

Agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou (VRBL)

Selektivní médium pro detekci a stanovení počtu koliformních bakterií v mléčných výrobcích, vodě a potravinách.

Cat. 1093

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní výčet	Koliformní bakterie
Průmysl: Voda / Potraviny / Mléčné výrobky	
Předpisy: ISO 11133 / ISO 4832 / BAM	



Principy a použití

VRBL Agar, obsahující žlučové soli a indikátory krystalovou violet a neutrální červen, je založen na MacConkey Agar (LC1052) pro detekci a stanovení počtu bakterií fermentujících laktózu a odlišení koliformních bakterií nebo skupiny *Coliaerogenes* od organismů nefermentujících laktózu v mléčných výrobcích, vodě a potravinách.

Pepton poskytuje dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Kvasničný extrakt je zdrojem vitaminů, zejména skupiny B. Laktóza je zkvasitelný sacharid poskytující uhlík a energii. Žlučové soli a krystalová violet inhibují grampozitivní bakterie. Neutrální červen je indikátorem pH. Chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu. Bakteriologický agar je zpevňující činidlo.

Je výhodné použít metodu nalévání ploten.

Mikroorganismy fermentující laktózu tvoří červené kolonie s červenofialovou aureolou. Příležitostně se mohou koky střevního traktu vyvíjet jako malé, bodové červené kolonie.

Purpurově červené kolonie o průměru nejméně (někdy obklopené načervenalou zónou vysrážené žluči) se považují za typické kolonie koliformních bakterií a nevyžadují další potvrzení.

Atypické kolonie (např. menší velikosti) a všechny kolonie pocházející z mléčných výrobků, které obsahují i jiné cukry než laktózu, mohou mít za následek kolonie, které se svým vzhledem podobají typickým koliformním bakteriím. Tyto kolonie by měly být potvrzeny ve zkumavkách s bujónem Brilliant Green Bile Broth (LC1228).

Složení v g/l

Bakteriologický agar	15	Žlučové soli	1,5
Krystalová violet	0,002	Neutrální červen	0,03
Chlorid sodný	5	Kvasničný extrakt	3
Enzymatický digesát živočišných tkání	7	Monohydrát laktózy	10

Příprava

Suspendujte 41,5 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. **NEPŘEHŘÍVEJTE**. Ochladte na 44-47 °C a ihned použijte.

Návod k použití

Pro stanovení počtu koliformních bakterií podle normy ISO 4832:

- Doporučuje se připravit dvě misky pro tekutý přípravek a/nebo z každého zvoleného ředění.
- Sterilní pipetou přeneste do středu každé misky 1 ml tekutého přípravku nebo příslušného ředění. Pomocí další sterilní pipety naočkejte každé ředění do misek.

- Do každé Petriho misky nalijte asi 15 ml média VRBL o teplotě 44 °C až 47 °C. Doba, která uplyne mezi koncem přípravy počáteční suspenze (nebo ředění 10⁻¹, je-li přípravek tekutý) a okamžikem nalití média do misek, by neměla přesáhnout 15 min.
- Opatrně smíchejte inokulum s médiem a nechte směs ztuhnout, přičemž Petriho misky postavte na chladný vodorovný povrch.
- Připravte si také kontrolní destičku s médiem pro kontrolu jeho sterility.
- Po úplném ztuhnutí nalijte na povrch inokulovaného média asi 4 ml média VRBL o teplotě 44 °C až 47 °C. Nechte ztuhnout, jak je popsáno výše.
- Připravené misky se obrátí a inkubují se v inkubátoru nastaveném na 30 °C nebo 37 °C (podle dohody) po dobu 24 ± 2 hodin.
- Pro potvrzení předpokládaných kolonií koliformních bakterií naočkujte pět kolonií každého atypického typu, pokud jsou k dispozici, do zkumavek s bujónem s Brilliant Green Bile Broth (LC1228).
- Inkubujte zkumavky v inkubátoru nastaveném na 30 °C nebo 37 °C (podle dohody) po dobu 24 ± 2 hodin.
- Za koliformní bakterie považujte kolonie, které vykazují tvorbu plynu v Durhamově zkumavce.

Kontrola kvality

Rozpuštnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytků	Jemný prášek	Béžová načervenalá	Fialovo-červené	7,4 ± 0,2

Mikrobiologický test

Podle normy ISO 11133:

Inkubační podmínky: Produktivita, specifita, selektivita (24±2 h/ 30±1 °C).

Podmínky inokulace: Min. 50 CFU) / Selektivita (10⁴-10⁶ CFU) / Specifičnost (10³-10⁴ CFU). Referenční média: TSA

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dobry růst >50 %	Purpurově červené kolonie se srážecím halo nebo bez něj
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853		Bezbarvé až béžové kolonie
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Celková inhibice (0)	

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

ISO 4832. Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu koliformních bakterií - Technika počítání kolonií.

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).