



ÁGAR BILE VERMELHO VIOLETA GLICOSE (VRBG)

ENUMERAÇÃO E CONFIRMAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIA

USO

O Ágar VRBG (Agar Bile Vermelho Violeta Glicose) é usado para a detecção e enumeração de *Enterobacteriaceae* em laticínios, carnes, frios e outros alimentos. Este meio pode ser utilizado para a detecção de bactérias gram-negativas resistentes aos sais biliares, A fórmula padrão atende à composição definida nas normas NF EN ISO 21528-1, 21528-2 e NF V08-054.

PRINCÍPIOS

A presença simultânea de violeta cristal e sais biliares inibe as bactérias gram-positivas. A degradação da glicose em ácido, detectada pelo indicador de pH vermelho neutro (viragem para vermelho) e pela formação de uma zona de precipitação de sais biliares em torno das colônias.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

- Digestão enzimática de tecidos animais 7,0 g
- Extrato de levedura autolítica 3,0 g
- Glicose 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 13,0 g

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

PREPARAÇÃO

- Suspender 39,5 g de meio desidratado (BK011) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve o meio à fervura com agitação constante até completa dissolução.
- Não superaquecer e não esterilizar em autoclave.
- Resfriar o meio a 44-47°C.
- Usar dentro de 4 horas após a preparação.

Uso do meio pronto para liquefazer:

- Derreter o meio pronto (BM075) pelo tempo mínimo necessário para a liquefazer totalmente.
- Resfriar e manter o meio a 44-47°C.

- Reconstituição: 39,5 g/L
- Esterilização: Leve para ferver



- NOTA: O meio pode ser suplementado com MUG (4-metil-umbeliferil-β-D-glucuronídeo) para diferenciar *Escherichia coli* (consulte a ficha técnica do suplemento MUG 50 mg BS024).

INSTRUÇÃO DE USO

Enumeração de *Enterobacteriaceae* - Microbiologia de Alimentos (NF V08-054; NF ISO 21528-2):

- Transferir 1 mL da suspensão e suas diluições decimais sucessivas para placas de Petri estéreis.
- Distribuir 15 mL de meio por placa.
- Homogeneizar realizando movimento em 8 e deixar solidificar em superfície fria.
- Adicionar cerca de 5 mL de meio na placa novamente para formar uma segunda camada.
- Deixar solidificar.
- Incubar a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 horas.

- Semeando:
1 mL em camada dupla

- Incubação:
 24 ± 2 h a 37°C

Deteção de *Enterobacteriaceae* (NF EN ISO 21528-1)

- Distribuir o meio em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria.
- Inocular a amostra obtida do meio de enriquecimento em estrias.
- Incubar a 37°C por 24 ± 2 horas, de acordo com o padrão NF EN ISO 21528-1 ou por 18-24 horas a $30-35^\circ\text{C}$, de acordo com a Farmacopeia Europeia.

- Semeando:
Em superfície

- Incubação:
De acordo com o padrão

LEITURA

Enterobacteriaceae apresentam colônias roxas, circundadas ou não por um halo violeta.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó bege a levemente rosado e homogêneo.

Meio preparado: ágar avermelhado.

Resultado do cultivo após 24 horas de incubação a 37°C , Método por profundidade (NF EN ISO 11133):

Microrganismo	Crescimento (Relatório de produtividade: PR)	Característica
<i>Salmonella Typhimurium</i> WDCM 00031	$P_R \geq 50 \%$	Colônia vermelho-arroxeadas, com halo roxo
<i>Salmonella</i> <i>Enteritidis</i> WDCM 00030	$P_R \geq 50 \%$	Colônia vermelho-arroxeadas, com halo roxo
<i>Escherichia</i> <i>coli</i> WDCM 00012	$P_R \geq 50 \%$	Colônia vermelho-arroxeadas, com halo roxo
<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> WDCM 00087	Inibido	-



Resultado do cultivo após 18 horas de incubação a 30-35°C, inóculo $\leq 10^2$ microrganismos:

Microrganismos	Crescimento (Relatório de produtividade: PR)	Características
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	$P_R \geq 50 \%$	Colônias vermelho- arroxeadas, com halo roxo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> WDCM 00026	Bom	Colônias incolores a laranja

ARMAZENAMENTO / VALIDADE

Meio desidratado: 2-30°C.

Meio pronto para liquefazer: 2-8°C.

As datas de vencimento são mencionadas nas etiquetas.

Meio preparado em frascos (*): Não recomendado.

(*) Valor indicativo determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

APRESENTAÇÃO

Meio desidratado:

Frasco de 500 gBK011HA

Tambor de 5 kg.....BK011GC

Meio pronto para liquefazer:

Embalagem com 10 frascos de 200 mLBM07508

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Mossel, D.A.A., Mengerink, W.H.J., and Scholts, H.H. 1962. Use of a modified MacConkey agar medium for the selective growth and enumeration of all *Enterobacteriaceae*. J. Bact., 84: 381.

Mossel, D.A.A., Wisser, M., and Cornelissen, A.M.R. 1963. The examination of foods for *Enterobacteriaceae* using a test of the type generally adopted for the detection of *Salmonellae*. J. Appl. Bact., 24: 444-452.

NF V08-054. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des entérobactéries présumées par comptage des colonies obtenues à 30°C ou à 37°C.

NF EN ISO 21528-1. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale par la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* - Partie 1: recherche des *Enterobacteriaceae*.

NF EN ISO 21528-2. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire. Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae*. Partie 2: Méthode par comptage des colonies.



Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles: Recherche de microorganismes spécifiés.

OUTRAS INFORMAÇÕES

As declarações feitas nas etiquetas têm precedência sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: VRBG_FR_V13.

Data de criação: 11-2000

Data de revisão: 09-2019

Motivo da revisão: Correção do modo de preparação