



ÁGAR KF *STREPTOCOCCUS* (BASE)

ENUMERAÇÃO DE ENTEROCOCOS

USO

O Ágar *Streptococcus* KF (Kenner Fecal) é um meio seletivo utilizado para o isolamento e enumeração de enterococos em produtos alimentícios, utilizando técnicas clássicas de enumeração em placas de Petri.

Também é recomendado na norma para composição de fermentos lácteos acidificantes em produtos lácteos (ISO 27205), para a detecção de enterococos como contaminantes.

HISTÓRIA

O ágar KF, utilizado por Kenner *et al.* em 1960 para a enumeração de estreptococos fecais em amostras de água, revelou ter um excelente poder de recuperação em comparação com outros meios usados na época. Os autores observaram que o meio levou a uma excelente caracterização de cocos entéricos, bem como de microrganismos como características bioquímicas e propriedades antigênicas: *Streptococcus bovis* e *Streptococcus equinus*.

PRINCÍPIOS

A alta capacidade nutritiva do meio se deve à presença de uma alta proporção de polipeptona, extrato de levedura e carboidratos.

O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico.

A lactose e a maltose são fontes de energia para microrganismos que as podem utilizar.

A acidificação do meio é mostrada pela mudança do bromocresol de púrpura para amarelo.

A azida sódica inibe o crescimento de bactérias gram-negativas contaminantes.

O TTC adicionado imediatamente antes do uso é um indicador de crescimento bacteriano. É reduzido a um formazano insolúvel no interior das células. Esta reação é visualizada pelo aparecimento de colônias vermelhas a marrons.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

A composição pode ser ajustada para obter o desempenho ideal.

Para 1 litro de meio:

- Polipeptona.....	10,0 g
- Extrato de leveduras.....	10,0 g
- Maltose.....	20,0 g
- Lactose.....	1,0 g
- Cloreto de sódio.....	5,0 g
- Glicerofosfato de sódio.....	10,0 g
- Azida sódica.....	0,4 g



- Púrpura de bromocresol.....15,0 mg
- 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio.....0,1 g
- Ágar bacteriológico.....12,0 g

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

Para 68,4 g de meio base desidratado BK132

- Polipeptona.....10,0 g
- Extrato de levedura.....10,0 g
- Maltose.....20,0 g
- Lactose.....1,0 g
- Cloreto de sódio.....5,0 g
- Glicerofosfato de sódio.....10,0 g
- Azida sódica.....0,4 g
- Púrpura de bromocresol.....15,0 mg
- Ágar bacteriológico.....12,0 g

Para um frasco de suplemento BS027

- Trifeniltetrazólio..... 50 mg (cloreto)

PREPARAÇÃO

Preparação de meios desidratados

- Dissolver 68,4 g de meio desidratado (BK132) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada;
- Levar lentamente à ebulição, mexendo até a dissolução completa;
- Continuar fervendo por 5 minutos sem ultrapassar esse período de aquecimento;
- Não autoclavar;
- Resfriar e manter o meio em estado fundido a 44-47°C;
- Reidratar o suplemento TTC (BS027) com 5 mL de água destilada estéril ou desmineralizada;
- Misturar ou agitar em vórtex o frasco de suplemento para garantir a dissolução completa, evitando a formação de espuma;
- Adicionar 1 mL de suplemento reconstituído a 100 mL de meio base mantido a 44-47°C;
- Despejar em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria e plana.

✓ **Reconstituição:**
68,4 g/L

✓ **Esterilização:**
Não autoclavar

✓ **Reidratação suplemento:**
5 mL de água destilada estéril

✓ **Adicionar à base:**
1 mL / 100 mL

INSTRUÇÕES DE USO

- Transferir 0,1 mL da amostra a ser testada e suas diluições seriadas para a superfície do ágar;
- Espalhar sobre a superfície com um triângulo estéril ou um “taco de hóquei”;
- Incubar a 43 ± 1°C por 48 horas.

✓ **Inoculação:**
0,1 mL na superfície

✓ **Incubação:**
48 h a 43°C

**NOTA:**

O meio também pode ser inoculado usando a técnica de pour plate, com 1 mL de inóculo por placa.

RESULTADOS

As colônias vermelhas, marrons ou rosadas, circundadas por um halo amarelo, são consideradas características.

Ver ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meios desidratados: pó esbranquiçado, de fluxo livre e homogêneo.

Suplemento liofilizado: grânulo branco, após reconstituição dando uma solução transparente e límpida.

Meio preparado (completo): ágar azul-violeta.

Resultado do cultivo após 48 horas de incubação a 43°C:

Microrganismos		Crescimento (Razão de Produtividade: P_R)
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	$P_R \geq 70 \%$
<i>Enterococcus faecium</i>	WDCM 00010	$P_R \geq 70 \%$
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inibido, pontuação 0
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inibido, pontuação 0

ARMAZENAMENTO / CONSERVAÇÃO

Meio base desidratado: 2-30°C.

Suplemento TTC 50 mg: 2-8°C.

As datas de validade estão indicadas nos rótulos.

Meios preparados e completos em placas (*): 8 dias a 2-8°C, ao abrigo da luz.

Suplemento reidratado (*): 30 dias a 2-8°C ao abrigo da luz.

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

EMBALAGEM**Meios desidratados**

Garrafa de 500 g.....BK132HA

Suplemento TTC 50 mg



10 frascos.....BS02708

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Kenner, B.A., Clark, H.F., and Kabler, P.W. 1961. Fecal Streptococci. I. Cultivation and Enumeration of Streptococci in Surface Waters. Appl. Microb., 9: 15-20.

MacFaddin, J.F. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Maintenance of Medical Bacteria. Vol 1. Williams and Wilkins, Baltimore, 395-398.

ISO 27205. Février 2010. Produits laitiers. Ferments acidifiants. Norme de composition.

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: KF AGAR_Env6.

Data de criação: 01 – 2003.

Data de revisão: 05 – 2016.

Motivo da revisão: Atualização geral.

ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

KF ÁGAR

Deteção e enumeração de enterococos.

Resultados:

Crescimento obtido após 48 horas de incubação a 43°C.

Enterococcus faecalis

Característica da colônia:
colônia vermelha a marrom,
cercada por um halo
amarelo.

