

Especificación

Caldo para enriquecimiento de *Listeria monocytogenes* según normas ISO.

Presentación

20 Tubos
Tubo 16 x 113 mm
con: 10 ± 0.3 ml

Encajado

1 caja con 20 Tubos de 16 X 113 mm con tapón metálico- no pinchable y rotulados .

Caducidad Almacenamiento

12 meses 2-25 °C

Composición

Composición (g/l):

Peptona de carne.....	5.000
Peptona de Caseína.....	5.000
Extracto de levadura.....	5.000
Extracto de carne.....	5.000
Cloruro Sódico	20.00
Hidrogenofosfato disódico.....	12.00
Dihidrogenofosfato potásico.....	1.350
Esculina.....	1.000
Cloruro de litio.....	3.000
Citrato ferrico amónico.....	0.500
Ac.Nalidixico.....	0.020
Clorhidrato de acriflavina.....	0.025

Descripción/Técnica

Descripción:

Este caldo basal para el enriquecimiento de *Listeria* corresponde a las modificaciones de Fraser y Sparber al medio UVM, que posteriormente fueron adoptadas por el Servicio de Inspección y Seguridad de los Alimentos del Departamento de Agricultura de los EUA (USDA-FSIS). La incorporación del cloruro de litio inhibe el desarrollo de *Enterococcus* que también pueden hidrolizar la esculina, al igual que todas las especies de *Listeria*. De esta forma cualquier oscurecimiento del medio, producida por la reacción de la esculina resultante de la hidrólisis de la esculina con el hierro presente en el medio se puede interpretar como una presencia presuntiva de *Listeria*. Además parece que el citrato férrico amónico favorece el desarrollo de *L. monocytogenes*.

Técnica:

La metodología de uso que se describe en el ISO 11290, es la recomendada.

Aunque algunos autores utilizan el Caldo Fraser como único enriquecimiento, se ha verificado que se obtienen mejores resultados cuando se emplea como enriquecimiento secundario, de acuerdo a la siguiente metodología:

- Inocular la muestra en examen en un caldo de enriquecimiento primario, p. ej. UVM I o el Caldo Lovett e incubar durante 18-24 horas.
 - Tomar alícuotas de 0,1 mL de este enriquecimiento primario, sembrarlas en porciones de 10 mL de Caldo Fraser, e incubarlas durante 24 ± 2 horas.
 - Los tubos que se ennegrezcan o simplemente se oscurezcan se considerarán presuntamente positivos y deberán ser sub-cultivados sobre medios sólidos para el aislamiento y confirmación, p. ej. Oxford Agar, Palcam Agar ó selectivo listeria según Ottaviani & Agosti. Los tubos sin oscurecimiento se consideran negativos y pueden desestimarse o continuar incubándose por otras 24 horas adicionales en caso de duda.
- Según las normativas utilizadas, o las muestras a analizar, puede aplicarse distintos tiempos o temperaturas de incubación.

Nota: La posible presencia de precipitados en el medio es normal y no afecta el correcto funcionamiento del medio.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Marrón-amarillento pH: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad) /10⁴-10⁶ (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 24 ± 2h

Microorganismo

Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012 (1)

Enterococcus faecalis ATCC® 19433, WDCM 00009 (2)

Listeria monocytogenes ATCC® 13932 + (1) + (2)

Listeria monocytogenes ATCC® 35152 + (1) + (2)

Desarrollo

Inhibido. Confirmado en TSA a 37°C±1 lectura 24 ± 3h.

Inhibición parcial. Confirmado en TSA a 37°C±1 lectura 24 ± 3h.

> 10 UFC. Coln. azul-verdoso. Halo opaco (A. Ottaviani Agosti)

> 10 UFC. Coln. azul-verdoso. Halo opaco (A. Ottaviani Agosti)

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

- ATLAS, R.M. (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. Boca Raton. Florida.
- FRASER, J.A. & W.H. SPERBER (1988) Rapid detection of *Listeria* spp. In food and environmental samples by esculin hydrolysis. J. Food Prot. 51:762-765.
- 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.
- McCLAIN, D. & W.H. LEE (1988) Development of a USDA-FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. J.AOAC 71:660-664.
- VANDERZANT, C & D.F. SPLITTSTOESSER (1992) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA. Washington. DC.