# BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

## UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** é utilizado para o isolamento de *Salmonella* e *Shigella* de amostras fecais humanas.

## PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

O DCLS Agar, Modified (agar DCLS, modificado) consiste numa modificação dos meios de agar de desoxicolato citrato descritos por Leifson.[1] Os organismos coliformes com capacidade para fermentar a lactose ou sacarose são normalmente inibidos. As bactérias gram-positivas são suprimidas. Ao estudar os agentes patogénicos entéricos no meio Endo, Holt-Harris e Teague utilizaram a lactose e a sacarose no desenvolvimento de um agar de nutrientes contendo azul-de-metileno e eosina. Alguns coliformes fermentam a sacarose mais rapidamente do que a lactose.[2] A adição de sacarose permite aos organismos não patogénicos fermentadores da sacarose produzir colónias rosa-vermelhas (cor-de-rosa) que são facilmente reconhecidas, reduzindo o número de reacções falsas positivas.

Existem várias modificações à fórmula original do agar DCLS.[3,4] A fórmula deste meio contém mais lactose e sacarose e menos citrato e, por essa razão, permite o crescimento de *Shigella* de uma forma ligeiramente superior ao agar DCLS regular. Além disso, permite a detecção de *Yersinia enterocolitica.*

No DCLS Agar, Modified, o extracto de carne e a peptona fornecem nitrogénio e o extracto de leveduras proporciona as vitaminas. A lactose e a sacarose são hidratos de carbono fermentáveis utilizados por diversos bastonetes gram-negativos não patogénicos como, por exemplo, *Escherichia coli*, mas não pela *Salmonella* e *Shigella*. O tiossulfato, desoxicolato e citrato de sódio são agentes selectivos. O vermelho neutro é um indicador de pH.

O Hektoen Enteric Agar (HEA) (agar entérico de Hektoen) foi desenvolvido em 1967 por King e Metzger do Instituto Hektoen com o objectivo de melhorar o isolamento de organismos de *Shigella* e *Salmonella* em relação a outros meios frequentemente utilizados nessa altura.[5] Este meio é considerado como sendo moderadamente selectivo e é particularmente útil no isolamento de espécies de *Shigella*. A formulação presente difere da do meio original, no facto de que o desoxicolato de sódio foi eliminado e a concentração de sais biliares reduzida. Além disso, verificou-se um aumento da concentração de peptona para contrapor os efeitos inibidores dos sais biliares.[3]

Os sais biliares tornam o meio selectivo, inibindo os organismos gram-positivos e reduzindo o crescimento de algumas bactérias gram-negativas além das espécies de *Salmonella* e *Shigella*. A lactose, sacarose e salicina foram incluídas para obter uma diferenciação óptima entre a cor das colónias e a do meio adjacente às colónias. As espécies de *Salmonella* e *Shigella* não fermentam estes compostos de carbono e, por conseguinte, não provocam uma alteração da cor do sistema de indicação do pH. Por outro lado, os organismos que fermentam um ou vários compostos deste tipo em ácidos, por exemplo a *E. coli*, fazem com que a cor mude para amarelo, cor-de-laranja ou salmão. O citrato de amónio férrico e tiossulfato de sódio presentes no meio permitem a detecção da produção de sulfureto de hidrogénio pela *Salmonella*. O sistema de indicação do pH consiste em fucsina ácida e azul de bromotimol. Recomenda-se esta formulação como um dos vários meios de colocação em placas para o cultivo de *Enterobacteriaceae* de amostras de fezes.[6-8]

O **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** é uma combinação dos dois meios selectivos para diferenciação utilizados para o isolamento de *Salmonella* e *Shigella* de fezes humanas.

## REAGENTES

**BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)**

Fórmulas* por Litro de Água Purificada

| **DCLS Agar, Modified** | | **Hektoen Enteric Agar** | |
|---|---|---|---|
| Peptona de carne (pancreática) | 5,0 g | Hidrolisado péptico de tecido animal | 12,0 g |
| Extracto de leveduras | 2,5 | Extracto de leveduras | 3,0 |
| Extracto de carne | 2,5 | Sais biliares | 9,0 |
| Lactose | 10,0 | Lactose | 12,0 |
| Sacarose | 10,0 | Sacarose | 12,0 |
| Citrato de amónia férrico | 1,0 | Salicina | 2,0 |
| Desoxicolato de sódio | 2,5 | Cloreto de sódio | 5,0 |
| Tiossulfato de sódio | 5,0 | Tiossulfato de sódio | 5,0 |
| Citrato de sódio | 1,0 | Citrato de amónia férrico | 1,5 |
| Vermelho neutro | 0,02 | Azul de bromotimol | 0,064 |
| Agar | 10,0 | Fucsina ácida | 0,1 |
| pH 7,5 ± 0,2 | | Agar | 13,5 |
| | | pH 7,6 ± 0,2 | |

*Ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios do desempenho.

## PRECAUÇÕES

IVD . Apenas para uso profissional.

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

## ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

## CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar as placas a 35 ± 2°C numa atmosfera aeróbia. Ocasionalmente, as espécies de *Shigella* poderão necessitar de 42 a 48 h de incubação.

Examinar as placas após 18 a 24 e 42 a 48 h para registar o grau de crescimento, o tamanho das colónias, a pigmentação e a selectividade.

| **Estirpes** | **DCLS Agar, Modified** | **Hektoen Enteric Agar** |
|---|---|---|
| *Escherichia coli* ATCC 25922 | Nenhum crescimento a crescimento razoável; colónias cor rosa-vermelho (cor-de-rosa), poderão formar-se precipitados à volta das colónias | Inibição parcial a completa; colónias amarelas a cor-de-laranja, poderão formar-se precipitados à volta das colónias, halos cor de salmão a cor-de-laranja |
| *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 | Inibição completa | Inibição parcial a completa; colónias amarelas diminutas, halos cor de salmão a cor-de-laranja |
| *Proteus mirabilis* ATCC 12453 | Colónias vermelhas-alaranjadas; crescimento razoável a bom | Cor verde-azulado a azul com centros pretos |
| *Salmonella* Abony | Colónias vermelhas-alaranjadas | Crescimento bom a excelente; colónias |

| | | |
|---|---|---|
| DSM 4224 | a amarelas; crescimento bom a excelente | verdes a verdes-azuladas com centro preto |
| *Salmonella* Typhi-murium ATCC 14028 | Colónias vermelhas-alaranjadas a amarelas; crescimento bom a excelente | Crescimento bom a excelente; colónias verdes a verdes-azuladas com centro preto |
| *Shigella flexneri* ATCC 12022 | Colónias vermelhas-alaranjadas a amarelas; crescimento razoável a excelente | Crescimento razoável a excelente; colónias verdes claras |
| Não inoculadas | Vermelho-alaranjado, ligeiramente opalescente | Verde, quase transparente |

## PROCEDIMENTO

### Materiais fornecidos

**BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar** (biplacas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlados.

### Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

### Tipos de amostra

Este meio é utilizado para amostras de fezes de doentes com suspeita de infecção entérica bacteriana e para materiais semelhantes como, por exemplo, zaragatoas rectais (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).[7,8]

### Procedimento do teste

Espalhar a amostra para cultura imediatamente após esta ser recebida no laboratório em ambos os meios desta biplaca. A placa para cultura é usada principalmente para isolar culturas puras das amostras que contêm flora mista. Em alternativa, se o material estiver a ser cultivado directamente de uma zaragatoa, fazer rolar a zaragatoa sobre uma pequena área da superfície, nas extremidades; em seguida, espalhar a partir destas áreas inoculadas, para obter o isolamento.
Também deve proceder-se à inoculação de um meio menos selectivo como o **BD MacConkey II Agar** e um meio selectivo de enriquecimento líquido como o caldo Selenite F para aumentar a possibilidade de recuperação quando a população de organismos gram-negativos é reduzida e para fornecer uma indicação de outros organismos presentes na amostra. Para obter uma descrição completa sobre o isolamento e identificação de agentes patogénicos entéricos provenientes de amostras clínicas, consultar os procedimentos descritos na bibliografia apropriada.[6-8]
Os agares **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** podem ser utilizados como meios para a repicagem de caldo Selenite F.
Incubar as placas, ao abrigo da luz, a uma temperatura de 35 ± 2°C, durante 18 a 24 h. Se se verificar um resultado negativo, voltar a incubar durante mais 18 a 24 h.

### Resultados

A aparência típica do crescimento no **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** é a seguinte:

| Organismos | DCLS Agar, Modified | Hektoen Enteric Agar |
|---|---|---|
| *E. coli* | De grande dimensão, planas, cor-de-rosa a vermelhas com uma zona de precipitação biliar | De grande dimensão, cor amarela a salmão; possibilidade de inibição de algumas estirpes |
| *Enterobacter/Klebsiella* | De grande dimensão, mucóides, cor-de-rosa | De grande dimensão, cor amarela a salmão |
| *Proteus* | Incolores a vermelhas | Variável, cor verde-azulado a azul ou salmão, a maioria das estirpes têm um centro preto |
| *Salmonella* | Incolores a cor-de-rosa pálido | Cor verde-azulado a azul; a maioria das estirpes têm um centro preto |
| *Shigella* | Incolores a cor-de-rosa pálido | Aspecto verde e húmido, saliente |
| *Pseudomonas* | Incolores a castanhas ou verdes | Irregulares, verdes a acastanhadas |
| Gram-positivos | Sem crescimento | Nenhum indício de crescimento a crescimento ligeiro |

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)** é utilizado para o isolamento de *Salmonella* e *Shigella* de amostras fecais humanas e zaragatoas rectais.[3,6-9]
Se o número de agentes patogénicos na amostra for reduzido, talvez exista a possibilidade de não serem detectados em meios altamente selectivos. Recomenda-se que seja incluído um meio com um grau de selectividade inferior como é o caso do **BD MacConkey II Agar** e/ou um meio de enriquecimento líquido selectivo.[6-8]
As colónias de *Proteus mirabilis* podem assemelhar-se à *Salmonella* nestes meios.
Determinadas estirpes de *Shigella* poderão necessitar de uma incubação de 42 a 48 h.
Embora possam ser realizados alguns testes de diagnóstico directamente nestes meios, é necessária a realização de testes bioquímicos para uma completa identificação e, se indicado, recomenda-se a realização de testes imunológicos usando culturas puras.
As colónias suspeitas de pertencerem à espécie de *Salmonella* ou *Shigella* devem ser confirmadas e identificadas serologicamente.[6]
Uma vez que os requisitos nutricionais variam de organismo para organismo, poderá verificar-se que determinadas não se desenvolvem ou desenvolvem-se de forma deficiente nestes meios.

## BIBLIOGRAFIA


1. Leifson, E. 1935. New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. J. Pathol. Bacteriol. 40:581-599.
2. Holt-Harris, J. E., and O. Teague. 1916. A new culture medium for the isolation of Bacillus typhosus from stools. J. Infect. Dis. 18:596-601.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Hajna, A. A., and S. R. Damon. 1956. New enrichment and plating medium for the isolation of *Salmonella* and *Shigella* organisms. Appl. Microbiol. 4: 341.
5. King, S., and W.I. Metzger. 1968. A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. I. Hektoen enteric agar. Appl. Microbiol. 16:577-578.
6. Bopp, C.A., Brenner, F.W., Fields, P.I., Wells, J.G., and N.A. Strockbine. 2003. *Escherichia, Shigella,* and *Salmonella. In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken

(ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. *In:* Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.

## EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

**BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)**
No. de cat. 254553 Meios em placas prontos a usar, 20 placas

## INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da BD.

**BD Diagnostic Systems**
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

**BD Diagnostic Systems Europe**
Becton Dickinson France SA
11 rue Aristide Bergès
38800 Le Pont de Claix/France
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 http://www.bd.com

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
© 2003 Becton, Dickinson and Company