

## VIOLET RED BILE AGAR

Terreno selettivo e differenziale in polvere, pronto all'uso in piastra e flacone per l'isolamento ed il conteggio dei coliformi negli alimenti

### FORMULA TIPICA (g/l)

Peptone	7.000
Estratto di lievito	3.000
Sali biliari n. 3	1.500
Lattosio	10.000
Sodio cloruro	5.000
Rosso neutro	0.030
Violetto cristallo	0.002
Agar	15.00

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 41.5 g di polvere in 1000 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione; raffreddare in bagnomaria a circa 45°C e trasferire in piastre Petri inoculate.

Dopo solidificazione aggiungere uno strato di terreno di copertura per impedire la crescita microbica in superficie e lo sciamare delle colonie. L'autoclavatura non è necessaria.

pH finale 7.4 ± 0.2.

### DESCRIZIONE

Violet Red Bile Agar è un terreno selettivo e differenziale indicato per l'isolamento ed il conteggio dei coliformi negli alimenti, nel latte e nei prodotti lattiero-caseari. Il terreno è proposto da ICMSF e da APHA per la determinazione, con il metodo in piastra, dei coliformi negli alimenti. Violet Red Bile Agar contiene sali biliari n. 3 e cristal violetto che inibiscono la crescita dei batteri Gram positivi; il rosso neutro permette di distinguere i microrganismi lattosio fermentanti da quelli lattosio non fermentanti. La fermentazione del lattosio provoca un'acidificazione del mezzo con conseguente viraggio dell'indicatore verso il rosso-viola e la precipitazione dei sali biliari.

### IMPIEGO

Il metodo del conteggio diretto dei coliformi in piastra è proposto da ICMSF come tecnica di screening, non applicabile comunque a campioni in cui si sospetta la presenza di bassi livelli di contaminazione batterica. Per tali campioni è consigliabile l'impiego dei terreni liquidi.

Per il conteggio presuntivo dei coliformi trasferire 1 ml di campione in piastre Petri e aggiungere 10-15 ml di terreno a 45°C; dopo aver mescolato l'inoculo, lasciar solidificare e aggiungere uno strato di terreno di 3-4 mm per impedire la crescita delle colonie in superficie.

Dopo incubazione per 24 ore a 35°C i coliformi coltivano su Violet Red Bile Agar con colonie rosso scuro di 0.5 mm di diametro; le colonie con dette caratteristiche devono essere poi sottoposte ad un test di conferma in Brilliant Green Bile Broth 2%.

Nella tabella sottostante sono indicate le caratteristiche colturali di alcuni microrganismi su Violet Red Bile Agar.

Microrganismo	Crescita	Caratteristiche colturali
<i>Escherichia coli</i>	buona	viola con alone di precipitazione
<i>Enterobacter aerogenes</i>	buona	rosse
<i>Proteus mirabilis</i>	buona	prive di colore
<i>Staphylococcus aureus</i>	inibito	-

### CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo produttività:

*E.coli* ATCC 25922: crescita con colonie viola circondate da un alone opaco rosso-viola

*P.mirabilis* ATCC 12453: crescita con colonie incolori non sciamate

*S.typhimurium* ATCC 14028: crescita con colonie incolori

Controllo selettività

*E. faecalis* ATCC 19433: inibito

Incubazione: 24 h a 37°C

### CONSERVAZIONE

**Terreno in polvere:** conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni. Violet Red Bile Agar, è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.) Conservare le piastre preparate in laboratorio per un massimo di 15 giorni a 2-8°C

**Terreno pronto all'uso in flacone ed in piastra:** conservare a 2-8°C al riparo della luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

### PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

**Terreno in polvere:** Violet Red Bile Agar non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente ma contiene sali biliari (classificabili come Xi irritanti) ad una concentrazione >1% e come tale richiede la scheda di sicurezza, che deve essere consultata prima dell'uso. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione del Violet Red Bile Agar deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

**Terreno pronto all'uso in flacone ed in piastra :** i preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni ≥1%.

I preparati qui descritti devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

### BIBLIOGRAFIA

- APHA (1985) - Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 2nd Edition.
- ICMSF (1978) - Microorganisms in Foods: their Significance and Methods of Enumeration. 2nd Edition.

### CONFEZIONI

Terreno in polvere

<b>4021851</b>	<b>Violet Red Bile Agar,</b>	100 g (2.4 l)
<b>4021852</b>	<b>Violet Red Bile Agar,</b>	500 g (12 l)
<b>4021854</b>	<b>Violet Red Bile Agar,</b>	5 kg g (120 l)

Terreni pronti all'uso

<b>5121852</b>	<b>Violet Red Bile Agar,</b>	6 flaconi da 100 ml pronti per l'uso
<b>5121852</b>	<b>Violet Red Bile Agar,</b>	6 flaconi da 200 ml pronti per l'uso
<b>542185</b>	<b>Violet Red Bile Agar,</b>	20 piastre