



ÁGAR OXFORD

DETECÇÃO DE *LISTERIA*

USO

Ágar Oxford é um meio seletivo utilizado no isolamento e detecção de *Listeria monocytogenes* e outras espécies de *Listeria* em alimentos.

O meio pode ser usado como um segundo meio de escolha dentro do método de detecção de *Listeria monocytogenes* em microbiologia de alimentos (NF EN ISO 11290-1).

HISTÓRIA

O meio foi produzido por Curtis *et al.* em 1988 para o isolamento de *Listeria monocytogenes* de amostras clínicas, contendo uma microflora contaminante significativa. Na maioria dos casos, os autores observaram que as colônias de *Listeria* apareceram 24 horas após a incubação e os microrganismos associados eram inibidos.

Os estudos foram baseados no trabalho de Rodriguez (1984), que primeiro usou esculina e sais férricos para visualizar *Listeria monocytogenes* por sua característica esculinase-positivo. No entanto, muitos círculos seletivos para *Listeria*, que continham esculina, também permitiam o crescimento de enterococos. Curtis *et al.* demonstraram que na presença de cloreto de lítio, acriflavina, cicloheximida, colistina, cefotetano e fosfomicina, a microflora secundária foi inibida.

PRINCÍPIOS

A peptona promove o excelente crescimento da *Listeria*.

O extrato de levedura é uma fonte de vitaminas do complexo B.

O amido é a fonte de energia para o desenvolvimento.

O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico.

A *Listeria* hidrolisa a esculina em glicose e esculetina. O último composto forma um complexo preto em presença de íons férricos fornecidos pelo citrato de ferro.

A mistura do inibidor é composta por três antibióticos (colistina, cefotetano e fosfomicina), um antifúngico (cicloheximida), cloreto de lítio e um corante antisséptico (acriflavina).

COMPOSIÇÃO TÍPICA

A composição pode ser ajustada/complementada para atingir o desempenho ideal.

Para 1 litro de meio completo:

– Peptona	23,0 g
– Amido	1,0 g
– Cloreto de Sódio	5,0 g
– Esculina	1,0 g
– Citrato férrico amoniacal	0,5 g
– Cloreto de lítio	15,0 g
– Cicloheximida	400,0 mg
– Sulfato de colistina	20,0 mg
– Cefotetano	2,0 mg
– Fosfomicina	10,0 mg
– Acriflavina	5,0 mg
– Ágar bacteriológico	13,0 g

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



Para 58,5 g de base desidratada BK110:

- Peptona 23,0 g
- Amido 1,0 g
- Cloreto de Sódio 5,0 g
- Esculina 1,0 g
- Citrato férrico amoniacal 0,5 g
- Cloreto de lítio 15,0 g
- Ágar bacteriológico 13,0 g

Para um frasco de suplemento BS003:

- Cicloheximida 200,0 mg
- Colistina (sulfato) 10,0 mg
- Cefotetan 1,0 mg
- Fosfomicina 5,0 mg
- Acriflavina 2,5 mg

PREPARAÇÃO

- Suspender 58,5 g de meio desidratado (BK110) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, levar o meio para ferver com agitação constante até sua completa dissolução.
- Distribuir 100 mL por frasco.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar e manter a 44-47 °C.
- Reidratar o suplemento BS003 com 5 mL de uma solução [1/1] etanol/água destilada estéril
- Agitar manualmente ou usar vortex para garantir a completa dissolução. Evitar a formação de espuma.
- Adicionar 1 mL de suplemento por volume de 100 mL de base.
- Homogeneizar perfeitamente.
- Despejar em placas de Petri estéreis.
- Deixar solidificar em superfície fria.

- Reconstituição: 58,5 g/L
- Esterilização: 15 min a 121°C

- Reidratação: 5 mL 1: 1 etanol/água
- Adição de base: 1 mL / 100 mL

INSTRUÇÃO DE USO

- Realizar o isolamento usando uma alça em *loop*, de um caldo enriquecimento seletivo.
- Incubar a 37 ± 1°C por 24 a 48 horas.

- Semear: Em superfície
- Incubar: 24 a 48h a 37°C

Nota:

Para alimentos que não estão muito contaminados por uma microflora secundária, o meio pode ser incubado a 30°C ou 35°C.

RESULTADO

Após 24 horas de incubação, a *Listeria* formará colônias verde-oliva cercadas por um halo preto. Após 48 horas, eles se tornam mais escuros com um centro preto recortado e são circundados por áreas pretas.

O Ágar Oxford é um meio muito seletivo, no entanto, às vezes é possível observar colônias de estafilococos ou enterococos (que crescem levemente, dando uma coloração amarela ou preta clara, geralmente após 30/ 40 horas de incubação).



Consulte o ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio básico desidratado: pó bege e homogêneo.

Suplemento: liofilizado amarelo, dando após reconstituição uma solução amarelo-esverdeada fluorescente.

Meio preparado (completo): ágar verde-amarelo com reflexo azulado.

Resultado do cultivo após 24-48 horas de incubação a 37°C:

Microrganismos		Crescimento (Razão de produtividade: P_R)	Características
<i>Listeria monocytogenes 4b</i>	WDCM 00021	$P_R \geq 50\%$	Colônias verde-oliva com halo preto
<i>Listeria monocytogenes</i>	WDCM 00020	$P_R \geq 50\%$	Colônias verde-oliva com halo preto
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inibido	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inibido	-

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio básico desidratado: 2-30°C.

Suplemento seletivo: 2-8°C.

As datas de validade são mencionadas nas etiquetas.

Meio básico preparado em frascos (*): 180 dias a 2-8°C.

Meio completo preparado em pratos (*): 30 dias a 2-8°C.

Suplemento liofilizado reconstituído (*): 7 dias a 2-8°C, protegido da luz.

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

APRESENTAÇÃO

Meio desidratado:

Base de Ágar Oxford frasco de 500 g BK110HA

Suplemento seletivo de ágar Oxford (CCCFA):

Caixa de 10 frascos qsp 500mL BS00308

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Curtis G.D.W., Mitchell R.G., King A.F., and Griffin E.J. 1989. A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. Letters in Appl. Microb., 8: 95-98.

Curtis G.D.W., Nichols W.W., and Falla T.J. 1989. Selective agents for *Listeria* can inhibit their growth. Letters in Appl. Microb., 8: 169-172.

Tiwari, N.P. and Aldenrath S.G. 1990. Isolation of *Listeria monocytogenes* from Food Products on Four Selective Plating Media. Journ. of Food Protection, 53: 382-385.

Journal Officiel du 7 Avril 1992. Contrôle microbiologique des produits végétaux ou d'origine végétale. (arrêté du 13 mars 1992).



NF EN ISO 11290-1. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* et *Listeria* spp. - Partie 1: méthode de recherche.

OUTRAS INFORMAÇÕES

As declarações feitas nas etiquetas têm precedência sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: GELOSE OXFORD_FR_V12

Data de criação: 01-2003

Data de revisão: 02-2018

Motivo da revisão: Bibliografia.

ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

Ágar Oxford

Detecção e enumeração de *Listeria*

Leitura:

Crescimento obtido após 48 horas de incubação a 37 °C.

Listeria monocytogenes
Colônia característica:
cor verde oliva com centro preto
em oco cercado por um halo preto.

