

# Agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a glukózou

Pro kultivaci a kvantifikaci bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*.

Kat. 1092

## Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní výčet	Enterobakterie
Detekce	Enterobakterie

Oblast použití: Farmacie / Veterinářství / Potravinářství / Kontrola kvality

Předpisy: USP / ISO 11133 / Evropský lékopis / ISO 21528



## Principy a použití

Violet Red Bile Agar with Glucose (VRBG) je selektivní médium obsahující žluč a fialově červené barvivo pro izolaci a stanovení počtu enterobakterií. Je založeno na MacConkeyho médiu (LC1052) pro detekci a stanovení počtu gramnegativních enterobakterií tolerujících žluč v mléčných výrobcích a potravinách. V tomto médiu je laktóza jako sacharid nahrazena glukózou. Agar VRBG se stává preferovaným médiem pro použití při vyšetřování surovin, zpracovaných potravin a hygieny rostlin. Do skupiny *Enterobacteriaceae* patří koliformní bakterie fermentující laktózu a druhy nefermentující laktózu, jako jsou *Salmonella* a *Shigella*.

Pankreatický digesát želatiny poskytuje dusík, vitaminy, minerální látky a aminokyseliny nezbytné pro růst. Kvasničný extrakt je zdrojem vitamínů, zejména skupiny B. Glukóza je zkvasitelný sacharid poskytující uhlík a energii. Glukózové fermentory tvoří červené kolonie v přítomnosti pH indikátoru neutrální červeně. Žlučové soli a krystalová violet inhibují grampozitivní bakterie. Chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu. Bakteriologický agar je zpevňující činidlo.

Evropský lékopis USP v odstavci 2.6.13: "Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků: zkouška na přítomnost specifikovaných mikroorganismů" doporučuje toto médium pro zkoušení žlučotolerantních gramnegativních bakterií ve výrobcích.

Norma ISO 21528 navrhuje VRBG Agar pro detekci a stanovení počtu *Enterobacteriaceae*.

Metoda nalitých desek potlačuje růst gramnegativních nefermentujících bakterií díky svým semi-anaerobním podmínkám. Stejně tak je stimulována fermentace glukózy, což vede k tvorbě jasně viditelných fialově červených kolonií obklopených zónou stejné barvy. Všimněte si, že koliformní bakterie fermentují glukózu a produkují kyselinu s plynem nebo bez něj. *Klebsiella* a *Citrobacter*, které jsou více tepelně rezistentní než koliformní bakterie, rostou také v tomto médiu a mohou indikovat vadu výrobního procesu (nedostatečný ohřev).

## Složení v g/l

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

## 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. Ochlaďte na teplotu 47-50 °C a ihned dávkujte. **NEPŘEHŘÍVEJTE.**

## Návod k použití

Pro testování specifikovaných mikroorganismů (gramnegativní bakterie tolerující žluč) podle Evropského lékopisu:

- Připravte vzorek ředěním nejméně 1 g produktu v poměru 1:10 v trypticaseinovém sójovém bujónu (TSB) (LC1224) a inkubujte při teplotě 20-25 °C po dobu 1 hodiny.

- 2-5 hodin.
- Pro test nepřítomnosti použijte dříve provedené ředění odpovídající 1 g produktu k naočkování do Mossel EE bujónu (LC1202) a inkubujte při teplotě 30-35 °C po dobu 24-48 hodin.
  - Subkultivujte na plotnách Violet Red Bile Agar with Glucose (VRBG) a inkubujte při 30-35 °C po dobu 18-24 hodin. Výrobek vyhovuje testu, pokud nedochází k růstu kolonií.
  - Pro kvantitativní test použijte dříve provedené ředění odpovídající 0,1, 0,01 a 0,001 g produktu k inokulaci do Mossel EE bujónu (LC1202) a inkubujte při 30-35 °C po dobu 24-48 hodin.
  - Subkultivujte na plotnách Violet Red Bile Agar with Glucose (VRBG) a inkubujte při 30-35 °C po dobu 18-24 hodin.
  - Růst kolonií představuje pozitivní výsledek.

Podle normy ISO 21528 pro detekci a stanovení počtu *Enterobacteriaceae*:

- Naočkejte pufrovanou peptonovou vodu (BPW) (LC1402) testovanou částí a inkubujte 48 hodin při 37 °C.
- Naočkejte Violet Red Bile Agar With Glucose (VRBG) kulturou získanou po obohacení v BPW a inkubujte při 37 °C po dobu 24 hodin.
- Typické předpokládané kolonie *Enterobacteriaceae* by měly být subkultivovány na neselektivním médiu a potvrzeny testy na fermentaci glukózy a přítomnost oxidázy.

## Kontrola kvality

Rozpustnost	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 lékopisu: *Escherichia coli* ATCC 8739 a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027:

Inkubační podmínky: (30-35 °C / 18-24 h) Inokulační podmínky: (<=100 CFU)

Podle ISO 11133: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* STM ATCC 14028 a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212:

Inkubační podmínky: Produktivita a selektivita (37±1 °C/ 24±2 h)

Podmínky očkovaní: 50 CFU) / Produktivita kvalitativní (10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU) / Selektivita (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU). Referenční média: TSA.

Mikroorganismus	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Dobrý růst >50 %	Růžové až červené kolonie se srážecí aureolou nebo bez ní
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dobrý růst >50 %	Růžové až červené kolonie s precipitačním halo nebo bez něj
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Celková inhibice	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Dobrý růst >50 %	Růžové až červené kolonie s precipitačním halo nebo bez něj
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Dobrý růst	

## Skladování

Teplota. Min.: 2 °C

Teplota. Max.: 25 °C

## Bibliografie

D.A. Mossel, (1985) Média pro *Enterobacteriaceae* (Inst. J. Food Microbiol 2:27).

ISO 21528. Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metody detekce a stanovení počtu *Enterobacteriaceae*.

ISO 7402 Mikrobiologie - Obecné pokyny pro stanovení počtu *Enterobacteriaceae* bez resuscitace - Technika MPN a technika počítání kolonií.

ISO 8523 Mikrobiologie -- Obecné pokyny pro detekci *Enterobacteriaceae* s předběžným obohacením. Evropský

lékopis 9.3