

## Especificación

Medio cromogénico para el aislamiento de *Listeria ssp.* y la identificación presuntiva de *L. monocytogenes*.

## Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
120 Placas 90 mm con: 21 ± 2 ml	1 caja con 12 paquetes de 10 placas, envueltas por bolsa de celofán.	3 meses	2-14 °C

## Composición

Composición (g/l):

Peptona de carne.....	18,000
Peptona de caseína.....	6,000
Extracto de levadura.....	10,000
Piruvato sódico.....	2,000
Glucosa.....	2,000
Glicero-fosfato magnésico.....	1,000
Sulfato magnésico.....	0,500
Cloruro sódico.....	5,000
Cloruro de litio.....	10,000
Hidrógeno fosfato disódico (anhydr.)	2,500
BCl glucopiranoside.....	0,050
Ácido nalidíxico.....	0,020
Ceftazidima.....	0,020
Polimixina B.....	76.700 UI
Cicloheximida.....	0,050
Fosfatidil-Inositol.....	2,000
Agar.....	12,000

## Descripción/Técnica

### Descripción:

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  $\beta$ -glucosidasa, que presentan todas las especies de *Listeria*.

La diferenciación específica se consigue con el L- $\alpha$ -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 dudarlo.

### Técnica:

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.

Incubar las placas en la estufa en posición invertida a 37°C durante un periodo de 24- 48h.

Los resultados obtenidos se interpretan :

*L.monocytogenes* - Colonias azul-verdosas con halo opaco

*L.innocua* - Colonias azul-verdosas sin halo opaco

otras bacterias - Incoloras, completamente inhibidas.

## Control de Calidad

### Control Físico/Químico

Color : Amarillento

pH: 7,2 ± 0,2 a 25°C

### Control de Fertilidad

Siembra en Espiral: rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad) / 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> 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**

*L. monocytogenes* ATCC® 13932, WDCM 00021

*Listeria innocua* ATCC® 33090, WDCM 00017

*Enterococcus faecalis* ATCC® 29212, WDCM 00087

*Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013

*L. monocytogenes* ATCC® 35152, WDCM 00109

#### **Desarrollo**

Bueno (≥ 50 %) - Colonias verdeazulado con halo opaco

Bueno - Colonias azules sin halo blanco

Inhibido

Inhibido

Bueno (≥ 50 %) - Colonias verdeazulado con halo opaco

### 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.