

Especificación

Suplemento selectivo para el aislamiento de *Listeria* en muestras de alimentos.

Presentación

10 Viales liofilizados	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
Vial con: 6 ± 0.1 g	1 caja con 10 viales de vidrio de 23x60 mm, con tapón de plástico. Etiquetados.	49 meses	2-25 °C

Composición

Composición (g/vial)

Cicloheximida.....	0.2000
Colistina sulfato.....	0.0100
Acriflavina.....	0.0025
Cefotetan.....	0.0010
Fosfomicina, sal sódica.....	0.0050

Nota: cada vial es cantidad suficiente para suplementar 500 ml de Agar Base Oxford.

Reconstituir el vial con:

Disolvente estéril (50% Etanol/ agua) 9 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

El Suplemento selectivo para *Listeria* (Oxford) se añade a la base de agar Oxford con el fin de obtener un medio selectivo para la detección de *Listeria monocytogenes* a partir de muestras clínicas y de alimentos .
Listeria monocytogenes juega un papel importante en las enfermedades humanas y animales y las fuentes de infección son numerosas. La adición de este suplemento que proporciona los antibióticos acriflavina, colistina sulfato, cefotetán, cicloheximida y fosfomicina, facilita la eliminación de la flora acompañante.
Las colonias de *Listeria monocytogenes* se diferencian porque hidrolizan la esculina, produciendo una coloración negra a su alrededor. Las bacterias Gram negativas quedan completamente inhibidas y también la mayor parte de las especies Gram positivas no deseadas. Algunas cepas de enterococos crecen pobremente y exhiben una reacción esculina débil, normalmente después de las 40h de incubación. Algunos estafilococos pueden crecer, pero son esculina negativos.

Técnica:

Recoger, diluir y preparar muestras y volúmenes según sea necesario de acuerdo a las especificaciones, directrices, normas estándares oficiales y/o resultados esperados.

Reconstituir el vial con 9 ml de disolvente estéril (50% Etanol:agua) en condiciones asépticas y agregarlo a 500 ml de la Agar base Oxford previamente reconstituido y atemperado 50 °C.

No calentar una vez suplementado.

Verter el medio completo en placas de Petri y aislar con un método convencional por aislamiento en estría o espiral.

Incubar las placas en atmósfera aerobia a 37 ± 1 ° C durante 44 ± 4h

Los tiempos de incubación pueden variar según las muestras y las normativas a seguir.

Después de la incubación, enumerar todas las colonias que han crecido sobre la superficie del agar en las que se observe cualquier oscurecimiento del medio debido a la hidrólisis de esculina, típica de las cepas de *Listeria* .

El aislamiento presuntivo de *Listeria* debe ser confirmado por más pruebas microbiológicas y bioquímicas.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Amarillo - anaranjado pH: a 25°C

Control de Fertilidad

Rehidratar 1 vial como se indica en COMPOSITION; agitar y disolver completamente.

Añadir 1 vial a 500 ml de medio base. NO CALENTAR una vez suplementado.

Inocular 30-300 UFC (Productividad) 1.000-10.000 UFC (Selectividad)

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Distribuir el medio completo, una vez enfriado a 50 °C, en placas de 90 mm

Incubar según instrucciones del medio completo indicado en la COMPOSICIÓN.

Aerobiosis. Incubación a 37 ± 1 °C, lectura a las 24/44 ± 4 h

Microorganismo

L. monocytogenes ATCC® 13932, WDCM 00021

Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013

Enterococcus faecalis ATCC® 29212, WDCM 00087

L. monocytogenes ATCC® 35152, WDCM 00109

Desarrollo

Bueno - Esculina Positivo

Inhibido

Inhibido

Bueno - Esculina Positivo

Control de Esterilidad

Añadir 5 mL de muestra a 100 mL de TSB y a 100 mL de Tioglicolato.

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

Bibliografía

- ATLAS, R.M. (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. Boca Raton. Florida.
- CURTIS, G.D, R.G. MITCHELL, A.F. KING & E.J. GRIFFIN (1989) A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. Letters Appl. Microbiol. 8:95-98.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 11290 standard (1996) Microbiology of food and animal feeding stuff. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Part 1 - Detection method. Part 2 - Enumeration method.
- ISO 11290-1:2017 Standard. Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and for *Listeria* spp.- Part 1: Detection Method
- ISO 11290-2:2017 Standard. Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and for *Listeria* spp.- Part 2: Enumeration Method
- VANDERZANT, C. & D.F. SPLITTSTOESSER (1992) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA. Washington DC.
- UNE-EN ISO 11133 (2014). Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua.-Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo.