

Fraser/Bouillon Fraser-Demi/Bouillon

355-4569 / 356-4604
356-4615 / 356-4616
355-5797 / 355-5794

DOMAINE D'APPLICATION

Bouillons sélectifs pour l'enrichissement primaire (Fraser 1/2) et secondaire (Fraser) des *Listeria* spp. lors de leur recherche dans les produits alimentaires.

REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

- **MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS**
- **NF EN ISO 11290-1/A 1 (Février 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria Monocytogenes* - Méthode de recherche (IC : V08-028-1).
- **NF EN ISO 11290-2/A1 (Février 2005)** : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria Monocytogenes* - Méthode de dénombrement (IC : V08-028-2).

PRINCIPE

Les bouillons Fraser sont utilisés comme bouillon d'enrichissement primaire (Fraser1/2) et secondaire (Fraser) pour la recherche des *Listeria* spp. dans les produits alimentaires.

Ces bouillons sont rendus inhibiteurs vis-à-vis de la flore "non-*Listeria*" par l'action conjuguée du chlorure de lithium, de l'acriflavine et de l'acide nalidixique.

Ces deux bouillons sont légèrement tamponnés de manière à ralentir l'acidification (flore acidifiante), qui est néfaste au développement des *Listeria* spp.

Après enrichissement (primaire ou secondaire), la présence de *Listeria* spp. se traduit par le virage du bouillon du jaune au brun foncé (hydrolyse de l'esculine).

Cependant, ce virage n'est pas systématique et il est impératif d'effectuer un isolement sur milieu sélectif (A.L., PALCAM et/ou OXFORD ou RAPID'*L.mono*) de manière à s'assurer de la présence ou de l'absence de *Listeria* spp.

PRESENTATION

FRASER 1/2

- Prêt à l'emploi (complet)
 - 225 ml x 6 flacons **code 355-5797**
 - 3 l x 4 poches **code 355-5794**
- Déshydraté (base)
 - 500 g **code 356-4604**

- Supplément sélectif lyophilisé **code 356-4616**
Coffret de 10 flacons
(1 flacon qsp 2,25 l de base)

FRASER

- Prêt à l'emploi (complet)
 - 10 ml x 25 tubes **code 355-4569**
- Déshydraté (base)
 - 500 g **code 356-4604**
- Supplément sélectif lyophilisé **code 356-4615**
Coffret de 10 flacons
(1 flacon qsp 500 ml de base)

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : + 2 - 8 °C à l'obscurité jusqu'à la date d'expiration et jusqu'à 3 semaines à +15-25°C à l'abri de la lumière.
- Déshydraté : + 15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec.
- Supplément sélectif lyophilisé : + 2-8 °C à l'obscurité.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Milieu de base

Peptone	5 g
Tryptone	5 g
Extrait de levure	5 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	20 g
Hydrogénophosphate disodique dihydraté	12 g
Dihydrogénophosphate de potassium	1,35 g
Esculine	1 g
Chlorure de lithium	3 g
Eau distillée	1000 ml
pH (25°C) final = 7,2 ± 0,2	

Supplément sélectif Fraser 1/2

Chlorhydrate d'acriflavine	12,5mg
Acide nalidixique	10 mg
Citrate de fer III ammoniacal	500 mg

Supplément sélectif Fraser

Chlorhydrate d'acriflavine	25 mg
Acide nalidixique	20 mg
Citrate de fer III ammoniacal	500 mg

Fraser & Fraser-Demi/Bouillon

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Eau distillée
- Eau distillée et éthanol pour la préparation du supplément sélectif.

MATERIEL NECESSAIRE (NON FOURNI) (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Pipettes stériles
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de $\pm 1^\circ\text{C}$
- Agitateur de type Vortex
- Autoclave

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE Toujours agiter avant chaque utilisation

Bouillon Fraser 1/2

• Base déshydraté

Dissoudre 129,2 grammes de poudre (**code 356-4604**) dans 2,25 l d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Répartir à raison de 225 ml par flacon. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Refroidir à température ambiante avant addition du supplément sélectif.

• Supplément lyophilisé

Reconstituer aseptiquement un flacon de supplément sélectif Fraser 1/2 (**code 356-4616**) par 22,5 ml d'un mélange 1 : 1 eau/éthanol stérile.

• Milieu complet

Ajouter 2,25 ml du supplément sélectif reconstitué aux 225 ml de bouillon de base autoclavé et refroidi entre 44° et 47°C . Bien mélanger.

Taux de reconstitution : 57,4 g/l

500 g de poudre permet de préparer 8,7 litres de base de Fraser.

Bouillon de Fraser

• Base déshydraté

Dissoudre 28,7 grammes de poudre (**code 356-4604**) dans 500 ml d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Répartir en tubes à vis à raison de 10 ml par tube. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Refroidir à température ambiante avant addition du supplément sélectif.

• Supplément lyophilisé

Reconstituer aseptiquement un flacon de supplément sélectif Fraser (**code 356-4615**) par 5 ml d'un mélange 1/1 eau/éthanol stérile.

• Milieu complet

Ajouter pour chaque tube de bouillon de base préalablement refroidi entre 44° et 47°C , 0,1 ml du supplément sélectif reconstitué.

PROTOCOLE

Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Enrichissement

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

Pour la recherche de *Listeria* spp. dans 25 g (ou 25 ml) d'échantillon.

- Enrichissement primaire.

Peser aseptiquement 25 g d'échantillon à analyser et ajouter 225 ml de bouillon complet Fraser 1/2.

Incuber pendant 24 heures ± 2 h à 30°C .

- Enrichissement secondaire

Transférer 0,1 ml de la culture issue de l'enrichissement primaire dans un tube de 10 ml de bouillon Fraser complet.

Incuber à 35 ou $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 48 heures ± 2 h.

• Isolement des *Listeria* spp.

- A partir de l'enrichissement primaire, après 24 heures ± 2 h d'incubation du bouillon de Fraser 1/2, ensemercer - avec une anse à partir de la culture - la surface d'une gélose A.L., PALCAM, OXFORD ou Rapid'*L. mono*.

- A partir de l'enrichissement secondaire, après 48 h ± 2 h d'incubation du bouillon de Fraser, ensemercer - avec une anse à partir de la culture - la surface d'une gélose A.L., PALCAM OXFORD ou RAPID'*L. mono*.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Le milieu peut présenter un aspect blanchâtre sur les parois.

Il conserve cependant toutes ses qualités, cet aspect disparaît après agitation.

- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

Fraser & Fraser-Demi/Bouillon

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Culture 48 h à 37 °C
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b ATCC 13932	> 10 col. sur Oxford ou Palcam
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibition sur TSA
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	< 100 col. sur TSA

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Fraser / Listeria / Produits Alimentaires / Enrichissement / Recherche / Bouillon.

BIBLIOGRAPHIE

- **CURTIS G.D.W., MITCHELL R.G., KING A.F. and GRIFFIN E.J. (1989)** : Letters in Applied Microbiology. 8: 95-98.
- **CURTIS G.D.W., NICHOLS W.W. and FALLA T.J. (1989)**: Letters in Applied Microbiology. 8: 169-172.
- **LOVETT J., FRANCIS D.W. and HUNT J.M. (1987)**: Journal of Food Protection. 50: 188-192
- **PRENTICE G.A. and NEAVES P. (1988)** Bulletin of the International Dairy Federation. 223.
- **VAN NETTEN P., VAN DE VEN A., PERALES I. and MOSSEL D.A.A. (1988)**: International Journal of Food Microbiology. 6: 187-198.