



AGAR *ENTEROCOCCUS* COMPASS®

ENUMERAÇÃO DE *ENTEROCOCCUS*

USO PRETENDIDO

O Agar *Enterococcus* COMPASS® é um meio seletivo usado para a enumeração de enterococos *em* alimentos e água.

HISTÓRIA

Os enterococos são utilizados como organismos indicadores de contaminação fecal e está provado que a maioria destas bactérias produzem uma β -D glucosidase. A maioria dos meios usados com frequência até hoje contém esculina (6-7 dihidroxicumarina-6-glicosídeo) que é hidrolisado pela β -D glucosidase em dois compostos: esculetina e glicose. A esculetina produz um componente marrom na presença de íons férricos presentes no meio, levando a um resultado positivo. Esta reação ocorre com enterococos, mas também com outros microrganismos secundários não relacionado. Com efeito, um certo número de microrganismos contaminantes pode levar a um nível relativamente alto de falsos positivos, exigindo uma série de testes confirmatórios para todas as colônias que apresentem um aspecto característico.

Uso de substratos cromogênicos e fluorgênicos para a detecção de atividade glicosídica, para detectar especificamente enterococos, foi estudada por numerosos autores como Dufour em 1980, Littel & Hartman em 1983, Hernandez *et al.* em 1993. A associação entre X- β -glicosídeo e a natureza inibidora da formulação do Agar *Enterococcus* COMPASS® permite a enumeração direta por contagem de colônias características, após apenas 24 horas de incubação e sem confirmação.

PRINCÍPIOS

Peptonas, extrato de levedura e Tween 80 estimulam o crescimento de enterococos.

O extrato de levedura é uma fonte de vitamina B complexa.

O cloreto de sódio mantém a pressão osmótica.

A escolha de uma temperatura de incubação de 44°C, associada a uma criteriosa mistura de inibidores, permite a alta seletividade do meio e a inibição da microflora contaminante.

O X- β -glicosídeo assegura a revelação cromogênica da atividade β -glicosidase dos enterococos. Essas colônias apresentam coloração azul após hidrólise do substrato (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glicosídeo).



COMPOSIÇÃO TÍPICA

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

Para 1 litro de meio:

- Peptonas	27,5 g
- Extrato de levedura.....	5,0 g
- Cloreto de sódio.....	5,0 g
- Tween 80.....	1,0 g
- Mistura inibidora	0,3 g
- X-β-glicosídeo	0,1g
- Ágar bacteriológico	14,0 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,5 ± 0,2.

PREPARAÇÃO

- Dissolver 52,9 g de meio desidratado (BK183) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Mexer lentamente até a dissolução completa.
- Distribuir em tubos ou frascos.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar e manter a 44 – 47°C.
- Para uso em inoculação de superfície ou filtração por membrana, despejar em placas e deixar solidificar em uma superfície fria e plana.

✓ Reconstituição:
52,9 g/L

✓ Esterilização:
15 min a 121°C

Uso de meio pronto para derreter:

- Derreta o meio (se for preparado com antecedência) ou o meio pronto para derreter (BM116) pela quantidade mínima de tempo necessários para atingir a liquefação total.
- Resfriar e manter a 44 – 47°C.

INSTRUÇÕES DE USO

Microbiologia Alimentar:

- Transfira 1 mL da suspensão da amostra e suas diluições em série para recipientes vazios e estéreis como placas de Petri.
- Despejar cerca de 15 mL de meio nas placas de Petri.
- Misturar bem e deixar solidificar em uma superfície fria e plana.
- Incubar a (44 ± 1) °C por (24 ± 2) horas.

✓ Inoculação:
1 mL por placa

✓ Incubação:
24 ± 2 h a 44 ± 1°C.

**Análise de água:**

- Filtrar assepticamente, através de uma membrana, um volume específico de amostra de água para testar.
- Na superfície das placas preparadas como acima, ou em meio pré-preparado (BM157) em temperatura ambiente, colocar a membrana com o lado filtrado para cima e certificar de que a membrana e a superfície do ágar estejam em contato próximo.
- Incubar a $(44 \pm 1) ^\circ\text{C}$ por (24 ± 2) horas.

RESULTADOS

Os enterococos são caracterizados por colônias azuis a verde-azuladas no ágar.

Ver ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó esbranquiçado e homogêneo.

Meio preparado: ágar âmbar.

Resultado do cultivo após 24 horas de incubação a 44°C :

Microrganismos		Crescimento (Razão de Produtividade: P_R)	Características
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	$P_R \geq 50\%$	Colônias azuis
<i>Enterococcus faecium</i>	WDCM 00010	$P_R \geq 50\%$	Colônias azuis
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inibido	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inibido	-

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio desidratado: 2 – 30°C .

Meios prontos para derreter em frascos: 2 – 8°C .

Meios pré-preparados em placas: 2 – 8°C , protegidos da luz.

As datas de validade estão indicadas nos rótulos.

Meios preparados em tubos ou frascos (*): 180 dias a 2 – 8°C , protegidos da luz.

Meios preparados em placas de Petri de 55 mm (*): 30 dias a 2 – 8°C , protegidos da luz.



(*) Valor de referência determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

EMBALAGEM

Meios desidratados:

Frasco de 500 gBK183HA

Meios prontos para derreter:

10 x 100 mLBM11608

Meios pré-preparados em placas de Petri (Ø 55 mm):

20 placasBM15708

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Microbiolgy, Washington, D.C., USA. Abstr. Q-69:205.

Littel, K.J., and Hartmann P.A.1983. Fluorogenic selective and differential medium for isolation of fecal streptococci. Applied and Environmental Microbiology, 45(2):622-627.

Hernandez, J.F., Pourcher, A.M., Delattre, J.M., Oger, C., and Loeuillard J.L.1993. MPN Miniaturized procedure for the enumeration of faecal enterococci in fresh and marine waters, The must procedure. Water Research, 27:597- 606

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

As informações fornecidas nos rótulos têm precedência sobre as formulações ou instruções descritas neste documento e são suscetíveis de modificação a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: COMPASS ENTEROCOCCUS_ENV5

Data de criação: 05 – 2005.

Data de revisão: 04 – 2016.

Motivo da revisão: Revisão geral.



ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

AGAR *ENTEROCOCCUS* COMPASS®

Enumeração de *Enterococcus* spp.

Resultados:

Crescimento obtido após 24 horas de incubação a 44°C.

Enterococcus faecalis

Características da colônia:
Cor azul (hidrólise do X-β-D-glicosídeo)

