



## 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 ± 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:

<b>Microrganismos</b>		<b>Crescimento em Ágar Oxford</b>
<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 kg ..... BK113GC



#### **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.

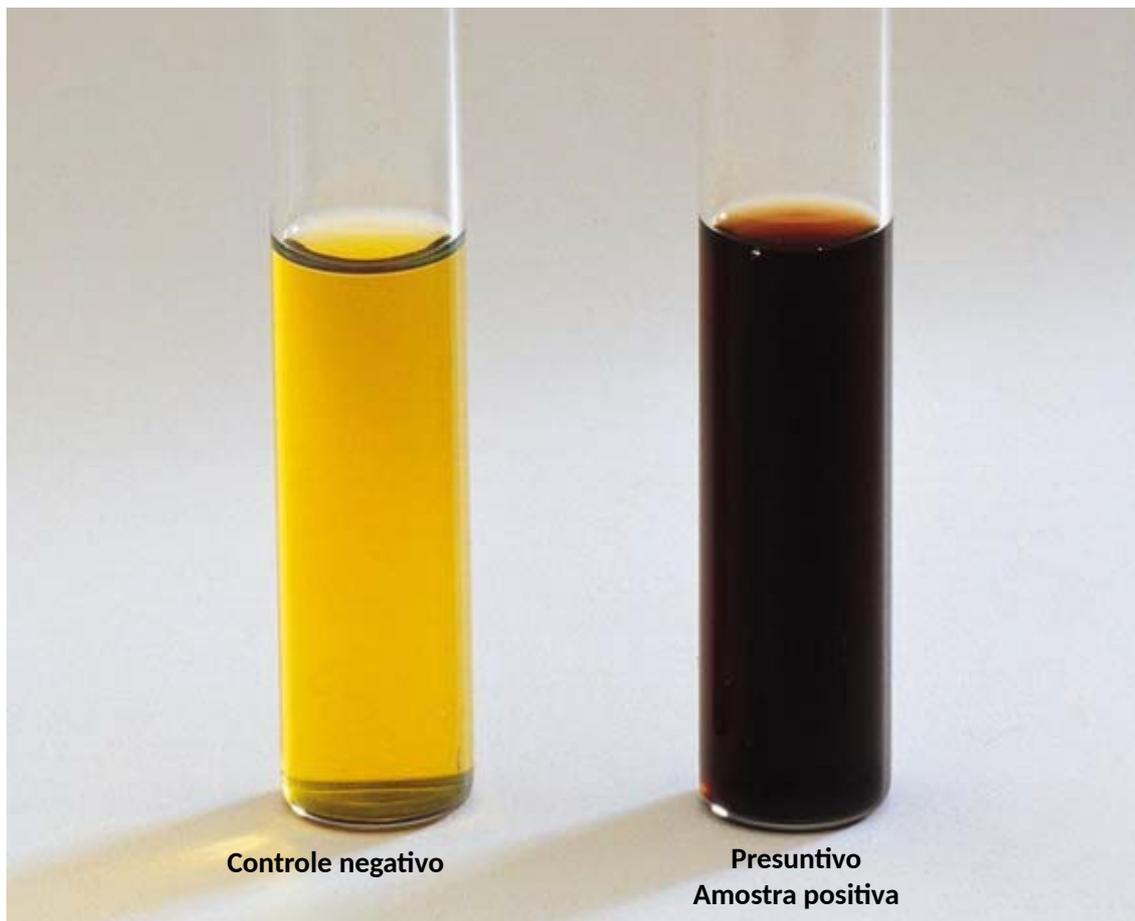
XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2: Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

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.



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.