

Especificación

Suplemento selectivo para el aislamiento de *Listeria spp.*

Presentación

10 Viales liofilizados
Vial
con: 3 ± 0.1 g

Encajado

1 caja con 10 viales de vidrio de 23x60 mm, con tapón de plástico. Etiquetados.

Caducidad

49 meses

Almacenamiento

2-25 °C

Composición

Composición (g/vial)

Polimixina B..... 0.0050
Acriflavina.....0.0025
Ceftazidima..... 0.0100

NOTA: cada vial es suficiente para suplementar 500 ml de Listeria Palcam Agar.

Reconstituir el vial con:

Agua destilada estéril.....6 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

El suplemento selectivo de *Listeria s.* PALCAM se añade al Agar Base PALCAM con el fin de obtener un medio selectivo completo que se utiliza para la detección y el aislamiento de *Listeria monocytogenes* a partir de alimentos.

El Palcam Agar se basa en la fórmula descrita inicialmente por van Netten y cols., que reúne una alta selectividad y una buena diferenciación colonial. La selectividad se logra con la inclusión del cloruro de litio, la acriflavina, la polimixina B y la cefotaxima que reprimen el crecimiento de casi todas las bacterias Gram negativas y la mayoría de las Gram positivas acompañantes. Las *Listeria* hidrolizan la esculina a esculetina, que reacciona con el citrato férrico amónico produciendo un precipitado oscuro, que tiñe las colonias de color verde-grisáceo con halos parduscos. Las colonias de enterococos o estafilococos que puedan superar la alta selectividad de este medio son fácilmente diferenciables, ya que al utilizar el manitol dan colonias y halos amarillos, que contrastan muy bien con el color rojo cereza del medio sin crecimiento. Sin embargo, cuando las colonias de *Listeria* son muy numerosas, el oscurecimiento general del medio puede dificultar esta diferenciación. En estos casos es recomendable una siembra más diluida.

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 6 ml de Agua destilada estéril en condiciones asépticas y agregarlo a 500 ml de Agar base PALCAM, previamente esterilizado y atemperado a 50 °C. No caliente una vez suplementado.

Verter el medio completo en placas de Petri y, una vez solidificada sobre una superficie plana, inocular por el método de aislamiento en estría, o bien por el método de aislamiento en espiral.

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

Los tiempos de incubación pueden variar según la muestra, y las especificaciones.

Después de la incubación, enumerar todas las colonias que han aparecido sobre la superficie del agar, la observación de cualquier oscurecimiento del medio debido a la hidrólisis de esculina, es característica de las cepas de *Listeria*.

Aislamiento presuntivo de *Listeria sp.* debe ser confirmado con más pruebas microbiológicas y bioquímicas.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico in vitro. No reutilizar. Para uso por parte de personal de laboratorio debidamente formado.

No utilizar el producto si muestra evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, agrietamiento o cualquier otro signo de deterioro.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : 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.

Aislamiento por siembra con estría

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

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

Control microbiológico según versión vigente de la norma ISO 11133:2014/A1:2018.

Microorganismo

L. monocytogenes ATCC® 13932, WDCM 00021

Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013

Enterococcus faecalis ATCC® 29212, WDCM 00087

L. monocytogenes ATCC® 7644

Desarrollo

Bueno - Esculina Positivo

Inhibido

Inhibido

Bueno - Esculina Positivo

Control de Esterilidad

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.

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

Bibliografía

- ATLAS, R.M. (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press Boca Raton Florida.
- 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
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- VANDERZANT, C. & D.F. SPLITTSTOESSER (1992) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA. Washington DC.
- Van NETTEN, P., J. PERALES, A.van deMOOSDUCK, G.D.W. CURTIS & D.A.A. MOSSEL (1989) Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol. 8:299-316.