

Especificación

Suplemento selectivo para el enriquecimiento de *Listeria* según la ISO 11290-1:2006.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Viales liofilizados Vial con: 6 ± 0.1 g	1 caja con 10 viales de vidrio de 22±0,25 x 55±0,5 mm, con tapón de plástico. Etiquetados.	49 meses	2-25 °C

Composición

Composición (g/vial)

Ácido nalidixico, sal sódica.....	0.0050
Acriflavina.....	0.0062
Citrato férrico amónico.....	0.2500

Reconstituir con :

Agua destilada estéril..... 6 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

El Suplemento Selectivo de *Listeria* Half Fraser (Cat. 6002) se agrega al medio Base del Caldo de Enriquecimiento de *Listeria* (Cat. 1120) para crear el Caldo Half Fraser.

Se recomienda para la detección de *Listeria spp.* en productos alimenticios y en muestras del medio ambiente. Todas las especies de *Listeria* hidrolizan la esculina a esculétin, que reacciona con los iones de hierro produciendo un ennegrecimiento del medio. Otra ventaja de este medio es que la adición de citrato de amonio hierro (III) mejora el crecimiento de *L. monocytogenes*. El cloruro de litio incluido en el medio, junto con el ácido nalidixico y la acriflavina del suplemento, inhiben el crecimiento de la flora acompañante, que puede hidrolizar la esculina. La gran cantidad de cloruro de sodio inhibe el crecimiento de enterococos.

Técnica:

Reconstituya asépticamente 1 vial con 6 ml de agua destilada estéril. Mezclar suavemente hasta su completa disolución. Añadir asépticamente el contenido del vial a 500 ml de *Listeria* Enrichment Broth Base (Cat. 1120) esterilizado en autoclave y enfriado a 50°C. Mezclar bien y distribuir en recipientes esterilizados.

Instrucciones de uso:

»Para el diagnóstico clínico, el tipo de muestra es líquido amniótico.

- Inocular 0,1 ml del cultivo del 1/2 Fraser Broth incubado (independientemente de su color) en 10 ml de Fraser Broth. Incubar a 37 ° C durante 24 ± 2 horas en condiciones aeróbicas.
- Plaqueado e identificación: A partir del cultivo de enriquecimiento primario, se inocula *Listeria* Chromogenic Agar Base según Ottaviani y Agosti (Cat. 1345) y el otro medio selectivo de laboratorio para obtener colonias bien separadas.

A partir del cultivo de enriquecimiento secundario, se repite el procedimiento, inoculando la *Listeria* Chromogenic Agar Base según Ottaviani y Agosti y el otro medio selectivo.

Para la base de agar cromogénico de *Listeria* según Ottaviani y Agosti, incube durante un total de 48 ± 2 h.

- Confirmación: Seleccionar colonias presuntivas y realizar pruebas de confirmación para *L. monocytogenes* o *Listeria spp.*

»Para otros usos no cubiertos por el marcado CE:

Dección y enumeración de *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp.* según ISO 11290:

- Enriquecimiento primario: Pesar 25 g (o 25 ml) de la muestra y añadir 225 ml de *Listeria* Enrichment Broth Base Fraser (Cat. 1120) con el Half Fraser *Listeria* Selective Supplement (Cat. 6002) añadido. Homogeneizar e incubar a 30 ° C durante 25 ± 1 horas.

- Enriquecimiento secundario: Inocular 0,1 ml del medio incubado anteriormente (independientemente de su color) en 10 ml de *Listeria* Enrichment Broth Base Fraser con el Suplemento Selectivo para *Listeria* Fraser (Cat. 6001) añadido. Incubar a 37 ° C durante 24 ± 2 horas en condiciones aeróbicas.

- Deposición e identificación: A partir del cultivo de enriquecimiento primario, inocular la base de Agar Chromogenic *Listeria* acc. a Ottaviani y Agosti (Cat. 1345) y el otro medio selectivo del laboratorio, para obtener colonias bien separadas.

Del cultivo de enriquecimiento secundario, repetir el procedimiento, inocular la superficie de la base de agar cromogénico de *Listeria* según Ottaviani y Agosti y el otro medio selectivo.

Para *Listeria* Agar según Ottaviani y Agosti incubar durante un total de 48 ± 2 h.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Naranja Oscuro - Marrón - Ocre pH: a 25°C

Control de Fertilidad

Dosificar tubos- Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad).

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

Aerobiosis. Incubación a 30 ± 1 °C. Lectura a 24 ± 2 h.

Microorganismo

Escherichia coli ATCC® 8739 (1)

Enterococcus faecalis ATCC® 19433 (2)

Listeria monocytogenes ATCC® 13932, WDCM 00021 + (1) + (2)

Listeria monocytogenes ATCC® 35152, WDCM 00109 + (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 24 h a 30-35 °C y 72 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO.

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. JAOAC 71:660-664.
- VANDERZANT, C & D.F. SPLITTSTOESSER (1992) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA. Washington. DC.