Base de Caldo Listeria 1/2 Fraser ISO

Cat. 1183

Medio de enriquecimiento para la detección y enumeración de Listeria en muestras de alimentos y medioambientales

Información práctica

Aplicaciones	Categorias
Enriquecimiento selectivo	Listeria

Industria: Clínica / Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 11290

CE IVD

Principios y usos

Base de Caldo Listeria 1/2 Fraser es una modificación de Listeria Fraser Broth Base (Cat. 1182) en la cual las concentraciones de ácido nalidíxico y acriflavina se han reducido a 10 mg/L y 12,5 mg/L respectivamente. Los antibióticos ya están incluidos en la fórmula por lo que solo es necesario agregar el Suplemento de citrato de amonio férrico.

Listeria spp. puede estar presente en pequeñas cantidades y a menudo va acompañado de un número considerablemente mayor de otros microorganismos, por lo tanto, es necesario un enriquecimiento selectivo. El caldo Listeria 1/2 Fraser se utiliza en este enriquecimiento selectivo y en la enumeración de Listeria monocytogenes y otras especies de Listeria en todos los tipos de alimentos, incluidos la leche y los productos lácteos, y las muestras ambientales. Esta fórmula está descrita en la ISO 11290-1.

El digerido enzimático de la caseína, el digerido enzimático de los tejidos animales y el extracto de carne proporcionan nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es la fuente de vitaminas, particularmente del grupo B. Los fosfatos de potasio actúan como un sistema tampón. Todas las especies de Listeria hidrolizan la esculina, que reacciona con los iones férricos produciendo un ennegrecimiento del medio. La adición de citrato de amonio férrico mejora el crecimiento de Listeria monocytogenes. El cloruro de litio inhibe el crecimiento de enterococos que pueden hidrolizar la esculina.

Fórmula en g/L

Digerido enzimático de caseína	5	Esculina	1
Extracto de carne	5	Ácido nalidíxico	0,01
Dihidrogenofosfato de potasio	1,35	Cloruro sódico	20
Extracto de levadura	5	Digerido enzimático de tejido animal	5
Cloruro de litio	3	Hidrógeno fosfato disódico dihidratado	12
Clorhidrato de acriflavina	0,0125		

Preparación

Suspender 28,7 gramos del medio en 500 ml de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta disolver por completo. Esterilizar en autoclave a 121 ºC durante 15 minutos. Enfriar a 45-50 ºC y agregar asépticamente un vial de Suplemento de citrato de amonio férrico (Cat. 6050), previamente reconstituido en 5 ml de agua destilada estéril. Homogenizar suavemente y dispensar en envases estériles.

Instrucciones de uso

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

- Inocular los tubos de Caldo 1/2 Fraser.
- Incubar a 30 °C durante 24±2 horas en condiciones aeróbicas.

» Para otros usos no amparados por el marcado CE:

Detección 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 Base de Caldo Listeria ½ Fraser (Cat. 1183) junto con el Suplemento Citrato Ferroamónico (Cat. 6050). Homogeneizar e incubar a 30 °C durante 25±1 horas.

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

- Enriquecimiento secundario: Inocular 0,1 ml del medio anterior incubado (independientemente de su color) en 10 ml de Caldo Fraser (Cat. 1182). 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) y el otro medio selectivo a elección del laboratorio, 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 y el otro medio selectivo.
Para Agar Listeria según Ottaviani y Agosti incubar durante un total de 48±2 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 (25ºC)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar	7,2 ± 0,2

Test microbiológico

De acuerdo a ISO 11133:
Condiciones de incubación: Productividad y Selectividad (30±1 ºC / 25±1 h)
Condiciones de inoculación: Microorganismos objetivo (<100 CFU) / Microorganismo no objetivo (> 1000 CFU) / Selectividad (10^4-10^6 CFU).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibición total en TSA	
Enterococcus faecalis ATCC 29212	<100 colonias en TSA	
Listeria monocytogenes ATCC 13932 + Escherichia coli ATCC 25922 + Enterococccus faecalis ATCC 29212	> 10 colonias en Agar Listeria de acuerdo a Ottaviani y Agosti	Colonias azul verdosas con halo opaco
Listeria monocytogenes ATCC 35152 + Escherichia coli ATCC 25922 + Enterococccus faecalis ATCC 29212	> 10 colonias en Agar Listeria de acuerdo a Ottaviani y Agosti	Colonias azul verdosas con halo opaco

Almacenamiento

Temp. Min.:2 ºC
Temp. Max.:25 ºC

Bibliografía

Fraser. J.A and Sperber W.H (1988) McClain D. and Lee W.H (1988)
ISO 11290 Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes.

DOMINIQUE DUTSCHER SAS