

Base de Agar para Listeria Palcam ISO

Cat. 1141

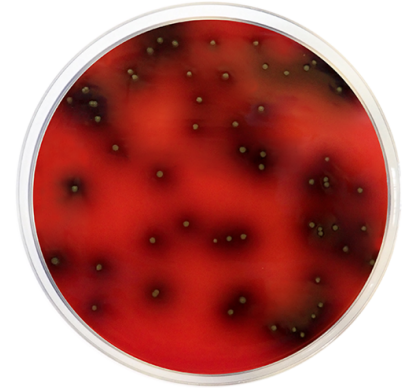
Medio selectivo y diferencial para la detección de *Listeria* spp, particularmente *Listeria monocytogenes*.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Aislamiento selectivo	Listeria

Industria: Clínica / Alimentación

Regulaciones: ISO 11290



Principios y usos

La Base de Agar para Listeria Palcam, utilizada con suplementos, es un medio selectivo y diferencial para *Listeria* spp. Está recomendado por la norma ISO 11290 para la detección y enumeración de *Listeria monocytogenes* en productos alimenticios y muestras clínicas, y también se puede utilizar para muestras ambientales.

Se emplea después de una etapa de enriquecimiento primario y secundario, utilizando el Caldo de Enriquecimiento para Listeria (Cat.1120). Permite un fácil diagnóstico diferencial de *Listeria monocytogenes* utilizando un indicador de doble sistema: Esculina/Hierro y Manitol/Rojo fenol. Todas las especies de *Listeria* hidrolizan la esculina a esculina, que reacciona con los iones hierro produciendo un ennegrecimiento del medio.

El cloruro de litio incluido en el medio, junto con la ceftazidima, el Sulfato de polimixina B y la acriflavina del suplemento, inhiben el crecimiento de las bacterias acompañantes presentes en los alimentos y que pueden hidrolizar la esculina. Las peptonas y el almidón de maíz proporcionan una base rica en nutrientes para el crecimiento. El extracto de levadura es fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. La glucosa es el carbohidrato fermentable. El citrato de amonio férrico mejora el crecimiento de *L. monocytogenes*.

El sistema de diferenciación Manitol/Rojo fenol se utiliza para diferenciar *Listeria* spp, que no fermentan manitol, de otras especies que ocasionalmente crecen en el medio como enterococos o estafilococos. La diferenciación se logra mediante el aumento de la acidez del medio, lo que hace que el indicador de rojo fenol cambie el color del medio de rojo a amarillo. La confirmación de *Listeria* se realiza mediante pruebas de identificación bioquímica y serológica.

Fórmula en g/L

Glucosa	0,5	Agar bacteriológico	10
Esculina	0,8	Citrato de amonio férrico	0,5
Fécula de maíz	1	Manitol	10
Peptona	23	Rojo fenol	0,08
Cloruro sódico	5	Extracto de levadura	3
Cloruro de litio	15		

Preparación

Suspender 34,4 gramos del medio en 500 ml de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento con agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar a 45-50 °C y agregar asépticamente un vial de Suplemento Selectivo para Listeria Palcam (Cat. 6004), previamente reconstituido en 5 ml de agua destilada estéril. Homogeneizar suavemente y dispensar en placas de Petri.

Instrucciones de uso

- Para diagnóstico clínico, el tipo de muestra es líquido amniótico.
- Inocular en superficie. Estrías paralelas con el asa o hisopo.
 - Incubar en condiciones aeróbicas a 35±2 °C durante 24-48 horas.
 - Lectura e interpretación de los resultados.

Para la detección y enumeración de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. según la ISO 11290:

Enriquecimiento primario:

- Pesar 25 g (o 25 ml) de la muestra y agregar 225 ml de Caldo *Listeria* 1/2 Fraser (Cat. 1120 + Cat. 6002). Homogeneizar e incubar a 30 °C durante 25±1 h.

Enriquecimiento secundario:

- Inocular 0,1 ml de cultivo del Caldo *Listeria* 1/2 Fraser incubado (independientemente de su color) en 10 ml de Caldo *Listeria* Fraser (Cat. 1120 + Cat. 6001).

Incubar a 37 °C durante 24±2 horas en condiciones aeróbicas.

Plaqueo e identificación:

- Del cultivo de enriquecimiento primario se inocula la superficie de Agar *Listeria* según Ottaviani y Agosti (Cat. 1345), para obtener colonias bien separadas.
- A partir del cultivo de enriquecimiento secundario, se repite el procedimiento, inocular la superficie del Agar *Listeria* de acuerdo con Ottaviani y Agosti, el Agar para *Listeria* Palcam (Cat. 1141) y otro medio como el Agar Oxford (Cat. 1133)
- Para Agar *Listeria* según Ottaviani y Agosti incubar durante un total de 48±2 h.
- Para Agar *Listeria* Palcam incubar a 35±2 °C durante 24-48 h.
- Para Agar Oxford incubar a 35±2 °C durante 24-48 h.

Confirmación:

- Seleccione las colonias presuntivas y lleve a cabo las pruebas de confirmación para *L. monocytogenes* o *Listeria* spp.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Rojo	7,2±0,2

Test microbiológico

Según la ISO 11133:

Condiciones de incubación: (35±2 °C / 24-48 h).

Condiciones de inoculación: Productividad cuantitativa (100±20. Min. 50 CFU) / Selectividad (10⁴-10⁶ CFU) / Especificidad (10³-10⁴ CFU).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b ATCC 13932	Buen crecimiento (2) >50%	Colonias verdes grisáceas con el centro negro y un halo negro.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibición total (0)	
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090		Colonias verdes grisáceas con el centro negro y un halo negro.
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a ATCC 35152	Buen crecimiento (2) >50%	Colonias verdes grisáceas con el centro negro y un halo negro.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Inhibición total (0)	

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C

Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

- ISO NORMATIVE 11290-2: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* -- Part 2: Enumeration method.
- Van Netten, P., I. Perales A. Van de Moosalijk G.D.W. Curtis and DAA Mossel 1989 Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. Int. J. of Food Microbiol 8: 299-317.
- Farber JMDW Warburton and T. Babiuk, 1994 Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food and environmental samples.