

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE**I INTRODUÇÃO**

O Ágar de biliar esculina é um meio para identificação presuntiva de espécies de *Enterococcus* e de estreptococos do grupo *Streptococcus bovis*.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Com uma ansa calibrada de 0,01 mL, inocule as superfícies do ágar inclinado, fazendo riscas, utilizando diluições de 10⁻¹ de culturas em **Trypticase** Soy Broth com 18 a 24 h.
 - b. Incube os tubos com as tampas desapertadas a 35 ± 2°C, numa atmosfera aeróbia.
 - c. Inclua Ágar de soja **Trypticase** inclinado como controlo não selectivo para todos os microrganismos.
2. Examine os tubos após 18 a 24 h e 42 a 48 h, verificando se ocorreu crescimento, selecção e reacções adequadas.
3. Resultados esperados

Microrganismos de controlo do CLSI (Estirpes ATCC)

**Enterococcus faecalis* Crescimento, escurecimento em redor das colónias (29212) (escurecimento de metade ou mais de metade do meio)

**Streptococcus pyogenes*..... Inibição (parcial a completa), sem escurecimento (19615)

Estirpe adicional utilizada:

Streptococcus gallolyticus..... Crescimento, escurecimento de metade ou mais de metade do meio ATCC 9809

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Incube os tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO**IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA**

O Ágar de biliar esculina é utilizado para diferenciar enterococos e o grupo do *Streptococcus bovis* de outros estreptococos.^{1,2}

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

Rochaix reparou no valor da hidrólise da esculina na identificação de enterococos.³ Meyer e Schonfeld incorporaram biliar no meio de esculina e demonstraram que 61 em 62 enterococos cresciam e dividiam a esculina, enquanto que um estreptococo não o fazia.⁴ Swan utilizou um meio contendo sais biliares a 40%, tendo referido que uma reacção positiva no meio de biliar esculina estava correlacionada com uma reacção de precipitina do grupo serológico D.⁵

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Os enterococos e alguns estreptococos hidrolisam o glicosídeo esculina em esculina e dextrose. A esculina reage com um sal de ferro para formar um complexo castanho-escuro ou preto.⁶ O citrato férrico é incorporado no meio como um indicador da hidrólise da esculina e da formação de esculina daí resultante. A biliar de bovino é utilizada para inibir outras bactérias Gram-positivas além dos enterococos.

VII REAGENTES

Bile Esculin Agar Slants

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

| | | |
|---------------------------------------|------|---|
| Digerido pancreático de gelatina..... | 5,0 | g |
| Extracto de carne..... | 3,0 | g |
| Bilis de bovino | 20,0 | g |
| Citrato férrico | 0,5 | g |
| Esculina | 1,0 | g |
| Ágar..... | 14,0 | g |

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

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Utilizar técnicas assépticas e cumprir as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos em todos os procedimentos. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{7,8} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Bile Esculin Agar Slants

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Inocule o meio com duas ou três colónias e incube dum dia para o outro a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa atmosfera aeróbia.⁹

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas do CLSI e os regulamentos da CLIA que dizem respeito a este assunto, para obter orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

X RESULTADOS

Se mais de metade da superfície do ágar inclinado tiver escurecido no prazo de 24 a 48 h, o teste é positivo. Se menos de metade da superfície do ágar inclinado tiver escurecido ou se não houver escurecimento no prazo de 24 a 48 h, o teste é negativo.

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Foram isoladas de infecções em humanos estirpes de *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus* que apresentam uma reacção bilis-esculina positiva.^{1,9}

Estirpes ocasionais de estreptococos viridans escurecem o meio ou exibem reacções fracamente positivas.²

Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.^{7,8}

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Hussain *et al.* testaram 194 isolados estreptocócicos, previamente identificados por testes serológicos, para determinar a eficácia de vários testes bioquímicos na identificação dos estreptococos do grupo A e do grupo B, bem como a diferenciação entre enterococos e estreptococos do grupo D não enterococos. Foram identificadas vinte e duas (22) estirpes de enterococos do grupo D. Cem por cento (100%) dos estreptococos do grupo D, 1 estirpe do grupo R e outra de um conjunto de estreptococos não agrupáveis causaram o escurecimento dos Bile Esculin Agar Slants. Utilizando um inóculo com elevada concentração, a hidrólise da esculina pode ser detectada no prazo de 4 h em 93% das amostras testadas.¹⁰

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat. Descrição

221409 **BD BBL** Bile Esculin Agar Slants, emb. com 10 tubos K

221410 **BD BBL** Bile Esculin Agar Slants, caixa com 100 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Facklam, R.R., D.F. Sahn, and L.M. Teixeira. 1999. *Enterococcus*, p. 297-305. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Ruoff, K.L., R.A. Wiley, and D. Beighton. 1999. *Streptococcus*, p. 283-296. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Rochaix, A. 1924. Millieux a leculine pour le diagnostid differentiel des bacteries du groups strepts-entero pneumocoque. *Comt. Rend. Soc. Biol.* 90:771-772.
4. Meyer, K., and H. Schonfeld. 1926. Uber die Unter sheidung des *Enterococcus* vom *Streptococcus viridans* und die Beziehung der beider zum *Streptococcus lactis*. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I. Orig.* 99:402-416.
5. Swan, A. 1954. The use of bile-esculin medium and of Maxted's technique of Lancefield grouping in the identification of enterococci (group D streptococci). *J. Clin. Pathol.* 7:160-163.
6. MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
7. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Tenover, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Forbes, B.A., D.F. Sahn, and A.S. Tenover. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
9. Ruoff, K.L. 1995. *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Stomatococcus*, and miscellaneous gram-positive cocci that grow aerobically, p. 315-323. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Hussain, Z., R. Lannigan, and L. Stoakes. 1984. A new approach for presumptive identification of clinically important streptococci. *Zbl. Bakt. Hyg. A* 258:74-79.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD