



## ÁGAR PALCAM

### USO

Ágar PALCAM é um meio seletivo usado para a diferenciação e isolamento de *Listeria monocytogenes* e outras *Listerias* em produtos alimentícios como leite e queijo, bem como em outros alimentos.

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

O ágar PALCAM também pode ser usado como teste de confirmação para *Listeria spp.* no método COMPASS *Listeria*.

### HISTÓRIA

O meio foi formulado por van Netten *et al.*, em 1989, com objetivo de compensar a insuficiente seletividade do meio anteriormente usado para a detecção de *Listerias*. Os estudos foram com base no trabalho de Rodriguez (1984), que primeiro usou esculina e sais férricos para visualizar *Listeria monocytogenes* por seu caráter esculinase-positivo. No entanto, muitos meios seletivos para *Listeria* que continham esculina também permitiu o crescimento de algumas cepas de estreptococos, portanto, o uso de esculina tem se mostrado um benefício limitado. De apoio no trabalho de Rocourt (1987), van Netten suplementou o meio usando D-manitol a fim de diferenciar enterococos (manitol-positivo) de *Listeria* (manitol-negativo). Com base nestes dois princípios e utilizando o método de avaliação ecométrica, os autores demonstraram que a ação combinada de ceftazidima e cloreto de lítio foram mais eficazes do que o obtido com o uso de 2-feniletanol em termos de seletividade. Ágar PALCAM representa um bom compromisso entre meio ALPAMY (van Netten *et al.*, 1988 b) e meio Oxford (Curtis *et al.*, 1989). Os autores mostraram que entre os 13 meios seletivos testados, o ágar PALCAM deu resultados satisfatórios ao produzir colônias típicas da *Listeria*, enquanto inibe quase todas as bactérias contaminantes.

### PRINCÍPIOS

Peptonas e extrato de levedura promovem um excelente crescimento de *Listeria*.

A glicose e o amido são as fontes de energia para o crescimento bacteriano.

O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico.

*Listeria* hidrolisa esculina em glicose e esculina. A esculina produzida forma um complexo preto em presença de íons férricos fornecidos pelo citrato de ferro.

A microflora secundária é inibida pela associação entre cloreto de lítio, ceftazidima, polimixina e acriflavina (corante anti-séptico).

A fermentação do manitol por germes contaminantes que podem crescer é evidenciada pelo volta amarela do vermelho de fenol, possibilitando orientar o diagnóstico.

### COMPOSIÇÃO TÍPICA

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

#### **Para 1 litro de meio completo:**

- Peptona ..... 23,00 g
- Extrato de levedura autolítica ..... 3,00 g
- Glicose ..... 0,50 g



- Amido .....	1,00 g
- D-manitol .....	10,00 g
- Esculina .....	0,80 g
- Citrato férrico amoniacal .....	0,50 g
- Cloreto de Sódio .....	5,00 g
- Cloreto de Lítio .....	15,00 g
- Sulfato de polimixina B .....	10,0 mg
- Ceftazidima .....	20,0 mg
- Acriflavina .....	5,0 mg
- Vermelho de fenol .....	0,08 g
- Ágar bacteriológico .....	10,00 g

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

#### **Para 68,9 g de base desidratada BK145**

- Peptona .....	23,00 g
- Extrato de levedura autolítica.....	3,00 g
- Glicose .....	0,50 g
- Amido .....	1,00 g
- D-manitol .....	10,00 g
- Esculine .....	0,80 g
- Citrato férrico amoniacal .....	0,50 g
- Cloreto de sódio .....	5,00 g
- Cloreto de Lítio .....	15,00 g
- Vermelho de fenol .....	0,08 g
- Ágar bacteriológico.....	10,00 g

#### **Para um frasco de suplemento BS004**

Qsp 500 mL

- Polimixina B (sulfato) .....	5,0 mg
- Ceftazidima .....	10,0 mg
- Acriflavina.....	2,5 mg

#### **Para um frasco de suplemento BS049**

Qsp 2,5 L

- Polimixina B (sulfato) .....	25,0 mg
- Ceftazidima .....	50,0 mg
- Acriflavina .....	12,5 mg

### **PREPARAÇÃO**

- Dissolver 68,9 g de meio de base desidratado (BK145) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada;
- Lentamente, leve o meio para ferver com agitação constante e mantenha-o lá durante o tempo necessário para sua completa dissolução;
- Distribuir em frascos, a uma taxa de 100 mL por frasco;
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos;
- Resfriar e mantenha a 44-47°C;

- Reidratar o suplemento com:



- 5 mL de água estéril qsp 500 mL (BS004);
- 25 mL de água estéril qsp 2,5L (BS049);
- Agitar o frasco de suplemento para garantir a completa dissolução, evitando a formação de espumas.
- Adicionar assepticamente 1 mL de suplemento (BS004 ou BS049) para 100 mL de meio base;
- Homogeneizar perfeitamente;
- Despejar em placas de Petri estéreis;
- Deixar solidificar em uma superfície fria;
- Secar as placas em estufa.

## **MANUAL**

- Efetuar isolamento nas placas pronta usando uma alça em arco, a partir de um caldo de enriquecimento seletivo.
- Incubar a 30, 35 ou 37° C.
- Examinar as placas após 24 horas e, se necessário, após 48 horas, durante presença de colônias características presumivelmente de *L. monocytogenes*.

## **LEITURA**

Após 24 ou 48 horas de incubação, *Listeria* forma colônias verde-oliva com um centro côncavo típico, rodeado por um halo negro. Quando as colônias são confluentes, o meio de cultura fica com uma cor marrom-escura.

O ágar PALCAM é muito seletivo, no entanto, às vezes é possível observar culturas de estafilococos ou enterococos. Esses microrganismos contaminantes fermentam o manitol para produzir colônias amarelas (com um halo amarelo), diferenciando-se facilmente das colônias de *Listeria*.

Veja o ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

## **CONTROLE DE QUALIDADE**

**Meio de base desidratado:** pó creme a rosa e homogêneo.

**Aspecto do liofilizado:** amarelo, dando após reconstituição uma solução amarela transparente.

**Meio preparado (completo):** ágar vermelho.

Resultado da cultura típica após 48 horas de incubação a 37°C (NF EM ISSO 11133)

<b>Microrganismos</b>	<b>Crescimento (Relatório de Produtividade: <math>P_R</math>)</b>
<i>Listeria monocytogenes</i> WDCM 00021	$P_R \geq 50\%$ , colônias características
<i>Listeria monocytogenes</i> WDCM 00020	$P_R \geq 50\%$ , colônias características
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	Inibição
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087	Inibição

## **CONSERVAÇÃO**

**Meio básico desidratado:** 2-30°C.

**Meio completo pré-derramado em placas de Petri:** 2-8°C.

**Suplementos seletivos para ágar PALCAM:** 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 placas, com suplemento (\*)**: 30 dias a 2-8°C.

**Suplemento 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 de base desidratado:**

Frasco de 500 g ..... BK145HA

### **Suplemento de ágar seletivo PALCAM:**

10 frascos qsp 500 mL ..... BS00408

8 frascos qsp 2,5 L ..... BS04908

### **Meio completo pré-derramado em placas de Petri (Ø 90 mm):**

20 caixas ..... BM02008

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

van Netten, P., van de Ven, A., Perales, I., and Mossel D.A.A. 1988. A selective and diagnostic medium for use in the enumeration of *Listeria* spp. in foods. *Int. Jour. of Food Microb.*, 6: 187-198.

van Netten, P., Perales, I., and Mossel, D.A.A. 1988. An improved selective and diagnostic medium for isolation and counting of *Listeria* spp. in heavily contaminated foods. *Letters in Applied Microbiology*, 7: 17-21.

van Netten, P., Perales, I., van de Moosdijk., Curtis G.D.W., and Mossel D.A.A. 1989. Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 8: 299-316.

Bind, J.L. 1991. Mise en évidence et dénombrement des *Listeria* à partir de produits laitiers. *Lait*, 71: 99-105.

Journal Officiel du 7 Avril 1992. Contrôle microbiologique des produits végétaux ou d'origine végétale, 5144. (arrêté du 13 mars 1992).

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**

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 PALCAM\_FR\_V11.

Data de criação: 06-2003

Data de revisão: 03-2020

Motivo da revisão: modificação da cor do pó.

---

**ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICOS**

---

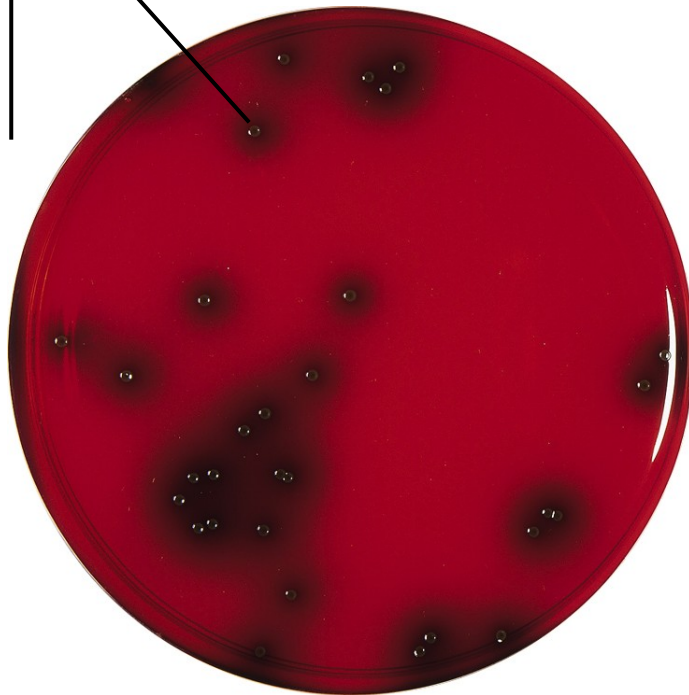
**Ágar PALCAM**

Detecção de *Listeria*.

**Leitura:**

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

***Listeria monocytogenes* e  
outras *Listeria spp.***  
Colônia característica: cor  
verde-oliva com um centro  
côncavo típico, cercado por um  
halo preto



Crescimento obtido por semeadura por punção após 24 horas de incubação a 37°C.

*Listeria monocytogenes* e  
outras *Listeria spp.*  
Presença de um halo negro

