

ÁGAR VRB – VIOLET RED BILE AGAR (7165)

Uso Previsto

O **Ágar VRB** é utilizado para a contagem de coliformes em alimentos e produtos lácteos conforme a Associação Americana de Saúde Pública (American Public Health Association, APHA, por sua sigla em inglês).

Sumário e Explicação do Produto

O grupo dos coliformes incluem os bacilos aeróbios e anaeróbios facultativos, Gram-negativos não formadores de esporos. Os coliformes fermentam lactose e formam ácido e gás a 35°C dentro de 48 horas. Membros da família *Enterobacteriaceae* incluem a maioria do grupo, porém outros organismos fermentadores de lactose podem ser incluídos.

Procedimentos para a detecção, contagem e identificação presuntiva de coliformes são utilizados para testes em alimentos e produtos lácteos.¹⁻³ Um método utiliza o Ágar VRB no teste presuntivo para coliformes. No caso de aparecimento de colônias típicas de coliformes, essas passam por testes adicionais para confirmar a identificação dos coliformes. As colônias de coliformes diminuem o pH do meio, causando subsequentemente uma coloração vermelha das mesmas (Corante Vermelho Neutro) e a precipitação dos sais biliares.

Princípios do Procedimento

A Digestão Enzimática de Gelatina é a fonte de carbono, nitrogênio, vitaminas e minerais no Ágar VRB. O Extrato de Levedura fornece vitaminas do complexo B que estimulam o crescimento bacteriano. A Mistura de Sais Biliares e Cristal Violeta inibem a maioria das bactérias Gram-positivas. A Lactose é a fonte de carboidrato. O Vermelho Neutro é o indicador de pH. O ágar é o agente solidificante.

Fórmula / Litro

Extrato de Levedura.....	3 g
Digestão Enzimática de Gelatina.....	7 g
Mistura de Sais Biliares	1,5 g
Lactose	10 g
Cloreto de Sódio	5 g
Vermelho Neutro.....	0,03 g
Cristal Violeta.....	0,002 g
Ágar	15 g

pH Final: 7,4 ± 0,2 a 25°C

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

Precauções

1. Somente para o uso em laboratório.
2. IRRITANTE. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele.

Modo de Preparo

1. Suspenda 41,5 g do meio em 1 L de água purificada.
2. Aqueça, agitando frequentemente e ferva por 2 minutos. NÃO AUTOCLAVE.
3. Resfrie o meio a 45 - 46°C e dispense 15 - 20 mL em placas de Petri de 100 mm contendo o inóculo.
4. Após a solidificação do meio inoculado, adicione uniformemente uma sobrecamada de 4 mL do meio resfriado (45 -46°C).

Especificações de Controle de Qualidade

Aparência Desidratado: O pó é homogêneo, fluxo livre e bege a bege avermelhado.

Aparência Preparado: O meio preparado é ligeiramente turvo e de cor roxa avermelhada.

Resposta Esperada de Cultivo: Resposta de cultivo no Ágar VRB incubado aerobiamente a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e examinado para crescimento após 18 - 24 horas.

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (UFC)	Resultados Esperados	
		Crescimento	Reação
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC® 13048	10 - 300	Regular a bom	Colônias rosas
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	10^3	Inibido	----
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	10 - 300	Bom a excelente	Colônias rosas a vermelhas com precipitado de bile
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	10 - 300	Regular a bom	Colônias incolores

Os organismos listados são os mínimos que devem ser avaliados para teste de controle de qualidade.

Procedimento do Teste

Teste presuntivo para coliformes utilizando meio sólido:

1. Transfira uma alíquota de 1 mL da amostra para uma placa de Petri.
2. Adicione 10 mL do Ágar VRB (a 48°C) e misture com movimentos circulares.
3. Deixe o meio solidificar antes de incubar a 35°C por 18 - 24 horas; use 32°C para produtos lácteos.
4. Examine para colônias rosas avermelhadas, 0,5 mm em diâmetro (ou maior), rodeadas por uma zona de ácidos biliares precipitados. Continue com testes confirmatórios para as colônias típicas dos organismos.¹⁻³

Resultados

Os fermentadores de lactose são roxo avermelhados com ou sem uma zona de precipitados ao redor da colônia. As colônias de organismos não fermentadores de lactose são incolores a transparente. Coccus Gram-positivos são incolores, colônias localizadas.

Armazenamento

Armazene o frasco contendo o meio desidratado devidamente fechado entre $2 - 30^\circ\text{C}$. Uma vez aberto e fechado novamente, coloque o frasco em um ambiente de baixa umidade e na mesma temperatura de armazenamento. Proteja contra a umidade e luz mantendo o frasco firmemente fechado.

Validade

Refira-se à data de validade no frasco. O meio desidratado deve ser descartado se não fluir livremente ou se houver mudança na coloração original. A validade se aplica ao meio em sua embalagem intacta quando armazenado como indicado.

Limitações do Procedimento

1. Devido à variação nutricional, algumas cepas podem apresentar um crescimento fraco ou ausência de crescimento neste meio.
2. O Ágar VRB pode não inibir por completo os organismos Gram-positivos e permitem o crescimento de bacilos Gram-negativos além dos membros da família *Enterobacteriaceae*. Faça uma coloração de Gram e testes bioquímicos para identificar os isolados.
3. A ebulição do meio por um tempo maior do que 2 minutos pode diminuir a habilidade de crescimento.

Embalagem

Ágar VRB	N° Código	7165A	500 g
		7165B	2 kg
		7165C	10 kg

Referências

1. **Marshall, R. T. (ed.)**. 1993. Standard methods for the examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
2. **Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (eds.)**. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
3. **www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalmanualBAM/default.htm**.

Informação Técnica

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.

Contate a Acumedia Manufacturers, Inc. para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone +1 (517)372-9200 ou fax +1 (517)372-2006.