



CALDO HALF-FRASER

USO

O Caldo Half-Fraser é usado para o enriquecimento seletivo e diferencial de *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos, bem como em outros produtos alimentícios que possam contê-las.

HISTÓRIA

O meio estudado por Fraser *et al.*, em 1988 é uma modificação da formulação de Donnelly e Baigent. A composição da base é idêntica à do Caldo UVM e foi modificada pela adição de cloreto de lítio como agente seletivo e de citrato de amônio férrico para visualização de culturas que hidrolisam esculina, pelo escurecimento resultante do meio.

PRINCÍPIOS

- A recuperação muito boa de *Listeria monocytogenes* é assegurada pelas diferenças de concentração em ácido nalidíxico e acriflavina entre Half-Fraser e Fraser, bem como as próprias duas etapas de enriquecimento. O caldo Half-Fraser permite a etapa de enriquecimento primário, sendo o enriquecimento secundário realizado em Caldo Fraser.
- Polipeptona, extrato de levedura e extrato de carne fornecem os nutrientes necessários para o crescimento da *Listeria*.
- O alto teor de cloreto de sódio aumenta a seletividade do meio.
- Os fosfatos tamponam o pH do meio.
- A esculina é hidrolisada pela *Listeria* em glicose e esculetina, este último composto formando um complexo negro com íons férricos fornecidos pelo citrato férrico, adicionado imediatamente antes do uso, o que também favorece o crescimento da *Listeria*.
- O cloreto de lítio inibe o crescimento da maioria dos enterococos, que também podem hidrolisar a esculina.
- O ácido nalidíxico bloqueia a replicação do DNA de bactérias sensíveis a este agente antibacteriano.
- O crescimento da microflora Gram-positiva secundária é inibido pela acriflavina.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(O meio pode ser ajustado para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

| | |
|-----------------------------------|---------|
| – Polipeptona | 10,00 g |
| – Extrato de levedura | 5,00 g |
| – Extrato de carne | 5,00 g |
| – Cloreto de Sódio..... | 20,00 g |
| – Fosfato dissódico anidro | 9,60 g |
| – Fosfato monopotássico | 1,35 g |
| – Esculina | 1,00 g |
| – Cloreto de lítio | 3,00 g |
| – Ácido nalidíxico | 10,0 mg |
| – Acriflavina (cloridrato)..... | 12,5 mg |
| – Citrato de amônio férrico | 0,50 g |



pH do meio pronto a usar a 25°C: $7,2 \pm 0,2$.

PREPARAÇÃO

- Dissolver 55,0 g de meio Fraser base II desidratado (BK133) ou base Half-Fraser (BK173) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Mexer lentamente até a dissolução completa.
- Dispensar em frascos a 225 mL por frasco.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar o meio a 25°C.

Meio Fraser base II (BK133):

- Adicionar assepticamente 2,25 mL de suplemento seletivo de meio Fraser BS030 reconstituído ou 2,0 mL de suplemento seletivo BS032 reconstituído.
- Misturar bem.

Base meio Fraser (BK173):

- Adicionar assepticamente 2,25 mL de uma solução de citrato de amônio férrico, 5% (BS059 ou BS062).
- Misturar bem.

INSTRUÇÃO DE USO

Enriquecimento primário

Para meios formulados, ou para frascos prontos para uso BM016, adicionar assepticamente 25 g do produto para realização do teste.

- Misturar bem.
- Incubar a 30°C.

Após 24 horas de incubação, realizar o isolamento no meio seletivo apropriado: Ágar Oxford (BK110 + BS003 ou BM019), Agar PALCAM (BK145 + BS004 / BS049 ou BM020), COMPASS Listeria Agar (BM123 ou BM124).

Além disso, transferir 0,1 mL da cultura para 10 mL de caldo Fraser (BK133 + BS031, BK115 + BS059 ou BS062, BM013).

Enriquecimento secundário

Após a inoculação, incubar o Caldo Fraser a 37°C.

Após 24 e 48 horas de incubação, realizar isolamentos seletivos em meio sólido seletivo usando uma alça loop de platina.

NOTA: O meio base BK173 não pode ser usado para o enriquecimento secundário.

RESULTADO

Identificar as colônias típicas e submeta-las a testes de identificação.

NOTA: Todos os tubos, com ou sem escurecimento, devem ser transferidos para meio seletivo. Um período mínimo de 24 horas é necessário para permitir a visualização da cor preta.



As amostras suspeitas devem ser sistematicamente transferidas para meios de isolamento seletivo, mesmo na ausência de mudança de cor.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Meio desidratado: pó amarelado e homogêneo.
- Meio preparado (completo): solução acastanhada com reflexo azulado, podendo apresentar precipitado.
- Resultado da cultura típica após 24 horas de incubação a 30°C, seguida por subcultura em Ágar Oxford:

| Microrganismos | | Crescimento em Ágar Oxford |
|--------------------------------|-------------|-----------------------------------|
| <i>Listeria monocytogenes</i> | CIP 59.53 | ≥10 colônias características |
| • <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC® 29212 | |
| • <i>Escherichia coli</i> | ATCC 25922 | |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | CIP 78.31 | ≥10 colônias características |
| • <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC 29212 | |
| • <i>Escherichia coli</i> | ATCC 8739 | |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC 29212 | Inibido |
| <i>Escherichia coli</i> | ATCC 25922 | Inibido |

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio básico desidratado: 2-30°C, protegido da luz.

- A data de validade está indicada na etiqueta.

Meio preparado (valor de referência*):

- Meios de base em frascos: 6 meses a 2-8°C, protegidos da luz.
- Meio completo em frascos: 8 dias a 2-8°C, protegido da luz.

Meio pronto para uso em frascos ou bolsas flexíveis,

Suplementos seletivos para caldo Half-Fraser

Citrato de amônio férrico, solução estéril a 5%:

- Armazenar entre 2-8°C, protegido da luz.
- As datas de validade estão indicadas nas etiquetas.

APRESENTAÇÃO

Código

Meio pronto para uso em frascos:

- 10 x 225 mL BM01608

Meio pronto para uso em sacos flexíveis:

- 3 x 3 litros BM13308
- 2 x 5 litros BM13408

Meio base Fraser II desidratado:

(sem citrato de amônio férrico, ácido nalidíxico ou acriflavina):



- Frasco de 500 g BK113HA
- Tambor de 5 kgBK113GC

Suplementos seletivos de meio Fraser (para base BK133)

- Embalagem com 10 frascos BS03008
- Embalagem com 8 frascos BS03208

Base Half-Fraser desidratada (sem citrato férrico de amônio):

- Frasco de 500 g BK173HA
- Balde de 5 kg BK173GC

Citrato de amônio férrico, suplemento de solução estéril a 5%:

- Frascos 10x90 mL BS05098
- Tubos 7x10 mL BS06208

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Donnelly, C.W., and Baigent, G.J. 1986. Method for flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in milk. *App. Environ. Microbiol.*, 52: 689-695.

Fraser, J.A., and Sperber, W.H. 1988. Rapid detection of *Listeria* spp. in food and environmental samples by esculin hydrolysis. *J. Food. Prot.*, 51: 762-765.

NF EN ISO 11290-1 (V 08-028-1). Février 1997. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes*. Partie 1: Méthode de recherche.

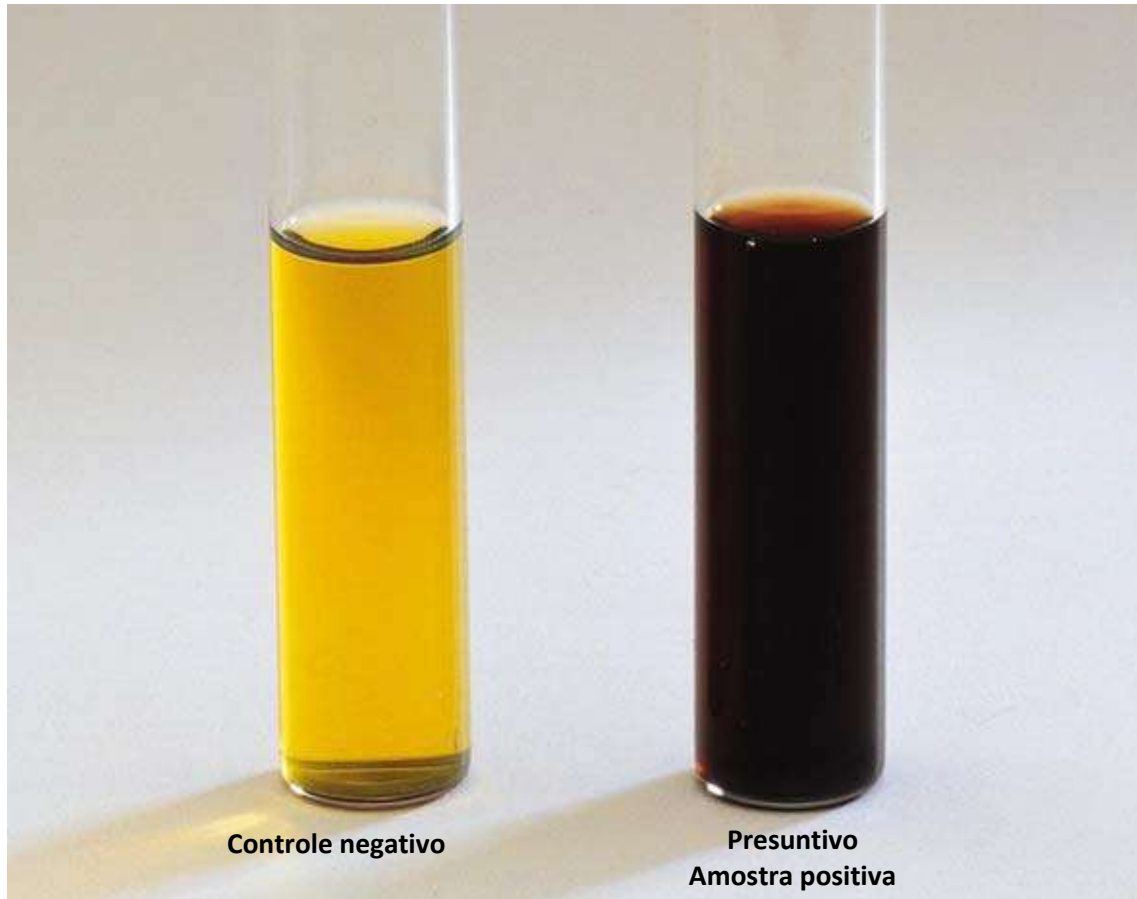
XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2: Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 11290-1/A1 (V 08-028-1/A1). Février 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes*. Partie 1: Méthode de recherche. Amendement 1: Modification des milieux d'isolement, de la recherche de l'hémolyse et introduction de données de fidélité.

ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

Referência do produto: [BK133HA, GC + BS03008 ou BS03208], [BK173HA, GC + BS05908 ou BS06208]; BM01608, BM13308 ou BM13408

Meio usado para: Enriquecimento seletivo e diferencial de *Listeria monocytogenes* em alimentos.



Listeria monocytogenes

Caldo Fraser

Ref: **BM01308**

Incubação: 24 horas / 37°C

Características: tubo escurecido (**à direita**) uma indicação presuntiva de crescimento de *Listeria monocytogenes* (redução da esculina), no entanto a confirmação ainda é necessária.

Nota: Half Fraser demonstrará o mesmo tipo de escurecimento, mas em frascos de 225 mL.

* O valor de referência refere-se ao valor esperado sob condições laboratoriais padrão seguindo as instruções do fabricante. É fornecido apenas como um guia e não garantia, implícita ou não, está associada a essas informações.

As informações fornecidas na embalagem prevalecem sobre as formulações ou instruções descritas neste documento.

As informações e especificações contidas nesta ficha técnica datam de 31/07/2009.

Eles são suscetíveis a modificações a qualquer momento, sem aviso prévio.

Documento de código: BK133 / A / 2003-01: 11.