

MEDIO CULTIVO BRETT

FICHA TÉCNICA

DOLMAR

Medio de cultivo para el análisis microbiológico de *Brettanomyces*

PRESENTACIÓN

El **MEDIO DE CULTIVO BRETT DOLMAR** es un medio de cultivo específico para el recuento de *Brettanomyces*. Su especificidad procede de su composición:

Nutrientes: Peptonas, D-glucosa, Extracto de levadura, YNB, Fenoles volátiles precursores y Agar

Inhibidores selectivos: Cloranfenicol CAS 56-75-7 < 0,025 % y cicloheximida CAS 66-81-9 < 0,025 %

Es de destacar la presencia de cicloheximida, antifúngico que impide el desarrollo de las principales especies de levaduras, excepto las *Brettanomyces* y las *Kloeckera*.

MODO, DOSIS DE EMPLEO Y DECLARACIONES

MATERIAL NECESARIO (no incluido):

Mechero Bunsen (y si es posible, cabina de flujo laminar)

Sistema de filtrado y trompa o bomba de vacío

Erlen de filtrado y pinza

Placas Petri de 45 o 55 mm Ø

Membranas de filtración de porosidad 0,45 µm

1) Disolución del medio

Calentar el frasco en horno microondas (3 o 4 veces, durante 30 segundos, al máximo de potencia) o al “baño maría” (con el agua a 90°C) el tiempo suficiente para que el medio pase a forma líquida.

2) Preparación de las placas Petri

Esperar durante 5 minutos hasta que la temperatura baje a 50°C, disolver la cicloheximida en alrededor de 20 ml de agua estéril y añadir al medio esterilizándolo para filtración, mezclar y llenar las placas Petri en una zona estéril (utilizando el mechero Bunsen). Dejar solidificar (3 minutos) y posteriormente dejar secar las placas boca abajo sobre la mesa de trabajo, al menos durante 30 minutos.

Colocar seguidamente las placas en el refrigerador durante varias horas antes de utilizarlas (máximo 3 semanas).

3) Sembrado

Colocar 0,1 ml de la muestra (vino puro, diluido o filtrado) en la superficie del medio. A continuación, repartir este líquido por toda la superficie de la placa con un rastrillo. Efectuar estas operaciones de manera axénica con la ayuda del mechero Bunsen.

4) Incubación

Colocar en la estufa a 30°C durante 10 días.

PRODUCTO ALIMENTARIO: Este producto es conforme a los reglamentos CE 491/2009 y 2019/934 por lo que cumple todas las garantías de pureza para ser adicionado a un producto alimentario como el vino.
CODEX ENOLÓGICO: Producto conforme al CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL según versión en vigor. Responde a las normas y recomendaciones del CODEX ALIMENTARIO y a sus reglas de higiene siendo conforme a las normas europeas a nivel alimentario como aditivos o auxiliares agroalimentarios.

AUSENCIA DE OGM: Este producto no procede de organismos modificados genéticamente ni los contiene.

NO-IONIZACIÓN: Este producto no ha sido sometido a tratamiento ionizante.

Este documento tiene una validez de 3 años, salvo que sea sustituido o se indique lo contrario.

Rev: 01/04/2024



Dolmar Productos, S.L.U.

Polígono Entrecarreteras

C/ La Industria 28

26200 Haro

(La Rioja) España

info@dolmar.es

www.dolmarproductos.com

MEDIO CULTIVO BRETT

FICHA TÉCNICA

DOLMAR

5) Lectura

Llevar a cabo una primera lectura después de 3-4 días. Anotar cuidadosamente el recuento de colonias (N1); estas colonias no son de *Brettanomyces* (crecimiento demasiado rápido).

Efectuar una segunda lectura después de 8-10 días. Anotar el recuento de colonias (N2).

6) Interpretación

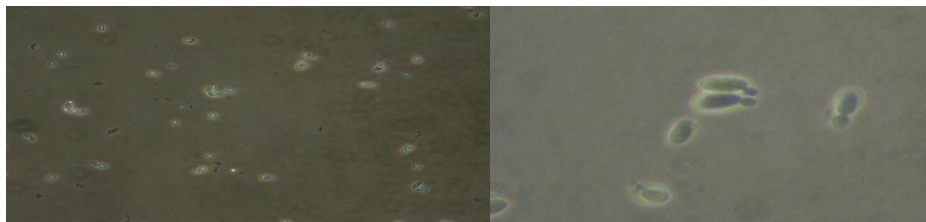
Número de células de *Brettanomyces* (UFC/ml) = $(N2 - N1) * 10$ (ya que la toma de muestra es de 0,1 ml).

Multiplicar por la dilución si hubiera tenido lugar.

7) Confirmación

Durante los primeros análisis realizados por un laboratorio con este medio, se aconseja confirmar que se trata de la especie *Brettanomyces* mediante la observación microscópica de varias colonias. Las células de *Brettanomyces* tienen las siguientes particularidades:

- La morfología de las células es enormemente variable (redondas, alargadas, puntiagudas... a menudo su forma asemeja un ataúd).
- Cuando germinan, la célula resultante es con frecuencia pequeña en extremo y dibuja un ángulo de 45° con la célula madre.



Aumento 400

Aumento 1000

Fotos: INTELLÍGENO

PRECAUCIONES: Debido a la posibilidad de aparición de alguna otra especie de levadura, se debe hacer una lectura en dos etapas: la primera, a 3-4 días y la segunda, a 8 días. En todo medio sólido se debe esperar 8 días después de un sulfitado para hacer un análisis; si no, las células estresadas y por tanto viables, aunque no cultivables, no podrán ser detectadas (lo que no sucede con nuestro medio líquido **Sniff-Brett**).

PRESENTACIÓN Y VIDA ÚTIL

Medio de cultivo de color *beige*, en frasco de vidrio de 250 ml, siendo 200 ml el volumen de diluyente.

Frasco conteniendo 50 mg de cicloheximida Jeringa y filtro para esterilizar el inhibidor.

Dispone de una vida útil de un año desde su fabricación

CONDICIONES DE CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE

Se recomienda mantenerlo a 2-8°C. No requiere condiciones especiales de transporte.

PRODUCTO ALIMENTARIO: Este producto es conforme a los reglamentos CE 491/2009 y 2019/934 por lo que cumple todas las garantías de pureza para ser adicionado a un producto alimentario como el vino.
CODEX ENOLÓGICO: Producto conforme al CODEX ENOLÓGICO INTERNACIONAL según versión en vigor. Responde a las normas y recomendaciones del CODEX ALIMENTARIO y a sus reglas de higiene siendo conforme a las normas europeas a nivel alimentario como aditivos o auxiliares agroalimentarios.

AUSENCIA DE OGM: Este producto no procede de organismos modificados genéticamente ni los contiene.

NO-IONIZACIÓN: Este producto no ha sido sometido a tratamiento ionizante.

Este documento tiene una validez de 3 años, salvo que sea sustituido o se indique lo contrario.

Rev: 01/04/2024



Dolmar Productos, S.L.U.

Polígono Entrecarreteras

C/ La Industria 28

26200 Haro

(La Rioja) España

info@dolmar.es

www.dolmarproductos.com