

VRBG/Gélose (Violet - Red - Bile - Glucose)

355-4239 / 356-4584

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries dans les produits alimentaires.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF V 08-054 (Février 1999)** : Microbiologie des aliments – Dénombrement des Entérobactéries par comptage des colonies à 30 °C - Méthode de routine (IC : V 08-054).

• **NF ISO 21528-1 (Décembre 2004)** : Microbiologie des aliments - Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* - Partie 1 : Recherche et dénombrement à l'aide de la technique NPP avec pré-enrichissement.

• **NF ISO 21528-2 (Décembre 2004)** : Microbiologie des aliments – Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* - Partie 2 : Méthode par comptage des colonies.

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des *Enterobacteriaceae* à fermenter le glucose.

Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram positives et de certaines bactéries Gram négatives par la présence simultanée du cristal violet et des sels biliaires. Le rouge neutre est un indicateur de pH.

PRESENTATION

• **Prêt à l'emploi**
100 ml x 6 flacons

code 355-4239

• **Déshydraté**
500 g

code 356-4584

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 2 - 8 °C.
- Déshydraté : + 15 - 25 °C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Peptone	7 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Sels biliaires	1,5 g
Glucose	10 g
Rouge neutre	30 mg
Cristal violet	2 mg
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 7,4 ± 0,2	

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 125 ml en Pyrex
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (1 ml,....)
- Bain-marie avec une précision de ± 1 °C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Mettre 38 g de poudre dans 1 litre d'eau distillée, préalablement portée à 100 °C pendant 10 minutes, puis ramenée à la température du laboratoire. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à complète dissolution. Répartir ce milieu peut être utilisé dès sa préparation.

Ne pas autoclaver.

Conservé le flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.

Taux de reconstitution : 38 g/l.

500 grammes de poudre permettent de réaliser 13,15 litres de milieu.

VRBG/Gélose

(Violet - Red - Bile - Glucose)

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

- Inoculer 1 ml du produit à analyser ou de ses dilutions décimales dans des boîtes de Petri stériles.

- Couler environ 15 ml de milieu fondu, refroidi à 44 - 47 °C, homogénéiser et laisser solidifier.

- Couler une seconde couche (environ 2 mm d'épaisseur) de ce milieu maintenu à 44 - 47 °C et laisser refroidir à nouveau.

- Incuber à (30 °C, 35 °C ou 37 °C) ± 1 °C pendant 24 h ± 2 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

Après 24 heures d'incubation, dénombrer les colonies typiques *Enterobacteriaceae* sur des boîtes comprenant entre 15 et 150 colonies.

Les *Enterobacteriaceae* forment des colonies roses-rouge (Glucose +) ayant un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm avec ou sans zone de précipitation de la bile.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la solution mère (ou de la dilution 10⁻¹ dans le cas d'un produit solide) et le moment où les dilutions entrent en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 15 minutes.

- Ne pas autoclaver

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Culture des micro-organismes en 24H à 37 °C		
	Fermentation du glucose	Diamètre	PR*
Productivité			
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Positive. Colonies roses à rouges avec ou sans halo de précipitation.	≥ 0.5 mm	≥ 0.5
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	Positive. Colonies roses à rouges avec ou sans halo de précipitation.	≥ 0.5 mm	≥ 0.5
Sélectivité			
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Pas de croissance		

*PR = Nombre total de colonies obtenu sur 2 boîtes de milieu V.R.B.G./ Nombre total de colonies obtenu sur 2 boîtes de milieu T.C.S. gélose

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

V.R.B.G. / *Enterobacteriaceae* / Produits alimentaires / Recherche / Dénombrement / Cristal Violet / Sels biliaires / Glucose / Fermentation / NPP / Milieu.

BIBLIOGRAPHIE

• **MOSSEL D.A.A., MENDERINK W.H.J. and SCHOLTS H.H. (1962):** Use of a modified Mac Conkey agar medium for the selective growth and enumeration of all *Enterobacteriaceae*. Journal of Bacteriology 84: 381.