

ÁGAR PALCAM PALCAM AGAR BASE (7669)

Uso Previsto

Ágar PALCAM é utilizado com suplementos como um meio seletivo e diferencial para a detecção e isolamento de *Listeria monocytogenes* em alimentos e amostras ambientais.

Sumário e Explicação do Produto

Listeria monocytogenes foi primeiramente descrita em 1926 por Murray, Webb e Swann e é um problema extensivo na área de saúde pública e indústria alimentícia.¹ Este organismo tem a habilidade de causar doenças em humanos podendo levar à morte, particularmente em indivíduos com o sistema imunológico comprometido.² Evidências provenientes de surtos de listeriose têm indicado que a via principal de transmissão é através do consumo de alimentos contaminados com *Listeria monocytogenes*.³

Ágar PALCAM é baseado na formulação de Van Netten et al.⁴ durante suas investigações no isolamento de *Listeria* spp. em amostras de alimentos. Ágar PALCAM é recomendado pelo AFNOR para a detecção de *Listeria monocytogenes* em alimentos,⁵ pelo Health Canada na análise de alimentos e amostras ambientais e para leite e produtos lácteos pela Federação Internacional de Laticínios.⁷

Princípios do Procedimento

Peptona, Extrato de Levedura e Amido fornecem nitrogênio, vitaminas, minerais e cofatores necessários para o crescimento de *Listeria* spp. Cloreto de Sódio mantém o equilíbrio osmótico do meio. Dextrose é a fonte de carbono. A diferenciação no Ágar PALCAM é baseada na hidrólise da Esculina e fermentação de Manitol. *Listeria* spp. hidrolisam a esculina, reação que aparece como um escurecimento no meio. O escurecimento devido à hidrólise da esculina por bactérias é resultado da formação de 6,7 di-hidroxicumarina, que reage com íons de ferro presentes no meio como Citrato Férrico Amoniacal. Manitol e o indicador de pH Vermelho de Fenol foram adicionados para diferenciar as cepas possivelmente contaminantes fermentadoras de manitol, incluindo, *Enterococcus* e *Staphylococcus*. *Listeria* spp. não fermentam manitol. A fermentação é indicada pela mudança na coloração da colônia e/ou ao redor do meio, de vermelho ou cinza para amarelo, com base na produção de ácido. Polimixina B, Acriflavina, Ceftazidima e Cloreto de Lítio são os agentes seletivos utilizados para oprimir bactérias Gram-negativas e certas bactérias Gram-positivas.

Fórmula / Litro

Peptona.....	23 g
Amido.....	1 g
Cloreto de Sódio	5 g
Extrato de Levedura.....	3 g
Manitol	10 g
Citrato Férrico Amoniacal	0,5 g
Esculina	0,8 g
Dextrose.....	0,5 g
Cloreto de Lítio.....	15 g
Vermelho de Fenol.....	0,08 g
Ágar	13 g

pH Final: 7,2 ± 0,2 a 25°C

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

Suplemento PALCAM / 5 mL (7987)

Polimixina B, 5 mg
Acriflavina, 2,5 mg
Ceftazidima, 10 mg
(Cada frasco suplementa 500 mL)

Precauções

1. Somente para o uso em laboratório.
2. Prejudicial. Prejudicial se ingerido, inalado ou absorvido através da pele. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele. Irritação da pele pode ser severa. Pode afetar o sistema nervoso central.

Modo de Preparo

1. Suspenda 72 g do meio em 1 L de água purificada.
2. Aqueça, agitando frequentemente e ferva por 1 minuto para dissolver completamente o meio.
3. Autoclave a 121°C por 15 minutos. Resfrie a 45–50°C.
4. Adicione assepticamente 10 mL de suplemento PALCAM (# 7987). Um frasco suplementará 500 mL.
5. Dispense em placas de Petri estéreis.

Especificações de Controle de Qualidade

Aparência Desidratado: O pó é homogêneo, fluxo livre e bege com uma leve coloração rosa pálido.

Aparência Preparado: O meio preparado é ligeiramente turvo e vermelho rosado.

Resposta Esperada de Cultivo: Resposta de cultivo no Ágar PALCAM preparado com Suplemento PALCAM e incubado aerobicamente a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e observado para crescimento após 24–48 horas.

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (UFC)	Resultados Esperados
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	~ 10^3	Inibido
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	~ 10^3	Inibido
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC® 7644	10–300	Verde acinzentado com precipitado preto
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC® 19114	10–300	Verde acinzentado com precipitado preto
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC® 19116	10–300	Verde acinzentado com precipitado preto
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	~ 10^3	Inibido

Os organismos listados são os mínimos que devem ser avaliados para o teste de controle de qualidade.

Procedimento do Teste

Vários procedimentos podem ser utilizados para isolar *Listeria monocytogenes* e *Listeria* spp. no Ágar PALCAM. Consulte as referências apropriadas para diretrizes específicas.^{5,6,7,8}

Resultados

Listeria é presuntivamente indicada por colônias verde acinzentadas com um precipitado preto após incubação por 24–48 horas a 35°C no Ágar PALCAM. Consulte as referências para identificação e confirmação completas de *Listeria* spp.^{5,6,7,8} Testes em lâmina e tubos macroscópicos podem ser utilizados para uma identificação sorológica definitiva. Colônias de organismos fermentadores de manitol, tais como, *Staphylococcus*, apresentam colônias amarelas com halo amarelo.

Armazenamento

Armazene o frasco contendo o meio desidratado devidamente fechado entre 2–30°C. Uma vez aberto e fechado novamente, coloque o frasco em um ambiente de baixa umidade e na mesma temperatura de armazenamento. Proteja contra a umidade e luz mantendo o frasco firmemente fechado.

Validade

Refira-se à data de validade no frasco. O meio desidratado deve ser descartado se não fluir livremente ou se houver mudança na coloração original. A validade se aplica ao meio em sua embalagem intacta quando armazenado como indicado.

Limitações do Procedimento

Devido à variação nutricional, algumas cepas podem apresentar um crescimento fraco ou ausência de crescimento neste meio.

Embalagem

Ágar PALCAM

Nº Código

7669A

500 g

7669B

2 kg

7669C

10 kg

Suplemento PALCAM

7987

5 mL

Referências

1. **Murray, E. G. D., R. A. Webb, and M. B. R. Swann.** 1926. A disease of rabbits characterized by large mononuclear leucocytosis caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes*. J. Path. Bacteriol. **29**:407-439.
2. **Monk, J. D., R. S. Clavero, L. R. Beuchat, M. P. Doyle, and R. E. Brackett.** 1994. Irradiation inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in low and high fat, frozen and refrigerated ground beef. J. Food Prot. **57**:969-974.
3. **Bremer, P. J., and C. M. Osborne.** 1995. Thermal-death times of *Listeria monocytogenes* in green shell mussels prepared for hot smoking. J. Food Prot. **58**:604-608.
4. **Grau, F. H., and P. B. Vanderlinde.** 1992. Occurrence, numbers, and growth of *Listeria monocytogenes* on some vacuum-packaged processed meats. J. Food Prot. **55**:4-7.
5. **Van Netten, P., I. Perales, A. Van de moosalijk, G. D. W. Curtis, and D. A. A. Mossel.** 1989. Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. Int. J. of Food Microbiol. **8**:299-317.
6. **L'association française de normalisation (AFNOR).** 1993. Food Microbiology-Detection of *Listeria monocytogenes*-Routine Method, V 08-055. AFNOR, Paris, France.
7. **Farber, J. M., D. W. Warburton, and T. Babiuk.** 1994. Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food and environmental samples. Health Protection Branch Ottawa, MFHPB-30. Polyscience Publications, Quebec, Canada.
8. **International Dairy Federation.** 1990. Milk and milk products – Detection of *Listeria monocytogenes*. IDF Provisional International Standard no. 143. International Dairy Federation, Brussels.

Informação Técnica

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.

Contate a Acumedia Manufacturers, Inc. para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone +1 (517)372-9200 ou fax +1 (517)372-2006.