



CALDO FRASER

ENRIQUECIMENTO SELETIVO SECUNDÁRIO PARA *LISTERIA*

USO

O Caldo Fraser é utilizado para o enriquecimento secundário seletivo de *Listeria monocytogenes* e outras listerias em produtos alimentícios, segundo o método padronizado NF EN ISO 11290-1.

HISTÓRIA

O meio, estudado por Fraser *et al.*, em 1988, representa uma modificação da formulação de Donnelly e Baigent. A composição básica, idêntica à do caldo UVM, foi modificada pela adição de cloreto de lítio como agente seletivo e citrato férrico amoniacal para visualizar culturas, hidrolisando a esculina pelo escurecimento no meio.

PRINCÍPIOS

A única diferença na concentração de ácido nalidíxico e acriflavina nos caldos Fraser-demi e Fraser, bem como as duas etapas de enriquecimento, permitem uma recuperação muito satisfatória de *Listeria monocytogenes*. O caldo Fraser é usado para realizar a etapa de enriquecimento secundário.

A polipeptona, o extrato de fermento e o 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 atuam como tampões para manter o pH.

A esculina é hidrolisada pela *Listeria* em glicose e esculetina. Este último composto forma um complexo preto na presença de íons férricos que, fornecidos extemporaneamente pelo citrato de ferro, também promovem o crescimento de *Listeria*.

O cloreto de lítio inibe a maioria dos enterococos, que podem hidrolisar a esculina.

O ácido nalidíxico bloqueia a replicação do DNA de germes sensíveis a esse agente antibacteriano.

A acriflavina suprime o crescimento da microflora gram-positiva secundária.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio completo:

- Digestão enzimática de tecidos animais	5,00 g
- Triptona.....	5,00 g
- Extrato de levedura autolítica	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	20 mg
- Acriflavina (cloridrato).....	25 mg



- Citrato de ferro amoniacal III.....0,50 g

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

Para 55 g de base desidratada BK133

- Digestão enzimática de tecidos animais5,0 g
- Triptona5,0 g
- Extrato de levedura autolítica5,00 g
- Extrato de carne5,00 g
- Cloreto de Sódio.....20,00 g
- Fosfato dissódico anidro *9,60 g
- Fosfato monopotássico.....1,35 g
- Esculina1,00 g
- Cloreto de lítio.....3,00 g

Para 55 g de base desidratada BK115

- Digestão enzimática de tecidos animais5,0 g
- Triptona5,0 g
- Extrato de levedura autolítica5,00 g
- Extrato de carne.....5,00 g
- Cloreto de Sódio20,00 g
- Fosfato dissódico anidro *9,60 g
- Fosfato monopotássico1,35 g
- Esculina1,00 g
- Cloreto de lítio3,00 g
- Ácido nalidíxico20,0 mg
- Cloridrato de acriflavina25 mg

Para um tubo de suplemento líquido BS062 (10 mL)

- Citrato férrico amoniacal (III)0,5 g

Para um frasco de suplemento BS031

- Ácido nalidíxico10,00 mg
- Acriflavina (cloridrato)12,5 mg
- Citrato férrico amoniacal (III).....0,25 g

Para um frasco de suplemento líquido BS059 (90 mL)

- Citrato férrico amoniacal (III).....4,5 g

*NOTA: Equivalente a 12 g de hidrogenofosfato dissódico di-hidratado.

PREPARAÇÃO

Uso de meio base desidratado BK115

- Dissolva 55,0 g de meio de base (BK115) em 1 litro de água destilada ou deionizado.
- Agite lentamente até dissolver completamente.
- Distribua em tubos a uma taxa de 10 mL.
- Esterilize em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfrie à temperatura ambiente.

-
Reconstituição:

55,0 g/L

- Esterilização:
15 min a 121°C



- Adicione 0,1 mL de uma solução estéril de citrato férrico amoniacal a 5% (BS059 ou BS062) a cada tubo de caldo.

Uso de meio base desidratado BK133

- Dissolver 55,0 g de meio de base (BK133) em 1 litro de água destilada ou deionizado.
- Agitar lentamente até dissolver completamente.
- Distribuir em tubos a uma taxa de 10 mL.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar à temperatura ambiente.
- Reconstituir o suplemento liofilizado seletivo Fraser (BS031) com 5 mL de uma solução 1:1 de etanol / água destilada estéril.
- Agitar o frasco várias vezes para garantir a dissolução completa, evitando a formação de espuma.
- Adicionar 0,1 mL de suplemento reconstituído (BS031) a cada tubo de caldo.

-
Reconstituição:

55,0 g/L

- Esterilização:
15 min a 121 °C

INSTRUÇÃO DE USO

- Nos tubos assim preparados, ou em tubos com caldo pronto para usar (BM013), transferir 0,1 mL do caldo de enriquecimento primário obtido.
- Homogeneizar perfeitamente.
- Incubar por 24 ± 2 horas a 37 ± 1 °C.

- Semeando:

0,1 mL em 10
mL

- Incubação:
24h a 37 °C

LEITURA

Repicar todos os tubos no COMPASS *Listeria* Ágar (BM123) e em um segundo meio de sua escolha (PALCAM ou Oxford).

NOTA:

O escurecimento das culturas indica a presença presuntiva de *Listeria*.

Contudo, certas cepas de microrganismos hidrolisam a esculina (enterococos em particular) e também podem causar o escurecimento do meio.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meios desidratados: pós amarelados, fluidos e homogêneos.

Meio preparado (completo): solução amarela âmbar com reflexos azulados.

Resposta de cultura após 48 horas de incubação a 37 °C, em seguida, repique em Ágar COMPASS *Listeria*:



Microrganismos	Crescimento
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b WDCM 00021 + <i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087 + <i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	> 10 colônias características
<i>Listeria monocytogenes</i> ½ a WDCM 00109 + <i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087 + <i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	> 10 colônias características
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087	<100 colônias
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	Inibido

CONSERVAÇÃO

Meio de base desidratado (BK115): 2-30 °C.

Meio de base desidratado (BK133): 2-30 °C.

Solução estéril de citrato férrico amoniacal a 5%: 2-25 °C.

Suplemento seletivo de caldo Fraser: 2-8 °C.

Meio pronto a usar em tubos: 2-8 °C, protegido da luz.

As datas de validade são mencionadas nas etiquetas.

Meio básico preparado BK115 (*): 180 dias a 2-8 °C, protegido da luz.

Meio básico preparado BK133 (*): 180 dias a 2-8 °C.

Meio completo preparado em tubos (*): 1 mês a 2-8 °C, protegido da luz.

Suplemento seletivo BS031 reidratado (*): 30 dias a 2-8 °C, protegido da luz.

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

APRESENTAÇÃO

Meio desidratado com base FRASER (sem citrato amoniacal de ferro III):

Frasco de 500 g BK115HA

Solução de citrato férrico amoniacal estéril a 5%:

Embalagem com 10 frascos de 90 mL BS05908

Saco de 7 tubos de 10 mL BS06208

Meio desidratado FRASER base II (sem citrato amoniacal de ferro III, ácido nalidíxico ou acriflavina):

Frasco de 500 g BK133HA

Balde de 5 kg BK133GC

Suplemento seletivo liofilizado (com citrato amoniacal de ferro III, ácido nalidíxico e acriflavina):

Caixa de 10 frascos qsp 500 mL BS03108



Meio pronto para usar em tubos:

Caixa de 50 tubos de 10 mLBM01308

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture (Tirage 2 (2016-01-01)).

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

COMPASS® é uma marca comercial da SOLABIA SAS

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: BOUILLON FRASER_FR_V14.

Data de criação: 04-2003.

Data de revisão: 05-2018

Motivo da revisão: Fórmula de correção BS062 / BS059