

V.R.B.L./Gélose (Violet Red Bile Lactose)

355-4799
356-4594

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants dans les produits alimentaires.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

• MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

• **NF ISO 4832 (Juillet 2006)** : Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes - Méthode par comptage des colonies (IC : V08-015).

• **NF V 08-050 (Février 1999)** : Microbiologie des aliments - Dénombrement des coliformes par comptage des colonies obtenues à 30 °C - Méthode de routine (IC : V 08-050).

• **NF V 08-060 (Mars 1996)** : Microbiologie des aliments - Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44 °C - Méthode de routine (IC: V 08-060).

• **NF V 08-301 (Juin 1983)** : Microbiologie alimentaire - Produits déshydratés - Examen microbiologique (se référer aux normes NF ISO 4832 et NF V 08-017) (IC : V08-301).

• **FIL 73A (1985)** : Lait et produits laitiers - Dénombrement des coliformes - Technique par comptage des colonies et technique du nombre le plus probable à 30 °C.

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des coliformes à fermenter le lactose. 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 355-4799

• Déshydraté

500 g

code 356-4594

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
Lactose	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))

- Diluant(s)
- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Agitateur type Vortex
- Flacons de 125 ml en Pyrex
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (0,1 ml, 1 ml,....)
- Pipettes Pasteur stériles (**code 355-0751**) ou ôse bouclée
- Etaleurs stériles
- Bains-marie avec une précision de ± 1 °C
- Etuves ou enceintes thermostatées avec une précision de ± 1 °C
- Tout matériel courant d'un laboratoire

V.R.B.L./Gélose

(Violet Red Bile Lactose)

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation

Dissoudre 38 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes.

Mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Ajuster si nécessaire le pH à $7,4 \pm 0,2$. Répartir. Eviter la surchauffe du milieu, un chauffage trop prolongé ou des chauffages répétés. En conséquence, **ne pas stériliser à l'autoclave** et contrôler la stérilité du milieu au moment de l'emploi.

Taux de reconstitution : 38 g/l.

500 grammes de poudre permettent de réaliser 13,1 litres de milieu.

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 du milieu préalablement fondu et refroidi à 44°C à 47°C.

Bien homogénéiser, laisser refroidir sur une surface fraîche et parfaitement horizontale.

Couler une seconde couche (environ 4 ml) de ce milieu maintenu à 44°C à 47°C et laisser solidifier à nouveau.

Après solidification parfaite, retourner les boîtes et incuber dans cette position à :

- (30°C, 35°C ou 37°C) $\pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 h ± 2 h pour la recherche et le dénombrement des coliformes.

Et/ou

- 44°C $\pm 1^\circ\text{C}$ pendant 24 h ± 2 h pour la recherche et le dénombrement des coliformes thermotolérants.

LECTURE ET INTERPRETATION

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

Les coliformes forment des colonies roses rouge (Lactose +) 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 sont 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 30 °C	
Productivité		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Fermentation du lactose	Positive. Colonies roses à rouges avec ou sans halo de précipitation.
	Diamètre	≥ 0.5 mm
	PR*	≥ 0.5
Spécificité		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Fermentation du lactose	Negative. Colonies incolores à beiges.
	Croissance	Bonne croissance
Sélectivité		
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Croissance	Pas de croissance

*PR = Nombre total de colonies obtenu sur 2 boîtes de milieu V.R.B.L./ 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.

V.R.B.L./Gélose

(Violet Red Bile Lactose)

MOTS CLES

V.R.B.L. / Coliformes / Produits alimentaires /
Dénombrement / Cristal Violet / Sels Biliaires /
Lactose / Fermentation / NPP / Milieu.

BIBLIOGRAPHIE

• **American Public Health Association (1978):**
Standard methods for the examination of dairy
products. 14th Edn. APHA Inc. Washington DC.