

INSTRUÇÕES DE USO

AGAR BILE VERMELHO VIOLETA LACTOSE (VRBL)

Meio seletivo para detecção e contagem de coliformes em produtos de uso diário, água e alimentos

Descrição

O Agar Bile Vermelho Violeta Lactose (VRBL) é um meio seletivo para detecção e contagem coliformes em produtos de uso diário, água e alimentos, segundo a ISO 4832.

Composição

Fórmula em g/L	
Lactose	10,00
Peptona de gelatina	7,00
Cloreto de sódio	5,00
Extrato de levedura	3,00
Sais biliares	1,50
Vermelho neutro	0,03
Violeta cristal	0,002
Agar bacteriológico	15,00
pH Final 7,4 ± 0,2 a 25°C	



Escherichia coli
ATCC 25922

Salmonella gallinarum
NCTC 9240

Preparação

Suspender 41,5 gramas do meio em um litro de água destilada. Misturar bem e dissolver sob aquecimento e agitação frequente. Ferver por um minuto até completar a dissolução. NÃO SUPERAQUECER O MEIO. Resfriar à temperatura de 45°C e usar imediatamente. O meio preparado deve ser armazenado entre 8 – 15°C. A coloração é vermelho-púrpura. O meio desidratado deve ser homogêneo, de fluxo livre e de coloração bege-avermelhado. Se houver qualquer alteração física, descartar o meio.

Usos

O AGAR BILE VERMELHO VIOLETA LACTOSE (VRBL), contendo bile e corante vermelho violeta, é baseado no Agar MacConkey (Cat. 1052) e utilizado para a detecção e contagem de bactérias fermentadoras de lactose, bem como para a diferenciação de coliformes ou do grupo *Coliaerogenes* de organismos não fermentadores de lactose em produtos de uso diário, água e alimentos. A peptona de gelatina fornece nitrogênio, vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais para o crescimento microbiano. O extrato de levedura consiste na fonte de vitaminas, em particular aquelas do grupo B. A lactose é o carboidrato fermentável e fornece carbono e energia. Os sais biliares e o violeta cristal inibem o crescimento de bactérias gram positivas. O vermelho neutro é o indicador de pH. O cloreto de sódio auxilia nos eletrólitos essenciais para o transporte e balanço osmótico. O ágar bacteriológico é o agente solidificante. É conveniente utilizar o método de semeadura em placa adicionando 1 mL da diluição desejada em uma placa de petri estéril, adicionar na sequência 15 mL do meio, resfriar até 45 – 50°C, e rotacionar gentilmente antes da solidificação. Uma vez solidificado, adicionar uma segunda camada de meio até atingir uma profundidade de 5 mm. Permitir a solidificação. Incubar a temperatura de 35 ± 2°C por 18 – 24 horas.

A ISO 4832 recomenda o preparo de duas placas para o produto líquido e/ou para cada diluição escolhida. Com uma pipeta estéril, transferir 1 mL do produto líquido ou das diluições apropriadas para o centro de cada placa. Use outra pipeta estéril para inocular cada diluição nas placas. Dispensar cerca de 15 mL do meio VRBL, a uma temperatura de 44 – 47°C, em cada placa de petri. O tempo transcorrido entre o fim da preparação da suspensão inicial (ou da diluição 1:10 em caso de produto líquido) e o momento em que o meio é dispensado nas placas não pode exceder 15 minutos. Misturar cuidadosamente o inóculo com o meio e deixar a mistura solidificar com a placa de petri sob uma superfície horizontal fria. Preparar também uma placa controle com o meio, a fim de verificar sua esterilidade. Após completa solidificação, dispensar cerca de 4 mL do meio VRBL, a temperatura de 44 – 47°C, na superfície do meio já inoculado. Deixar novamente solidificar, conforme descrito anteriormente. Inverter as placas preparadas e inocula-las em

incubador a 30°C ou 37°C durante 24 ± 2 horas. Os fermentadores de lactose formam colônias vermelhas com halos vermelho-púrpura. Ocasionalmente, os cocos do trato intestinal podem se desenvolvem em colônias pequenas, puntiformes e vermelhas.

Teste Microbiológico

Os resultados abaixo foram obtidos do desempenho do meio frente a cultura das espécies após incubação a uma temperatura de 35 ± 2°C e observado após 18 - 24 horas*

Microorganismo	ATCC	Crescimento	Cor da colônia	Inóculo (UFC/mL)	Taxa de recuperação (%)
<i>Escherichia coli</i>	25992	Bom	Púrpura	10 ³ – 10 ⁵	≥ 30
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	Bom	Púrpura	10 ³ – 10 ⁵	≥ 30
<i>Salmonella gallinarum</i>	9240	Bom	Incolor	10 ³ – 10 ⁵	≥ 30
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	Inibido		> 10 ⁵	≤ 0,01
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Inibido			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Bom	Bege – Incolor	10 ²	≥ 80

* De acordo com a ISO 4832. Incubação a 30 ou 37°C e observação após 24 ± 2 horas.

De acordo com a ISO 11133 (24h/30°C): Produtividade, seletividade e especificidade

Microorganismo	ATCC	Inóculo (UFC/mL)	Produtividade quantitativa	Seletividade quantitativa	Especificidade quantitativa
<i>Escherichia coli</i>	25922	10 ²	Pr ≥ 0,5		Colônias rosa-vermelha com ou sem precipitação
<i>Salmonella ssp</i>		10 ²	Pr ≥ 0,8		
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	10 ⁴ / 10 ⁶		Inibida	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	10 ²			Branca-bege

Referencia Média de Produtividade: TSA.

Armazenamento

Uma vez aberto manter o meio em pó fechado para evitar a hidratação.

Referências

ISO 4832. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coliforms - Colony-count technique.

Collins, J. Milk and Food Tech 18:169, 1955. Hartman, J. Milk and Food Tech 23:43. 1960

Speck, M.L. (ed) 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA).

Tabela de Símbolos

 Proteger contra umidade	 Proteger contra luz	 Limites de temperatura
--	--	---

Para maiores informações

Telefone: (41) 3535-0900

Fax: (41) 3535-0901

E-mail: kasvi@kasvi.com.br

URL: www.kasvi.com.br