

Agar Bilis y Rojo Violeta con Glucosa (VRBG) EP/USP/ISO

Cat. 1092

Para el cultivo y enumeración de Enterobacteriaceae.

Información práctica

| Aplicaciones | Categorías |
|--------------------|-----------------|
| Recuento selectivo | Enterobacterias |
| Detección | Enterobacterias |

Industria: Aguas de consumo / Farmacéutica/Veterinaria / Alimentación

Regulaciones: USP / ISO 11133 / Farmacopea Europea / ISO 21528

Principios y usos

Agar Bilis y Rojo Violeta con Glucosa (VRBG) es un medio selectivo, que contiene bilis y colorante rojo violeta, para el aislamiento y la enumeración de enterobacterias. Está basado en el Medio MacConkey (Cat. 1052) para la detección y enumeración de Enterobacteriaceae Gram-negativos tolerantes a la bilis en productos lácteos y alimentos. En este medio, la lactosa se reemplaza por glucosa como carbohidrato. El agar VRBG se está convirtiendo en el medio preferido para su uso en investigaciones sobre materias primas, alimentos procesados e higiene de plantas. El grupo Enterobacteriaceae incluye bacterias coliformes fermentadoras de lactosa y especies que no fermentan lactosa como Salmonella y Shigella.

El dígido pancreático de gelatina proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es la fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable que proporciona carbono y energía. Los fermentadores de glucosa forman colonias rojas en presencia del indicador de pH rojo neutro. Las sales biliares y el cristal violeta inhiben las bacterias Gram-positivas. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

La Farmacopea Europea, USP en el párrafo 2.6.13 "Microbiological examination of non-sterile products: test for specified microorganisms" recomienda este medio para la prueba de bacterias Gram-negativas tolerantes a la bilis en productos.

La norma ISO 21528 propone Agar VRBG para la detección y enumeración de Enterobacteriaceae.

El método de siembra en profundidad suprime el crecimiento de bacterias Gram-negativas no fermentadoras debido a sus condiciones semi-anaeróbicas. La fermentación de la glucosa también se estimula y da como resultado la formación de colonias rojo púrpura, claramente visibles, rodeadas por una zona del mismo color. Tener en cuenta que las coliformes fermentarán la glucosa y producirán ácido con o sin gas. Klebsiella y Citrobacter, que son más resistentes al calor que los coliformes, también crecen en este medio y pueden indicar un defecto en el proceso de producción (calentamiento insuficiente).

Fórmula en g/L

| | | | |
|-----------------------|-------|--------------------------------|------|
| Agar bacteriológico | 15 | Sales biliares | 1,5 |
| Cristal violeta | 0,002 | Dígido pancreático de gelatina | 7 |
| Glucosa monohidratado | 10 | Rojo neutro | 0,03 |
| Cloruro sódico | 5 | Extracto de levadura | 3 |

Preparación

Suspender 41,5 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta disolver completamente. Enfriar a 47-50 °C y dispensar inmediatamente. NO SOBRECALENTAR.

Instrucciones de uso

Para la prueba de microorganismos específicos (bacterias Gram-negativas tolerantes a la bilis) de acuerdo con la Farmacopea Europea:

- Preparar la muestra utilizando una dilución 1:10 de no menos de 1 g de producto en Caldo de Soja Trypticaséina (TSB) (Cat. 1224) e incubar a 20-25 °C durante 2-5 horas.
- Para la prueba de ausencia, usar la dilución hecha previamente correspondiente a 1 g de producto para inocular en Caldo EE Mossel (Cat. 1202) e incubar a 30-35 °C durante 24-48 horas.
- Subcultivar en placas de Agar Bilis y Rojo Violeta con Glucosa (VRBG) e incubar a 30-35 °C durante 18-24 horas. El producto cumple con la prueba si

no hay crecimiento de colonias.

- Para la prueba cuantitativa, usar la dilución hecha previamente correspondiente a 0,1, 0,01 y 0,001 g del producto para inocular en el caldo Mossel EE (Cat. 1202) e incubar a 30-35°C durante 24-48 horas.

- Subcultivar en placas de Agar Bilis y Rojo Violeta con Glucosa (VRBG) e incubar a 30-35 °C durante 18-24 horas.

- El crecimiento de colonias indica un resultado positivo.

De acuerdo con ISO 21528 para la detección y enumeración de Enterobacteriaceae:

- Inocular Agua peptonada tamponada (BPW) (Cat. 1402) con la porción a ensayar e incubar a 37 °C durante 48 horas.

- Inocular el Agar bilis y rojo violeta (VRBG) con el cultivo obtenido después del enriquecimiento en BPW, luego incubar a 37 °C durante 24 horas.

- Las colonias típicas de Enterobacteriaceae presuntivas deben subcultivarse en medio no selectivo, y confirmar mediante pruebas para la fermentación de glucosa y la presencia de oxidasa.

Control de calidad

| Solubilidad | Apariencia | Color del medio deshidratado | Color del medio preparado | Final pH (25°C) |
|-------------|------------|------------------------------|---------------------------|-----------------|
| Sin restos | Polvo fino | Beige rojizo | Rojo violeta | 7,4 ± 0,2 |

Test microbiológico

De acuerdo con Farmacopea; Escherichia coli ATCC 8739 y Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027:

Condiciones de incubación: (30-35 °C / 18-24 h)

Condiciones de inoculación: (<= 100 CFU)

De acuerdo con ISO 11133; Escherichia coli ATCC 8739, Escherichia coli ATCC 25922, Salmonella STM ATCC 14028 y Enterococcus faecalis ATCC 29212:

Condiciones de incubación: Productividad y Selectividad (37±1 °C / 24±2 h)

Condiciones de inoculación: Productividad cuantitativa (100±20. Min.50 CFU) / Productividad cualitativa (10³-10⁴ CFU) / Selectividad (10⁴-10⁶ CFU).

Medio de referencia: TSA.

| Microrganismos | Especificación | Reacción característica |
|-----------------------------------|-----------------------|---|
| Salmonella typhimurium ATCC 14028 | Buen crecimiento >50% | Colonias de color rosa a rojo con o sin halo de precipitación |
| Escherichia coli ATCC 25922 | Buen crecimiento >50% | Colonias de color rosa a rojo con o sin halo de precipitación |
| Enterococcus faecalis ATCC 29212 | Inhibición total | |
| Escherichia coli ATCC 8739 | Buen crecimiento >50% | Colonias de color rosa a rojo con o sin halo de precipitación |
| Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 | Buen crecimiento | |

Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C

Temp. Max.:25 °C

Bibliografía

D.A. Mossel, (1985) Media for Enterobacteriaceae (Inst. J. Food Microbiol 2:27).

ISO 21528. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae.

ISO 7402 Microbiology -- General guidance for the enumeration of Enterobacteriaceae without resuscitation -- MPN technique and colony-count technique.

ISO 8523 Microbiology -- General guidance for the detection of Enterobacteriaceae with pre-enrichment.

European Pharmacopoeia 9.3