi raccomandati da ISO 21527-1)

*E.coli* ATCC 25922: inibito*B. subtilis* ATCC 6633: inibito**ASPETTO**

Terreno in polvere: polvere fine, omogenea di colore rosa

Terreno in piastra: violetto, limpido

**CONSERVAZIONE:**

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il terreno è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Piastrine preparate in laboratorio: conservare a 2-8°C al buio

**PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI**

I terreni di coltura qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni  $\geq 1\%$ . Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione del terreno di base deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

I prodotti qui descritti devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

Sterilizzare le piastre dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

**BIBLIOGRAFIA**

ISO/DIS 21527-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds -- Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95

**CONFEZIONI****Terreno in polvere****4013932 DRBC Agar Base 500 g (16.1 L)****Supplemento****4240003 Chloramphenicol Antimicrobial Supplement 10 x 500 ml****Terreno pronto all'uso in flacone****5113933 DRBC Agar 6x 200 ml****Terreno pronto all'uso in piastra****541393 DRBC Agar 20 piastre Ø 90mm**