



## ÁGAR BILE VERMELHO VIOLETA (VRBL)

### USO

O Ágar Bile Vermelho Violeta (VRBL) é um meio seletivo usado para a detecção e contagem de bactérias coliformes na água, leite, laticínios e outros produtos alimentícios.

### HISTÓRIA

Um grande número de pesquisadores tem estudado este meio. MacCrady em 1932 para o Comitê de Métodos Padrão de Análise de Leite da Associação Americana de Saúde Pública, Bartram e Black para o isolamento de bactérias coliformes em leite cru e pasteurizado, e também Miller e Prickett em uma nota relativa a recontaminação do leite. Todos estes autores acharam o meio satisfatório, dados que os resultados completos foram obtidos dentro de 24 horas de incubação.

### PRINCÍPIOS

- A presença simultânea do cristal violeta e dos sais biliares inibem as bactérias Gram-positivas.
- A fermentação da lactose resulta em acidificação do meio, mostrada pela cor vermelha do indicador de pH (vermelho neutro) e pela precipitação dos ácidos biliares ao redor das colônias.

### PREPARAÇÃO

- Suspender 38,5 g do meio desidratado (BK152) em 1 litro de água destilada ou deionizada.
- Lentamente levar a ebulição, agitando até a dissolução completa.
- Não superaquecer.
- Não autoclavar.
- Com o meio base pronto para uso (BM034 ou BM035), derreter o ágar a uma quantidade de tempo mínima necessária a fim de atingir a liquefação total.

### NOTA:

O MUG (4-metilumbelliferil- $\beta$ -D-glucuronide) pode ser adicionado ao meio a fim de detectar *Escherichia coli* (referente a monografia sobre Suplemento MUG, BS024).

## **INSTRUÇÕES PARA USO**

- Resfriar e manter o meio entre 44-47°C.
- Transferir 1 mL do produto a ser analisado e suas diluições em decuplicata para placas de Petri.
- Despejar em 12 mL do meio.
- Homogeneizar por agitação.
- Deixar solidificar sobre uma superfície fria.
- Cobrir o ágar solidificado com 4 mL do meio.
- Deixar solidificar.
- Incubar:
  - a 30°C por 24 horas para a detecção e contagem de bactérias coliformes,
  - a 44°C para bactérias coliformes termotolerantes.

## **RESULTADOS**

As bactérias coliformes formam colônias violeta cujo diâmetro é igual ou maior do que 0,5 mm após 24 horas de incubação. Enterobactérias lactose-negativas são incolores. No contexto do protocolo descrito na NF ISO 4832, pode ser necessário confirmar colônias atípicas via produção de gás em caldo Bile Verde Brilhante BGBB (BK002, BM011).

## **COMPOSIÇÃO TÍPICA**

(pode ser ajustada para se obter um melhor desempenho)

Para 1 litro de meio:

- Peptona péptica de carne.....7,0 g
- Extrato de levedura.....3,0 g
- Lactose.....10,0 g
- Sais biliares.....1,5 g
- Cloreto de sódio.....5,0 g
- Vermelho neutro.....30,0 mg
- Cristal violeta .....2,0 mg
- Ágar Bacteriológico.....12,0 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,4 ± 0,2.

## **CONTROLE DE QUALIDADE**

- Meio desidratado: pó bege a bege-rosado, de fluxo livre e homogêneo.
- Meio preparado: ágar avermelhado.
- Típica resposta da cultura após 24 horas de incubação a 30°C e a 44°C:

Microrganismos	Crescimento (Índice de Produtividade: $P_R$ )	Características
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	$P_R \geq 50\%$	colônias vermelho-violeta
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	$P_R \geq 50\%$	colônias vermelho-violeta
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	bom, valor 2	colônias bege-rosadas
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	inibido, valor 0	

\* Para os meios prontos para derreter BM03408 e BM03508, esta cepa é apenas testada a 30°C.

## **ESTOCAGEM / SHELF LIFE**

### **Meio desidratado: 2-30°C.**

- A data de validade está indicada na etiqueta.

### **Meio preparado (valor de referência\*):**

- Usar no dia da preparação.

### **Meio pronto para derreter em frascos:**

- Armazenar entre 2-14°C, ao abrigo da luz.
- A data de validade está indicada na etiqueta.

### **Suplemento MUG 50 mg:**

- Armazenar entre 2-8°C, ao abrigo da luz.
- A data de validade está indicada na etiqueta.

## **EMBALAGEM**

Código

### **Meio pronto para derreter em frascos:**

- 10 x 100 mL
- 10 x 200 mL

BM03408  
BM03508

### **Meio desidratado:**

- Frasco de 500 g
- Tambor de 5 kg

BK152HA  
BK152GC

### **Suplemento MUG 50 mg:**

- Embalagem com 10 frascos

BS02408

## **BIBLIOGRAFIA**

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF ISO 4832 (V 08-015). Juillet 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes. Méthode par comptage des colonies.

NF V08-050. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes présumés par comptage des colonies obtenues à 30°C .

NF V08-060. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C.

## **FOTO ILUSTRATIVA**

**Referência do produto:** BK152HA, GC, BM03408, BM03508

**Meio usado para:** Detecção seletiva e contagem de bactérias coliformes em alimentos.

---



***Escherichia coli***

agar Bile Vermelho Violeta (VRBL)

Ref: **BK152HA**

Incubação: 24 horas / 30°C

Características: colônias vermelho-violeta rodeadas por halos estreitos halos de bile precipitada.

\*O valor de referência corresponde à vida de prateleira esperada quando preparados sob condições laboratoriais normais, seguindo as instruções do fabricante. É fornecido apenas como guia e sem garantia, expressa ou implícita associada com esta informação.

As informações fornecidas na embalagem procedem de formulações ou instruções descritas neste documento.

As informações e especificações contidas nesta ficha técnica datam de 31/07/2009.

Elas estão sujeitas a alterações a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: BK152/A/2003-01: 6.