

Especificación

Medio de cultivo líquido para el enriquecimiento y detección de *Listeria spp.*, de acuerdo a las normas ISO.

Fórmula * en g/L

Peptona de soja.....	5,000	Fosfato disódico (Anhi.).....	9,600
Peptona de caseína.....	5,000	Fosfato monopotásico (Anhi.).....	1,350
Extracto de carne.....	5,000	Cloruro de litio.....	3,000
Extracto de levadura.....	5,000		
Cloruro sódico.....	20,000		
Esculina.....	1,000		

pH final a 25 °C, 7,2 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Disolver el polvo en 30 L de agua destilada. Distribuir a razón de 500 mL por recipiente y esterilizar al autoclave, a 121°C durante 15 minutos. Enfriar hasta 50°C, añadir asepticamente, a cada fracción de 500 mL, un único vial de Suplemento Selectivo para Enriquecimiento Secundario de *Listeria* Fraser Ref. DSHB3049. Mezclar bien. Para obtener el Caldo Half Fraser deben añadirse 1 vial de la Ref. DSHB3050 Suplemento Selectivo Half Fraser a 225 mL de medio base, ya que las únicas concentraciones que se reducen a la mitad son las de la acriflavina y el ácido nalidíxico.

Nota: Una vez completado el medio (caldo + suplemento) debe mantenerse protegido de la luz, por que favorece la formación de fotocomplejos oxidados de la acriflavina que pueden inhibir el crecimiento de *Listeria*.

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 esculetina 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*.

Suplementos disponibles:

Suplemento Selectivo *Listeria* Fraser (Ref. DSHB3049)

Contenido por vial:

Cantidad necesaria para 500 mL de medio completo.

Acido nalidíxico, sal sódica.....	10,00 mg
Acriflavina.....	12,50 mg
Citrato férrico amónico.....	250,00 mg
Agua destilada (Disolvente)	

Suplemento Selectivo *Listeria* Half Fraser (Ref. DSHB3050)

Contenido por vial:

Cantidad necesaria para 225 mL de medio completo.

Acido nalidíxico, sal sódica.....	2,25 mg
Acriflavina.....	2,80 mg
Citrato férrico amónico.....	112,50 mg
Agua destilada (Disolvente)	

Técnica

Proceder de acuerdo a las normativas vigente ISO 11290 para el control de muestras de alimentos.

Control de calidad

Temperatura de incubación: 37 °C ± 1.0

Tiempo de incubación : 25 ± 1 h

Inóculo: Rango práctico 100 ± 20 UFC ; Min. 50 UFC (Productividad) / 10⁴-10⁶ UFC (Selectividad) según UNE-EN ISO 11133:2014/Amd 1:2018.

Microorganismo

Escherichia coli ATCC® 8739 (1)
Enterococcus faecalis ATCC® 19433 (2)
Listeria monocytogenes ATCC® 13932
Listeria monocytogenes ATCC® 35152
Listeria monocytogenes ATCC® 13932

Crecimiento

Inhibición
 Inhibición parcial
 Bueno
 Bueno
 Bueno

Observaciones

con antibiotico / recuperación en TSA
 con antibiotico / <100 UFC en TSA
 > 10 UFC *Listeria* en A. *Listeria* Ottaviani Agostini
 > 10 UFC *Listeria* en A. *Listeria* Ottaviani Agostini
 >10 Exp. 7 ufc/ml (100 ufc/ml)

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.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco y seco (entre 4°C y 30 °C).