



## CALDO DE ENRIQUECIMENTO PARA ENTEROBACTERIA (EE)

### ENRIQUECIMENTO SELETIVO PARA ENTEROBACTÉRIAS

#### USO

O Caldo EE, é um caldo tamponado com bile, verde brilhante e glicose, proposto por Mossel. É um meio de enriquecimento seletivo para a enumeração pelo método NMP de *Enterobacteriaceae* em alimentos, rações animais e amostras ambientais.

Também é recomendado pela Farmacopeia Europeia para a pesquisa de bactérias gram-negativas resistentes aos sais biliares.

A fórmula padrão corresponde à composição definida na Farmacopeia Europeia.

#### HISTÓRIA

Originalmente, a fórmula do meio foi desenvolvida por Mossel, Visser e Cornelissen em 1963. A glicose promove a cultura de *Enterobacteriaceae* e, em particular, de *Shigella* e *Salmonella*, ambas lactose-negativas. A técnica de enriquecimento em meio líquido, que demonstra crescimento bacteriano em vez de produção de gás, permite levar em consideração enterobactérias que não produziram sistematicamente gás em outros meios líquidos seletivos.

#### PRINCÍPIOS

A presença simultânea de bile de bovino e verde brilhante causa a inibição de quase todos os microrganismos Gram-positivos e bactérias Gram-negativas, exceto *Enterobacteriaceae*.

A peptona gelatina pancreática e a glicose, respectivamente, constituem a fonte de nitrogênio e a fonte de energia para o desenvolvimento de *Enterobacteriaceae*.

Os fosfatos permitem que o meio seja armazenado para aumentar sua capacidade de recuperação.

#### COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

- Peptona gelatina pancreática..... 10,00 g
- Bile bovina bacteriológica..... 20,00 g
- Glicose..... 5,00 g
- Fosfato dissódico anidro (\*)..... 6,45 g
- Fosfato monopotássico..... 2,00 g
- Verde brilhante..... 15,0 mg

pH do meio pronto a usar a 25°C: 7,2 ± 0,2

(\*): 6,45 g de fosfato dissódico anidro correspondem a 8 g de fosfato dissódico di-hidratado.

#### PREPARAÇÃO

- Suspender 43,5 g de meio desidratado (BK127) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Mexer lentamente até dissolver completamente.
- Distribuir cerca de 10 mL por tubo.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.

-  
Reconstituição:

43,5 g/L

- Esterilização:  
15 min a 121°C



- Resfriar a temperatura ambiente.

### **INSTRUÇÃO DE USO**

#### **Deteção ou enumeração de *Enterobacteriaceae* (NF ISO 21528-1)**

- Transferir 1 mL dos caldos de enriquecimento para cada tubo de caldo assim preparado.
- Incubar por 24 ± 2 horas a 37°C

- Semeando: NPP  
1 mL / tubo  
  
- Incubação:  
24 h a 37 °C

#### **Pesquisa de bactérias gram-negativas resistentes aos sais biliares (Farmacopeia Europeia)**

- Semear 1 mL da diluição primária
- Incubar a 30-35°C por 24-48

- Semeando:  
1 mL / tubo  
  
- Incubação:  
24-48 h a 30-37°C

em 10 mL de caldo.  
horas

### **LEITURA**

Observar o crescimento bacteriano.

Repicar todos os tubos em ágar VRBG (BK011, BM075), usando uma alça em loop. Se as placas apresentarem colônias características, realizar os testes de confirmação recomendados.

### **CONTROLE DE QUALIDADE**

**Meio desidratado:** pó bege a esverdeado e homogêneo.

**Meio preparado:** solução verde e límpida.

Resultado após 24 horas de incubação a 37°C, em seguida, subcultura nos meios específicos (NF EN ISO 11133):

| <b>Microrganismos</b>   | <b>Crescimento</b>                    |
|---|---------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> WDCM 00012<br><i>+ Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087       | > 10 colônias características em VRBG |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> WDCM 00031<br><i>+ Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087 | > 10 colônias características em VRBG |
| <i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087   | Inibição total em TSA                 |

Resultado após 24 horas de incubação a 30-35°C, inóculo <100 microrganismos:

| <b>Microrganismos</b>                    | <b>Crescimento</b> |
|--|--------------------|
| <i>Escherichia coli</i> WDCM 00012       | Positivo           |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> WDCM 00026 | Positivo           |
| <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00032  | Inibido            |

### **ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA**

**Meio desidratado:** 2-30°C.



A data de validade é mencionada no rótulo.

### **APRESENTAÇÃO**

#### **Meio desidratado:**

Frasco de 500 g .....BK127HA

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Mossel, D.A.A., Visser, M., and Cornelissen, A.M.R. 1963. The Examination of Foods for *Enterobacteriaceae* using a Test of the type Generally Adopted for the Detection of *Salmonellae*. Jour. of Appl. Bact., 24: 444-452.

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 préenrichissement.

Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles: Recherche de microorganismes spécifiés.

### **OUTRAS INFORMAÇÕES**

As informações nas etiquetas prevalecem sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitas a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: BOUILLON EE\_FR\_V5.

Data de criação: 06-2001

Data de revisão: 03-2016

Motivo da revisão: Revisão geral.