

## Finalidade:

Meio de enriquecimento seletivo diferencial para detecção de *Listeria* spp.

## Registro ANVISA:

10097010149

## Apresentação:

510165 - FRASER-CALDO-10mL-TB 16,5X92-CX10TB  
530166 - FRASER-CALDO-1/2 CONC.-225mL-CX 10FR

LB 172219  
Rev. 07 – 09/2024

## 1. INTRODUÇÃO

O caldo Fraser é baseado na formulação de Fraser e Sperber. É um meio utilizado na detecção de *Listeria* em alimentos e amostras ambientais. Este caldo contém suplementos para isolar *Listeria* spp. A peptona, extrato de carne e extrato levedura são fontes necessárias para o crescimento da *Listeria*. O fosfato de sódio e fosfato de potássio são agentes tamponantes. A seletividade é fornecida pelo cloreto de lítio, ácido nalidíxico e acriflavina. O cloreto de sódio de alta concentração inibe o crescimento de Enterococos. Todas as espécies de *Listeria* hidrolisam a esculina, evidenciado por um enegrecimento do meio. Este escurecimento por bactérias hidrolisantes de esculina resulta na formação de 6,7 dihidroxycumarina, que reage com íons férricos que estão presentes no meio, como citrato férrico amoniacal. O caldo ½ concentração é uma modificação do Caldo Fraser em que o ácido nalidíxico e acriflavina foram reduzidos às concentrações pela metade.

## 2. COMPOSIÇÃO

### Cód 510165 - FRASER-CALDO-10mL-TB 16,5X92-CX10TB

Formulação	Concentração/L
Digesto Pancreático de Caseína	5,0g
Digesto Enzimático de Tecido Animal	5,0g
Extrato de Carne	5,0g
Extrato de Levedura	5,0g
Cloreto de Sódio	20,0g
Fosfato Dissódico Dihidratado	12,0g
Fosfato de Potássio	1,35g
Esculina	1,0g
Cloreto de Lítio	3,0g
Ácido Nalidíxico	0,02g
Acriflavina	0,025g
Citrato Férrico Amoniacal	50g
Água deionizada	1L
pH 7,2± 0,2 a 25°C	

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho do produto.

### Cód 530166 - FRASER-CALDO-1/2 CONC.-225mL-CX 10FR

Formulação	Concentração/L
Digesto Pancreático de Caseína	5,0g
Digesto Enzimático de Tecido Animal	5,0g
Extrato de Carne	5,0g
Extrato de Levedura	5,0g
Cloreto de Sódio	20,0g
Fosfato Dissódico Dihidratado	12,0g
Fosfato de Potássio	1,35g
Esculina	1,0g
Cloreto de Lítio	3,0g
Ácido Nalidíxico	0,01g
Acriflavina	0,0125g
Citrato Férrico Amoniacal	50g
Água deionizada	1L
pH 7,2± 0,2 a 25°C	

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho do produto.

## 3. AMOSTRA

### a- Tipos de amostras

- Vários tipos de amostra podem ser inoculados no Caldo Fraser, como por exemplo, amostras de alimentos, ambientais e outros materiais não clínico.

- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.

- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

## 4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

### a- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório os tubos devem ser armazenados em temperatura de 2 a 12°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa ( $\pm 37^\circ\text{C}$ ) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do produto ou expor o produto a contaminações.

### b- Precauções e cuidados especiais

- Produto destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;

- Uso restrito por profissionais;

- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;

- Não inalar ou ingerir;

- Não utilizar tubos com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor;

- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;

- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;

- O procedimento de descarte do produto se baseia na RDC 222 (ANVISA) de 28 de março de 2018, que regulamenta as boas práticas de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde.

- Para acondicionamento do material a ser autoclavado, recomendamos o uso dos sacos para autoclavagem - Detrilab.

- Contate o serviço de vigilância sanitária de sua região para garantir o cumprimento correto da legislação de descarte de produtos potencialmente contaminantes.

## 5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;

- Alça bacteriológica;

- Micropipeta;
- Ponteiras estéreis;
- Bico de Bunsen.

## 6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Retirar da embalagem a quantidade de tubos a ser usada (devolver o restante à geladeira) e colocar os mesmos em estufa bacteriológica a 35-37°C até adquirirem esta temperatura;
- Retirar os tubos da estufa e identificar;
- Semear o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório;
- Incubar por período exigido pela técnica adotada.
- Prosseguir com a técnica.

## 7. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

Os resultados falsamente positivos ou negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Os caldos de enriquecimento não devem ser usados como única fonte de isolamento. Estes devem ser utilizados em conjunto com meios seletivos e não seletivos para aumentar a probabilidade de se isolar os patógenos, especialmente quando presentes em pequenas quantidades.
- O crescimento bacteriano depende de particularidades individuais de cada microrganismo. É, portanto, possível que certas cepas que tenham requisitos específicos (substrato, temperatura, condições de incubação diferenciadas) podem não se desenvolver.
- Tempo diferente do preconizado.
- Incubação por período mais curto (inferior ao período de 24 horas) não se garante a recuperação dos microrganismos alvo e a não seletividade referente à possível flora presente.
- Incubação superior ao preconizado (superior às 26h) pode não garantir a recuperação dos microrganismos alvo e sua consequente inibição.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Técnica de assepsia inadequada.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico.
- Utilização de meios de cultura com aparência alterada.
- Não aguardar para que os materiais atinjam a temperatura ambiente no momento do uso.

## 8. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection*) ou derivadas).

- Controle de qualidade recomendado:

### Cód 510165 - FRASER-CALDO-10mL-TB 16,5X92-CX10TB

Cepas	Resultado esperado	
Produtividade qualitativa - <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	Inóculo ≤ 100 UFC em Caldo Fraser concentração inteira Recuperação >10 colônias quando inoculado em Ágar ALOA	33-37°C/48h
Seletividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Inóculo ≥ 1.000 UFC em Caldo Fraser Concentração Inteira Recuperação: Inibição Total em TSA	33-37°C/48h
Seletividade qualitativa - <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Inóculo ≥ 1.000 UFC em Caldo Fraser Concentração Inteira Recuperação <100 colônias quando inoculado TSA	33-37°C/48h
Meio não inoculado	Meio líquido com coloração âmbar médio, opalescente com um precipitado, que se deposita com o repouso.	

### Cód 530166 - FRASER-CALDO-1/2 CONC.-225mL-CX 10FR

Cepas	Resultado esperado	
Produtividade qualitativa - <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	Inóculo ≤ 100 UFC em Caldo Fraser ½ concentração Recuperação >10 colônias quando inoculado em Ágar ALOA ou PALCALM	33-37°C/48h

Seletividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Inóculo ≥ 1.000 UFC em Caldo Fraser ½ Concentração Recuperação < 10 UFC em TSA	33-37°C/48h
Meio não inoculado	Meio líquido com coloração âmbar médio, opalescente com um precipitado, que se deposita com o repouso.	

### - Periodicidade

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

### - Análise dos resultados

Os tubos de Caldo Fraser testados com cepas padrão devem expressar os resultados esperados. Caso se constate algum problema, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

## 9. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
  - Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
  - Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site [www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br). Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail [sac@laborclin.com.br](mailto:sac@laborclin.com.br). Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

## 10. REFERÊNCIAS

- APHA: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.
- Difco Manual, edition 2009.
- ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1st ed. The International Organization for Standardization, 2014.
- ISO 11290-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: detection method, 1st ed. The International Organization for Standardization, 2017.
- SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2017.



### Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31  
Insc. Estadual 1370012926  
Rua Casimiro de Abreu, 521  
Pinhais/PR CEP 83.321-210  
Telefone (41) 3661-9000  
[www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br)

### Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176  
Serviço de Assessoria ao Cliente  
SAC 0800-0410027  
[sac@laborclin.com.br](mailto:sac@laborclin.com.br)

## ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)