

Agar Bilis Rojo Violeta con Lactosa (VRBL) ISO

Cat. 1093

Medio selectivo para la detección y enumeración de coliformes en productos lácteos, agua y alimentos.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Recuento selectivo	Coliformes

Industria: Aguas de consumo / Alimentación / Productos lácteos

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 4832

Principios y usos

Agar Bilis Rojo Violeta con Lactosa (VRBL), que contiene bilis y colorante rojo violeta, se basa en el Agar MacConkey (Cat. 1052) para la detección y enumeración de bacterias que fermentan la lactosa, y la diferenciación de coliformes o grupo Coli-aerogenes, de los organismos no fermentadores de lactosa en productos lácteos, agua y alimentos.

La peptona proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es una fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. La lactosa es el carbohidrato fermentable que proporciona carbono y energía. Las sales biliares y el cristal violeta inhiben las bacterias Gram-positivas. El rojo neutro es un indicador de pH. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Es conveniente usar el método de vertido de placa.

Los fermentadores de lactosa forman colonias rojas con halos rojo-púrpura. Ocasionalmente, los cocos del tracto intestinal pueden desarrollarse como pequeñas colonias rojas puntiformes.

Las colonias rojas purpúreas con un diámetro de al menos (a veces rodeadas por una zona rojiza de bilis precipitada) se consideran colonias típicas de coliformes y no requieren confirmación adicional.

Las colonias atípicas (por ejemplo, de menor tamaño) y todas las colonias derivadas de productos lácteos que contienen azúcares distintos de lactosa pueden dar como resultado colonias con una apariencia similar a los coliformes típicos. Estas colonias deben confirmarse en tubos de Caldo Bilis Verde Brillante (Cat 1228).

Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	15	Sales biliares	1,5
Cristal violeta	0,002	Rojo neutro	0,03
Cloruro sódico	5	Extracto de levadura	3
Digerido enzimático de tejido animal	7	Lactosa monohidrato	10

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. NO SOBRECIENTAR. Enfriar a 44-47 °C y usar de inmediato.

Instrucciones de uso

Para la enumeración de coliformes de acuerdo a ISO 4832:

- Se recomienda la preparación de dos placas para el producto líquido y/o de cada dilución elegida.
- Con una pipeta estéril, transferir 1 ml de producto líquido o las diluciones apropiadas al centro de cada placa. Usar otra pipeta estéril para inocular cada dilución en las placas.
- Vertir aproximadamente 15 ml de medio VRBL, enfriado a 44 °C a 47 °C, en cada placa de Petri. El tiempo transcurrido entre el final de la preparación de la suspensión inicial (o de la dilución 10-1 si el producto es líquido) y el momento en que se vierte el medio en las placas no debe exceder los 15 min.
- Mezclar cuidadosamente el inóculo con el medio y permitir que la mezcla se solidifique con las placas de Petri sobre una superficie horizontal.
- También preparar una placa de control con el medio para verificar su esterilidad.
- Después de la solidificación completa, vertir aproximadamente 4 ml de medio VRBL, a 44 °C a 47 °C, sobre la superficie del medio inoculado. Permitir

solidificar como se describe arriba.

- Invertir las placas preparadas e incubarlas a 30 o 37 °C (según lo acordado) durante 24±2 h.

- Para confirmar las colonias presuntivas de coliformes, inocular cinco colonias de cada tipo atípico, en tubos de Caldo Bilis Verde Brillante (Cat. 1228).

- Incubar los tubos en la incubadora a 30 °C o 37 °C (según lo acordado) durante 24±2 horas.

- Considerar como colonias coliformes las que muestran la formación de gas en el tubo Durham.

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 a ISO 11133:

Condiciones de incubación: Productividad, Especificidad, Selectividad (24±2 h/ 30±1 °C).

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

Medio referencia: TSA

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Escherichia coli ATCC 25922	Buen crecimiento >50%	Colonias de color violeta-rojo con o sin halo de precipitación
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853		Colonias de incoloras a beige
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Inhibición total (0)	

Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C

Temp. Max.:25 °C

Bibliografía

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).