

Especificación

Suplemento selectivo para aislamiento de especies de *Listeria monocytogenes*. formulado según ISO 11290-1 and 2:1996 Amd 2004.

Presentación

10 Viales liofilizados

Encajado

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

Caducidad

49 meses

Almacenamiento

2-25 °C

con: 3 ± 0.1 g

Composición

Composición (g/vial)

Polymixina B..... 38350 IU
Cicloheximida..... 0,025
Ceftazidima..... 0,010
Acido Nalidixico..... 0,010

Nota: cada vial es suficiente para suplementar 470 ml de Agar Base para *Listeria* según Ottaviani y Agosti.

Reconstituir el vial liofilizado original en:

Agua destilada estéril..... 6 ml

Descripción/TécnicaDescripción:

Una vez reconstituido con todos los suplementos, el Agar *Listeria* según Ottaviani & Agosti es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento de *Listeria* spp. y la identificación presuntiva de *L. monocytogenes*.

La selectividad la proporciona el cloruro de litio junto con la mezcla de antibióticos antibacterianos y antifúngicos. La actividad diferencial se debe al glucósido cromogénico como sustrato para la detección de la β -glucosidasa, que presentan todas las especies de *Listeria*.

La diferenciación específica se consigue con el L- α -fosfatidilinositol que funciona como sustrato de la fosfolipasa C, enzima que solo está presente en *L. monocytogenes* y algunas cepas de *L. ivanovii*.

La combinación de ambos sustratos permite diferenciar las colonias de *L. monocytogenes*, que producen unas colonias de color verde-azulado con un halo opaco, de las otras especies de *Listeria*, que crecen con colonias azul-verdosas pero sin formar halo. Esta diferenciación se consigue tras una incubación de 24 ± 2 horas a 37 °C. Si la muestra está muy contaminada por una biota mixta pueden aparecer colonias resistentes de color blanco que no son de *Listeria*. En estos casos es recomendable un enriquecimiento previo al pase a la placa.

Observaciones: La mayoría de *Listeria ivanovii* también producen un halo opaco alrededor de las colonias después de 48 h de incubación. Esta evidencia presuntiva debe ser confirmada realizando las pruebas de identificación bioquímicas o serológicas (fermentación azúcares Ramnosa/Xilosa, pruebas de hemólisis, test de CAMP, etc.) o cualquier prueba que confirme la especie sin dudar.

Técnica:

Añadir 1 frasco de Suplemento enriquecedor Ottaviani & Agosti (L-alfa-fosfatidilinositol - 24ml) y 1 vial de Suplemento selectivo Ottaviani & Agosti para completar 500ml del medio. Homogeneizar la mezcla y distribuir en placas. El medio solidificado queda homogéneamente turbio..

Se remite al técnico a cualquiera de los métodos oficiales establecidos (ISO, BAM-FDA, AOAC, AFNOR, etc) o a los protocolos validados en su laboratorio.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Blanco

pH: a 25°C

Control de Fertilidad

Siembra en Espiral: rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad) / 10⁴-10⁶ UFC para Selectividad.

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

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

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

Microorganismo

Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013

Enterococcus faecalis ATCC® 29212, WDCM 00087

L. monocytogenes ATCC® 13932, WDCM 00021

Listeria innocua ATCC® 33090, WDCM 00017

L. monocytogenes ATCC® 35152, WDCM 00109

Desarrollo

Inhibido

Inhibido

Bueno - Colonias azules con halo blanco

Bueno - Colonias azules sin halo blanco

Bueno - Colonias azules con halo blanco

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.

Bibliografía

- Artault, S., j.L. Bind, Y. Delaval, N. Dureuil, N. Gallart (2000) AFNOR validation of the ALOA method for the detection of *Listeria monocytogenes* in foodstuffs. Coll. Soc. Fran. Microbiol. 19-20 Oct. Paris.
- Bannerman, E.S. & J. Bille (1988) A new selective medium for isolating *Listeria* from heavily contaminated material. Appl.m Environm. Microbiol. 54:1:165-167.
- Greenwood, M., C. Willis, P. Dosweell, G. Allen & K. Pathak (2005) Evaluation of chromogenic media for the detection of *Listeria* species in food.
- Hitchins, A.D. & K. Jinneman (1998) *Listeria monocytogenes* in FDA-BAM 8th edition Revision A. Updater January 2003. AOAC Intl. Gathersburg. MD. USA.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- 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
- Jantzen, M.M., J. Navas, M. de Paz, B. Rodriguez, W.P. da Silva & M. Nuñez (2006) Evaluation of ALOA plating medium for its suitability to recover high pressure-injured *Listeria monocytogenes* from ground chicken meat. Letters Appl. Microbiol 43:313-317
- Manafi, M. W. Kneifel & S. Bascomb (1991) Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiol Rev. 55:3:335-348
- Ottaviani, F., M. Ottaviani & M. Agosti (1997) Esperienza su un agar salettivo e differenziale per *Listeria monocytogenes*. Industrie Alimentari 36:1-3
- Victor Lachica, R. (1990) Selective plating medium for quantitative recovery of food-borne *Listeria monocytogenes*. Appl. Environm. Microbiol. 56:1:167-169
- Watkins, J. & K.P. Sleath (1981) Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes* from sewage, sewage sludge and river water. J. Appl. Bacteriol. 50:1-9
- 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.