

CHROMagar™ **Listeria**

Instructions For Use

Available in several languages

NT-EXT-009

Version **9.1**

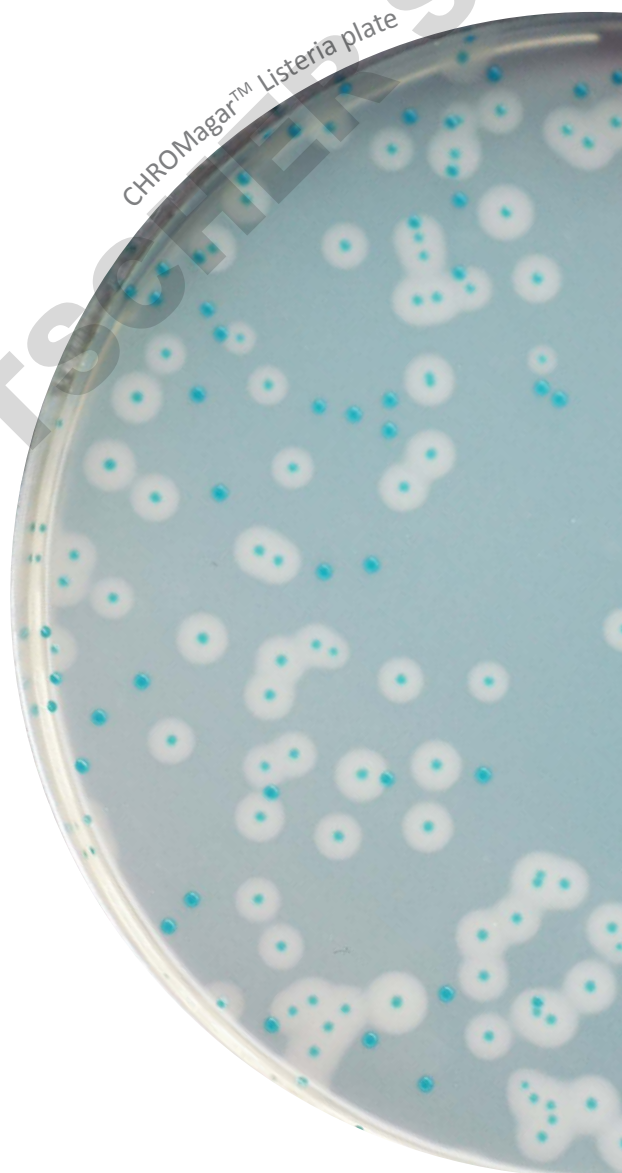
Click below for:

ENGLISH

FRANCAIS

ESPAÑOL

DEUTSCH



MEDIUM PURPOSE

Chromogenic medium for detection, isolation and enumeration of *L. monocytogenes*

Listeria monocytogenes is a widespread bacteria, present in the soil, sewage or faecal matter. Its ability to form listerial biofilms on contact surfaces makes it difficult to eliminate. This pathogen can cause serious food poisoning and is therefore frequently a microbial Q.C. target in food processing facilities to avoid food contamination. Contamination can occur at all steps of the food manufacturing chain from raw materials to place of consumption.

COMPOSITION

The product is composed of a powder base (B) and a supplement (S).

Product	=	Base (B)	+	Supplement (S)
Total g/L		51.5 g/L		9.0 g/L
Composition g/L		Agar 15.0 Peptone and yeast extract 23.0 NaCl 5.0 Chromogenic mix 8.5		Selective and enrichment mix 9.0
Aspect		Powder Form		Powder Form
STORAGE		2/30 °C		2/8 °C
FINAL MEDIA pH		7.0 +/- 0.5		

Typical Samples

e.g. meat samples, dairy products, vegetables, sea-food and environmental.

PREPARATION (Calculation for 1 L)

Step 1

Preparation of the base
CHROMagar™
Listeria base (B)

- Disperse slowly 51.5 g of powder base in 1 L of purified water.
- Stir until agar is well thickened.
- Heat to 121 °C +/- 1 °C for 15 minutes.
- Cool in a water bath to 45-50 °C +/- 2 °C.

Step 2

Preparation of the
CHROMagar™
Listeria supplement (S)

- Add 9 g to 40 mL of STERILE purified water.
- Add a magnetic bar and stir at high speed (700-1000 rpm) at least 30 minutes WITHOUT HEATING until getting a creamy homogeneous suspension as below:

Final Media HELPING CALCULATION

- 1 L --> Add 9 g of supplement in 40 mL of sterile water
- 5 L --> Add 45 g of supplement in 200 mL of sterile water

STAGE 1:

Possible Presence of grains on the surface of the vial and in the mix



Aspect at this step:

- Liquid with undissolved grains

-->

STAGE 2: Formation of white dense foam on the surface and rise of foam



Aspect at this step:

- Dense/compact foam (SURFACE)
- Foamy Mix

-->

STAGE 3: Less dense/compact Foam, more creamy mix



Aspect at this step:

- No Rise of Foam
- More ventilated foam
- Liquid

-->

STAGE 4:

VERY GOOD MIX



Aspect at this step:

- Homogeneous
- Fluid (liquid)
- Without grains No Foam

GOOD PREPARATION

Step 3

Mixing of the prepared base (B) and the prepared supplement (S)

- Place the melted 45-50 °C cooled CHROMagar™ *Listeria* base under gentle stirring.
- Add the homogeneous reconstituted supplement, keeping the gentle stirring during 1 or 2 minutes until complete homogenisation.
- Pour IMMEDIATELY into sterile Petri dishes.

Warning: DO NOT STACK THE PETRI DISHES

- Let them cool down. Let dry.

Storage

- Store in the dark before use.
- Prepared media plates can be kept for one day at room temperature.
- Plates can be stored for up to one month under refrigeration (2/8 °C) if properly prepared and protected from light and dehydration.

INOCULATION

Please refer to Part **Procedures**

- If the agar plate has been refrigerated, allow to warm to room temperature before inoculation.

Collection and transport of the samples should be well handled and adapted to the particular specimen according to good laboratory practices.

PROCEDURES

CHROMagar™ Listeria Method

• **For the Detection of Presence / Absence of *L. monocytogenes* in all human food products and environmental samples.**
(Refer to Illustration 1)

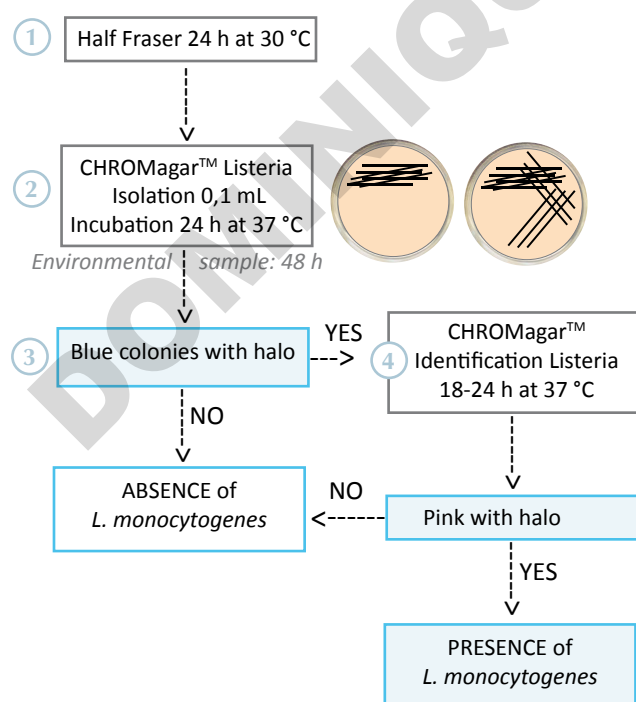
- 1 Perform an enrichment step of the sample, mixing $\underline{x}$ g or $\underline{x}$ mL in 9 $\underline{x}$ Fraser 1/2 broth
→ 24 h +/- 2 h at 30 °C +/- 1 °C
- 2 Spread 0,1 mL on a well dried CHROMagar™ Listeria plate, by streaking on 1/3 of the plate until liquid is adsorbed. Isolate on the rest of the plate and incubate.
→ 24 h +/- 2 h at 37 °C +/- 1 °C
- 3 Typical colonies:
NO → Absence of *L. monocytogenes*
YES → All samples identified as positive by the alternative method must be confirmed in one of the following ways:
1/ using the conventional tests described in the standardized methods by CEN or ISO (including the purification step).
2/ with the CHROMagar™ Identification Listeria directly from the suspect colony without step purification.
- 4

In the event of discordant results (positive presumptive by the alternative method, non-confirmed by one of the means described above) the laboratory must follow the necessary steps to ensure validity of the result obtained.

Test portions weighing more than 25 g have not been tested.

For environmental samples, typical colonies should be absent after 24 h, incubate for additional 24 h +/- 2 h.

Illustration 1: Detection Method



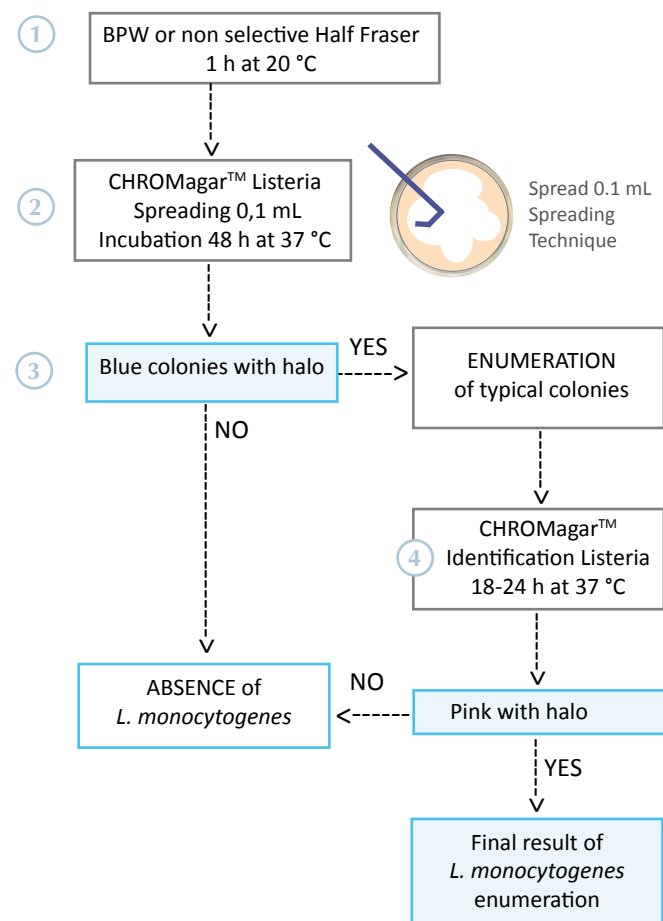
CHROMagar™ Listeria enumeration Method

• **For Enumeration of *L. monocytogenes* in all human food products and environmental samples.** (Refer to Illustration 2)

- 1 Perform a revivication step to the sample and mix $\underline{x}$ g or $\underline{x}$ mL in 9 $\underline{x}$ BPW or non selective half Fraser broth
→ 1 h +/- 5 min at 20 °C +/- 1 °C
- 2 Spread 0,1 mL on one well dried CHROMagar™ Listeria plate (in case of estimation of small numbers spread 1 mL on 3 plates) and incubate.
→ 48 h +/- 2 h at 37 °C +/- 1 °C
A first reading at 24 h allows a more rapid detection of heavily contaminated samples. However the final result count is reached after 48 h +/- 2 h. Refer to ISO 7218 standard for calculation and interpretation of results. The spread of a single dilution may present a risk of gap counts compared to the reference method.
- 3 Typical colonies:
NO → Absence of *L. monocytogenes*
YES → Enumerate and confirm a colony directly from CHROMagar™ Listeria. If you do not confirm 5 colonies counting, it can create a risk of making a overestimated result because of the possible presence of typical colonies that would not be *L. monocytogenes*. If confirmation has already been done during the detection phase with the CHROMagar™ Listeria method, a new confirmation is not necessary after the CHROMagar™ Listeria enumeration method. Otherwise, all samples identified as positive by the alternative method must be confirmed in one of the following ways:
1/ using the conventional tests described in the standardized methods by CEN or ISO (including the purification step).
2/ with the CHROMagar™ Identification Listeria directly from the suspect colony without step purification.
- 4

In the event of discordant results (positive presumptive by the alternative method, non-confirmed by one of the means described above) the laboratory must follow the necessary steps to ensure validity of the result obtained.

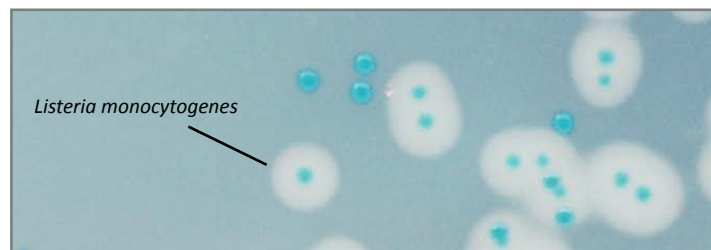
Illustration 2: Enumeration Method



INTERPRETATION

Microorganism	Typical colony appearance
<i>L. monocytogenes</i>	→ blue, diameter less than 3 mm, regular and white halo
Other microorganisms	→ blue, colourless, other colour, inhibited

Typical colony appearance on CHROMagar *Listeria*



The pictures shown are not contractual.

PERFORMANCE & LIMITATIONS

• Some strains of *L. ivanovii* may also give blue colonies with white halo distinguished during identification. The species *L. ivanovii* is rarely found in food. Some strains of *B. cereus* can also grow as blue colonies. They can easily be distinguished from colonies of *L. monocytogenes* as they are much larger with an irregular edge to the colony and very large white halo.

QUALITY CONTROL

Please perform Quality Control according to the use of the medium and the local QC regulations and norms. Good preparation of the medium can be tested, isolating the ATCC strains below:

Microorganism	Typical colony appearance
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 13932 = WDCM 00021	→ blue with halo
<i>L. innocua</i> = ATCC® 33091*	→ blue without halo
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ inhibited
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ inhibited

WDCM : World Data Center for Microorganism World Federation for Culture Collection

WARNINGS

- Do not use plates if they show any evidence of contamination or any sign of deterioration.
- Do not use the product beyond its expiry date or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.
- For Laboratory use. This laboratory product should be used only by trained personnel in compliance with good laboratory practices.
- Any change or modification in the procedure may affect the results.
- Any change or modification of the required storage temperature may affect the performance of the product.
- Unappropriate storage may affect the shelf life of the product.
- Recap the bottles/vials tightly after each preparation and keep them in a low humidity environment, protected from moisture and light.
- For a good microbial detection: collection and transport of specimen should be well handled and adapted to the particular specimen according to good laboratory practices.

DISPOSAL OF WASTE

After use, all plates and any other contaminated materials must be sterilized or disposed of by appropriate internal procedures and in accordance with local legislations. Plates can be destroyed by autoclaving at 121 °C for at least 20 minutes.

REFERENCES

Please refer to our website page «Publications» for scientific publications about this particular product.

Web link: <http://www.chromagar.com/publication.php>

IFU/LABEL INDEX

	Catalogue reference
	Consult instructions for use
	Quantity of powder sufficient for X liters of media
	Expiry date
	Required storage temperature
	Store away from humidity
	Protect from light
	Manufacturer

Need some Technical Documents?

Available for download on www.CHROMagar.com

- Certificate of Analysis (CoA) --> One per Lot
- Material Safety Data Sheet (MSDS)

Pack Size

Ordering References

Base (B)

Supplement (S)

5000 mL 250 Tests of 20 mL =

LM852

=

LM852(B)
Weight: 257.5 g

+

LM852(S)
Weight: 45 g

NT-EXT-009 V9.1 / 06-May-24

CHROMagar is a trademark created by Dr A. Rambach

ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection .

OBJECTIF DU MILIEU

Milieu chromogénique pour la détection, l'isolation et le dénombrement de *L. monocytogenes*

Listeria monocytogenes est une bactérie largement répandue, présente dans la terre, les eaux usées ou les matières fécales. Sa capacité à former des biofilms listériels sur les surfaces de contact la rend difficile à éliminer. Ce pathogène peut causer de sérieux empoisonnements alimentaires et c'est pour cela qu'il est fréquemment une cible des contrôles qualité microbiens dans les process alimentaires pour éviter les contaminations alimentaires. La contamination peut arriver à toutes étapes de la chaîne alimentaire, des matières premières au lieu de consommation des aliments.

COMPOSITION

Le produit est composé d'une base poudre (B) et d'un supplément (S).

Produit	=	Base (B)	+	Supplément (S)
Total g/L		51,5 g/L		9,0 g/L
Composition g/L		Agar 15,0 Peptone et extraits de levure 23,0 NaCl 5,0 Mix Chromogénique 8,5		Mix sélectif et enrichissement 9,0
Aspect		En Poudre		En Poudre
STOCKAGE		2/30 °C		2/8 °C
pH DU MILIEU FINAL		7,0 +/- 0,5		

Échantillons typiques

échantillons de viande,
produits laitiers, légumes,
fruits de mer et environne-
mentaux

PRÉPARATION (Calcul pour préparer 1 L)

Étape 1

Préparation de la base
CHROMagar™
Listeria (B)

- Ajouter 51,5 g de base dans 1 L d'eau purifiée.
- Disperser la poudre doucement dans l'eau en effectuant des rotations pour bien gonfler le milieu
- Chauffer à 121 °C +/- 1 °C pour 15 minutes.
- Refroidir dans un bain d'eau à 45-50 °C +/- 2 °C.

Étape 2

Préparation du
supplément
CHROMagar™
Listeria (S)

- Ajouter 9 g aux 40 mL d'eau purifiée stérile.
- Ajouter une barre magnétique et remuer à haute vitesse (700-1000 rpm) au moins 30 minutes SANS CHAUFFER jusqu'à obtenir une suspension crémeuse et homogène, voir ci-dessous:

Milieu
Final
1 L -->

AIDE AUX CALCULS

Ajouter 9 g de supplément
dans 40 mL d'eau stérile

5 L -->

Ajouter 45 g de supplé-
ment dans 200 mL d'eau
stérile

ÉTAPE 1:

Présence possible de
grains sur la surface du
mélange et sur la fiole

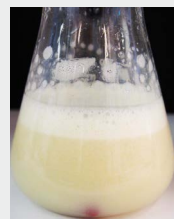


Aspect à cette étape:

- Liquide avec des grains non dissous

-->

ÉTAPE 2: Formation
d'une mousse sur la
surface et montée de
mousse



Aspect à cette étape:

- Mousse Dense/Com-
pacte (SURFACE)
- Mélange mousseux

-->

ÉTAPE 3: Mousse Moins
dense-compacte, plus
crémeux

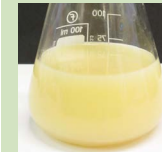


Aspect à cette étape:

- Pas de montée
de mousse
- Mousse plus ventilée
- Liquide

-->

ÉTAPE 4: Très bon mélange



Aspect à cette étape:

- Homogène
- Fluide (liquide)
- Mousse sans grains

Bonne préparation

Étape 3

Mélange de la base
préparée (B) avec le
supplément préparé (S)

- Mettre le CHROMagar™ *Listeria* base, fondu et ramené à 45-50 °C, en agitation douce.
 - Y ajouter le supplément homogène reconstitué, en continuant l'agitation 1-2 min jusqu'à homogénéisation complète.
 - Couler IMMEDIATEMENT dans des boîtes de Petri stériles.
- Attention: NE PAS SUPERPOSER LES BOÎTES.**
- Laissez-les se refroidir et sécher.

Stockage

- Conserver à l'obscurité.
- Les boîtes préparées peuvent être conservées une journée à température ambiante.
- Les boîtes préparées peuvent être conservées jusqu'à 1 mois à 2/8 °C si elles ont été bien préparées et protégées de la lumière et de la déshydratation.

INOCULATION

Merci de référer à la partie **Procédures**

- Si la boîte préparée a été réfrigérée, la réchauffer à température ambiante avant inoculation.

PROCÉDURES

Méthode CHROMagar™ Listeria

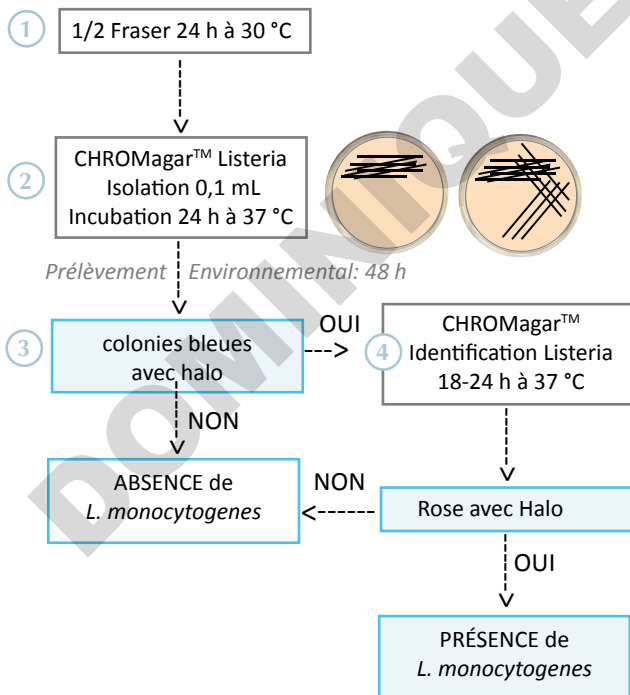
• Pour la Recherche des *L. monocytogenes* dans tous produits d'alimentation humaine et échantillons d'environnement. (Schéma 1)

- 1 Faire une étape d'enrichissement de l'échantillon, mixant $\underline{x}$ g ou $\underline{x}$ mL dans $9 \times 1/2$ bouillon Fraser
→ 24 h +/- 2 h à 30 °C +/- 1 °C
- 2 Isoler 0,1 mL sur des boîtes bien sèches de CHROMagar™ Listeria, par va et vient sur 1/3 de la boîte jusqu'à absorption du liquide, puis isoler sur le reste de la boîte et incubé.
→ 24 h +/- 2 h à 37 °C +/- 1 °C
- 3 Colonies typiques:
NON → Absence de *L. monocytogenes*
OUI → Tous les résultats positifs doivent être confirmés de l'une des manières suivantes :
1/ mise en œuvre des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN, l'ISO (en incluant l'étape de purification)
2/ avec le CHROMagar™ Identification Listeria directement à partir de la colonie suspecte sans passer par l'étape de purification.

En cas de résultats discordants (positifs présomptifs par la méthode alternative, non confirmé au moyen d'une des deux options décrites), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.

Les prises d'essais supérieures à 25 g n'ont pas été testées. Pour les prélèvements d'environnement, si il y a absence de colonies suspectes à 24 h, incubé 24 h +/- 2 h supplémentaires.

Schéma 1: Méthode de détection

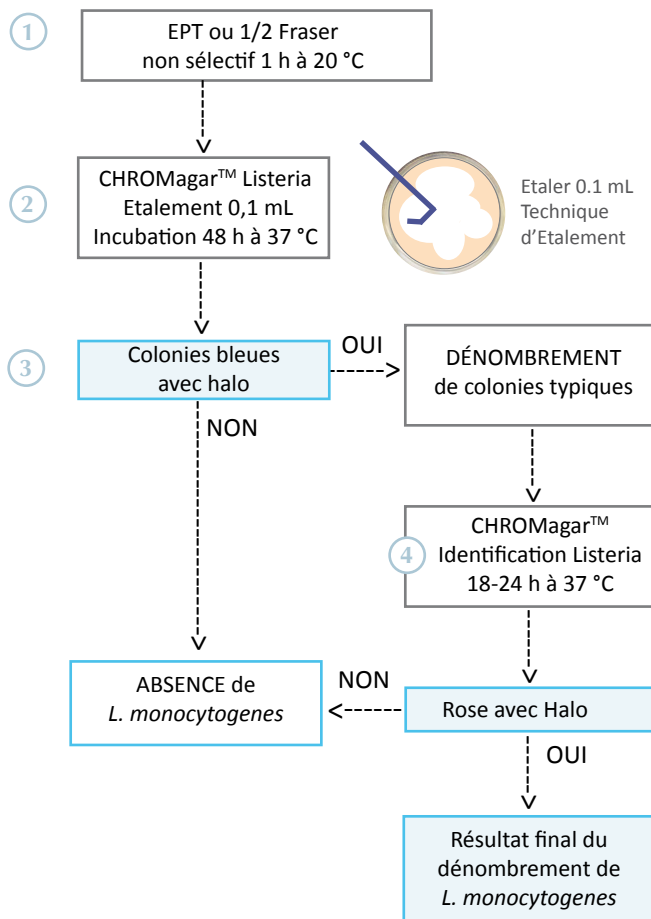


Méthode de numération CHROMagar™ Listeria

• Pour le dénombrement des *L. monocytogenes* dans tous produits d'alimentation humaine et échantillons d'environnement. (Référer au schéma 2)

- 1 Faire une étape de revivication de l'échantillon, mixer $\underline{x}$ g ou $\underline{x}$ mL dans $9 \times$ BPW ou 1/2 bouillon Fraser non sélectif
→ 1 h +/- 5 min à 20 °C +/- 1 °C
- 2 Étaler 0,1 mL sur une boîte bien sèche de CHROMagar™ Listeria (en cas d'estimations de petits nombres étaler 1 mL sur 3 boîtes) et incubé :
→ 48 h +/- 2 h à 37 °C +/- 1 °C
Une première lecture à 24 h permet de détecter plus rapidement les échantillons fortement contaminés. Cependant le résultat final du dénombrement est obtenu après 48 h +/- 2 h. Se reporter aux normes ISO 7218 pour calculs et expression des résultats. L'étalement d'une seule dilution peut présenter un risque d'écart sur le dénombrement par rapport à la méthode de référence.
- 3 Colonies typiques:
NON → Absence de *L. monocytogenes*
OUI → Dénombrer et confirmer sur une colonie directement à partir de CHROMagar™ Listeria. Le fait de ne pas confirmer 5 colonies en dénombrement implique un risque de rendre un résultat surestimé du fait de la présence éventuelle de colonies caractéristiques qui ne seraient pas des *L. monocytogenes*. Si la confirmation a déjà été réalisée lors de la phase de détection avec la méthode CHROMagar™ Listeria, une nouvelle confirmation n'est pas nécessaire à l'issue de la méthode CHROMagar™ Identification Listeria. Sinon tous les résultats positifs doivent être confirmés de l'une des manières suivantes :
1/ mise en œuvre des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification)
2/ avec le CHROMagar™ Identification Listeria directement à partir d'au moins une colonie suspecte sans passer par l'étape de purification.
En cas de résultats discordants (positifs présomptifs par la méthode alternative, non confirmé au moyen d'une des deux options décrites), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.
- 4

Schéma 2: Méthode de dénombrement



CHROMagar™ *Listeria*

INTERPRÉTATION

Microorganisme	Apparence d'une colonie typique
<i>L. monocytogenes</i>	→ bleu, diamètre inférieur à 3 mm, halo blanc et régulier
Autres Microorganismes	→ bleu, incolore, autres couleurs, inhibé

Apparence d'une colonie typique sur CHROMagar™ *Listeria*

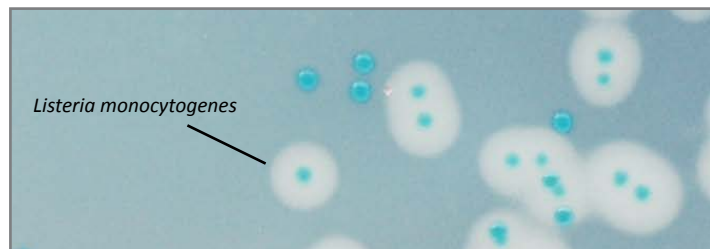


Photo non contractuelle

PERFORMANCE & LIMITATIONS

• Certaines souches de *L. ivanovii* donnant aussi des colonies bleues avec halo blanc qui sont distinguées lors de l'identification. L'espèce *L. ivanovii* est rarement rencontrée en agro-alimentaire. Certaines souches de *B. cereus* peuvent donner des colonies bleues, mais à bords irréguliers et de diamètre généralement important, avec un halo souvent très large, se distinguant de *L. monocytogenes*.

CONTRÔLE QUALITÉ

Merci d'effectuer un contrôle qualité en accord avec l'usage du milieu et les normes locales de contrôle qualité. La bonne préparation du milieu peut être testée en isolant les souches ATCC suivantes:

Microorganisme	Apparence d'une colonie typique
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 13932 = WDCM 00021	→ bleu avec halo
<i>L. innocua</i> = ATCC® 33091*	→ bleu sans halo
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ inhibé
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ inhibé

WDCM : World Data Center for Microorganism World Federation for Culture Collection

ATTENTION

- Ne pas utiliser les boîtes si elles montrent un signe évident de contamination ou de détérioration.
- Ne pas utiliser notre produit au delà de la date d'expiration ou si le produit montre un signe évident de contamination ou de détérioration.
- Dispositif de laboratoire. Ceci est un produit de laboratoire qui doit être utilisé par du personnel spécialisé et formé aux bonnes pratiques de laboratoire.
- Tout changement ou modification dans la procédure peut affecter les résultats.
- Tout changement ou modification de la température de stockage requise peut affecter la performance du produit.
- Une conservation inappropriée peut affecter la durée de vie du produit.
- Bien refermer les pots/fioles après chaque préparation et les conserver à l'abri de l'humidité, protégés des moisissures et de la lumière.
- Pour une bonne détection microbienne, la collecte et le transport des échantillons doivent être bien gérés et adaptés à l'échantillon en accord avec les bonnes pratiques de laboratoire.

ÉLIMINATION DES DÉCHETS

Après utilisation, toutes les boîtes et autres matériels contaminés doivent être stérilisés et jetés selon des procédures internes appropriées ou en accord avec les réglementations locales. Les boîtes doivent être autoclavés à 121 °C pendant au moins 20 minutes.

RÉFÉRENCES

Merci de référer à notre page internet «Publications» pour consulter les publications scientifiques concernant ce produit. Lien internet: <http://www.chromagar.com/publication.php>

LEXIQUE ÉTIQUETTE

	REF	Référence catalogue
		Consulter les instructions d'utilisation
		Quantité de poudre suffisante pour X litres de milieu
		Date d'expiration
		Température de stockage requise
		Conserver à l'abri de l'humidité
		Protéger de la lumière
		Fabricant

Où puis-je trouver les documents techniques?

Disponible en téléchargement sur www.CHROMagar.com

- Certificat d'analyse (CoA) --> Un par Lot
- Fiche de Sécurité (MSDS)

Format

Références de commande

Base (B)

Supplément (S)

Σ 5000 mL

250 Tests de 20 mL

LM852

LM852(B)
Poids : 257,5 g

LM852(S)
Poids : 45 g

NT-EXT-009 V9.1 / 06-May-24

CHROMagar est une marque créée par Dr A. Rambach

ATCC® est une marque enregistrée par American Type Culture Collection

CHROMagar™
The Chromogenic Media Pioneer



CHROMagar 29 Avenue George Sand,
93210 La Plaine Saint-Denis - France
Email: CHROMagar@CHROMagar.com
Tel +33 (0)1.45.48.05.05. Website: www.CHROMagar.com

FINALIDAD DEL MEDIO

Medio cromogénico para la detección, aislamiento y recuento de *L. monocytogenes*
Listeria monocytogenes es una bacteria ampliamente distribuida, presente en el suelo, aguas residuales o materias fecales. Su capacidad para formar biopelículas de listerias en superficies de contacto dificulta su eliminación. Este patógeno puede causar intoxicaciones alimentarias graves, por lo que, con frecuencia, es objeto de controles de calidad microbiológicos en las instalaciones de procesamiento de alimentos para evitar contaminaciones alimentarias. La contaminación puede ocurrir en todas las etapas de la cadena de producción alimentaria, desde la materia prima hasta el lugar de consumo.

COMPOSICIÓN

El producto está compuesto de una base de polvo (B) y un suplemento (S).

Producto	=	Base (B)	+	Suplemento (S)
Total g/l		51,5 g/L		9,0 g/L
Composición g/L		Agar 15,0 Peptona y extractos de levaduras 23,0 NaCl 5,0 Mezcla cromogénica 8,5		Mezcla selectiva y para enriquecimiento 9,0
Aspecto		Forma en polvo		Forma en polvo
ALMACENAMIENTO		2/30 °C		2/8 °C
pH FINAL DEL MEDIO		7,0 +/- 0,5		

Muestras típicas

p. ej., Muestras de carne, productos lácteos, verduras, mariscos y medioambientales.

PREPARACIÓN (Cálculo para 1 L)

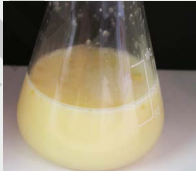
Paso 1
Preparación de la base CHROMagar™ Listeria base (B)

- Suspender lentamente 51,5 g de base de polvo en 1 L de agua purificada.
- Remover hasta que el agar haya espesado bien.
- Calentar a 121 °C +/-1 °C durante 15 minutos.
- Enfriar en una cubeta térmica a 45-50 °C +/- 2 °C.

Paso 2
Preparación de CHROMagar™ Listeria suplemento (S)

- Añadir 9 g a 40 mL de agua purificada ESTÉRIL.
- Añadir una barra magnética y agitar a alta velocidad (700-1000 rpm) al menos durante 30 minutos SIN CALENTAR hasta obtener una suspensión cremosa y homogénea como se muestra a continuación:

FASE 1: Posible presencia de granos en la superficie del vial y en la mezcla



Aspecto en esta fase:

- Líquido con granos no disueltos

FASE 2: Formación de una densa espuma blanca en la superficie y aumento del tamaño de la misma



Aspecto en esta fase:

- Espuma densa/compacta (SUPERFICIE)
- Mezcla espumosa

FASE 3: Espuma menos densa/compacta, mezcla más cremosa



Aspecto en esta fase:

- La espuma no aumenta de tamaño
- Espuma más ventilada
- Líquido

FASE 4: MEZCLA MUY BUENA



Aspecto en esta fase:

- Homogéneo
- Fluido (líquido)
- Sin granos ni espuma

PREPARACIÓN CORRECTA

Medio Final AYUDA PARA EL CÁLCULO

1 L --> Añadir 9 g de suplemento en 40 mL de agua estéril

5 L --> Añadir 45 g de suplemento en 200 mL de agua estéril

Paso 3
Mezcla de la base preparada (B) y del suplemento preparado (S)

- Poner la base de CHROMagar™ Listeria fundida y enfriada a a 45-50 °C bajo agitación suave.
- Añadir el suplemento homogéneo reconstituido, manteniendo la agitación suave durante 1 o 2 minutos hasta la homogeneización completa.
- Verter INMEDIATAMENTE en placas de Petri estériles.
- Advertencia: NO APILAR LAS PLACAS DE PETRI.
- Dejar que se enfríen. Dejar secar.

Almacenamiento

- Almacenar en la oscuridad antes de usar.
- Las placas preparadas con medio pueden conservarse durante un día a temperatura ambiente.
- Las placas pueden almacenarse hasta un mes refrigeradas (2/8 °C) si se han preparado correctamente y se protegen de la luz y la deshidratación.

INOCULACIÓN

Consulte la sección de **Procedimientos**

- Si la placa de agar ha sido refrigerada, dejar que caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.
- La recogida y transporte de las muestras deberán realizarse y adaptarse a cada muestra concreta de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.

PROCEDIMIENTOS

Método con CHROMagar™ Listeria

• Para la detección de presencia/ausencia de *L. monocytogenes* en cualquier producto alimenticio para el hombre y en muestras ambientales.

(Consulte la imagen 1)

- 1 Realizar un paso de enriquecimiento de la muestra, mezclando $\bar{x}$ g o $\bar{x}$ mL en 9 x de caldo Fraser 1/2
→ 24 h +/- 2 h a 30 °C +/- 1 °C
- 2 Extender por estrías 0,1 mL en una placa bien seca con CHROMagar™ Listeria, en 1/3 de la placa hasta que se adsorba el líquido. Aislar del resto de la placa e incubar.
→ 24 h +/- 2 h a 37 °C +/- 1 °C
- 3 Colonias típicas:
NO → Ausencia de *L. monocytogenes*
SÍ → Todas las muestras identificadas como positivas mediante el método alternativo deben ser confirmados de alguna de las siguientes maneras:
- 4 1 / usando las pruebas convencionales descritas en los métodos normalizados por CEN o ISO (incluido el paso de purificación).
2 / con CHROMagar™ Identification Listeria directamente de la colonia sospechosa sin paso de purificación.

En el caso de resultados discordantes (positivos presuntivos por el método alternativo, no confirmados por uno de los medios antes descritos) el laboratorio deberá seguir los pasos necesarios para garantizar la validez del resultado obtenido.

No se han analizado porciones que pesen más de 25 g.

En las muestras ambientales, si las colonias típicas están ausentes tras 24 h, incubar durante 24 h adicionales +/- 2 h.

Método de recuento con CHROMagar™ Listeria:

• Para el recuento de *L. monocytogenes* en cualquier producto alimenticio para el hombre y en muestras ambientales.

(Consulte la imagen 2)

- 1 Realizar un paso reavivación de la muestra y mezclar $\bar{x}$ g o $\bar{x}$ mL en 9 x de BPW caldo Fraser 1/2 no selectivo
→ 1 h +/- 5 min. a 20 °C +/- 1 °C
- 2 Extender 0,1 mL en una placa bien seca con CHROMagar™ Listeria (para el cálculo de cifras pequeñas, extender 1 mL en 3 placas) e incubar.
→ 48 h +/- 2 h a 37 °C +/- 1 °C
Una primera lectura a las 24 h permite una detección más rápida de las muestras muy contaminadas. Sin embargo, el resultado del recuento definitivo se obtiene tras 48 h +/- 2 h. Consultar la norma ISO 7218 para el cálculo y la interpretación de los resultados. La siembra de una sola dilución puede presentar un riesgo de desviación en el recuento en comparación con el método de referencia.
- 3 Colonias típicas:
NO → Ausencia de *L. monocytogenes*
SÍ → Contar y confirmar una colonia directamente de CHROMagar™ Listeria. Confirmar 5 colonias en el recuento evita el riesgo de sobreestimar el resultado debido a la presencia de colonias típicas que no sean *L. monocytogenes*. Si ya se ha hecho la confirmación durante la fase de detección con el método CHROMagar™ Listeria, no será necesaria una nueva confirmación después del método de enumeración CHROMagar™ Listeria. De lo contrario, todas las muestras identificadas como positivas mediante el método alternativo deben ser confirmados de alguna de las siguientes maneras:
- 4 1 / usando las pruebas convencionales descritas en los métodos normalizados por CEN o ISO (incluido el paso de purificación).
2 / con CHROMagar™ Identification Listeria directamente de la colonia sospechosa sin paso de purificación.

En el caso de resultados discordantes (positivos presuntivos por el método alternativo, no confirmados por uno de los medios antes descritos) el laboratorio deberá seguir los pasos necesarios para garantizar la validez del resultado obtenido.

Ilustración 2: Método de recuento

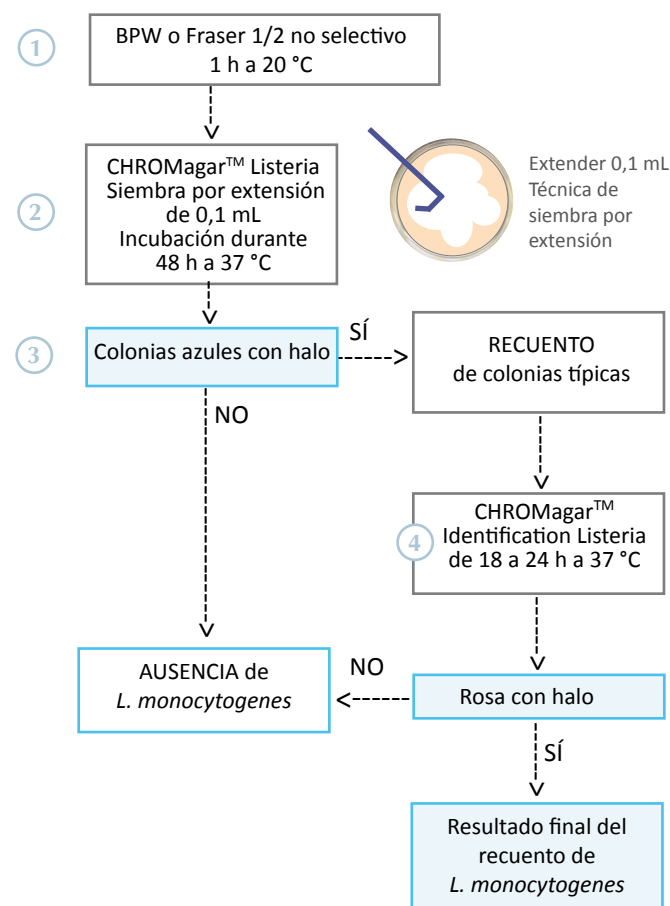
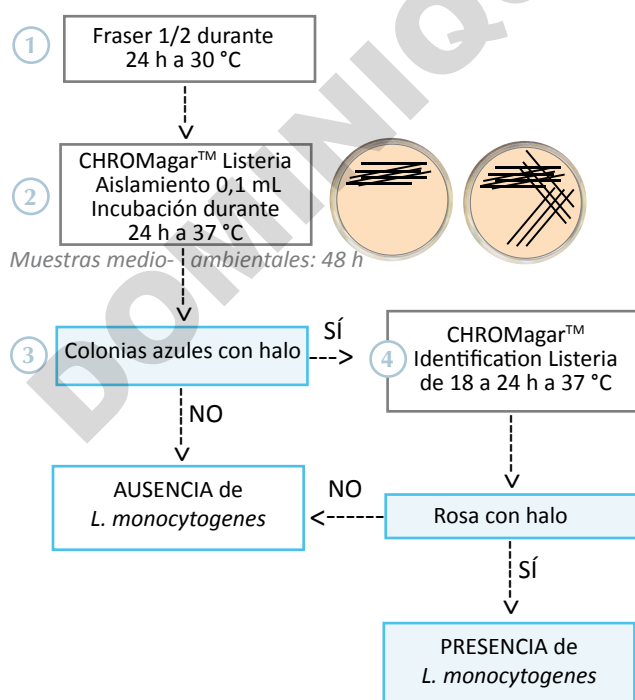


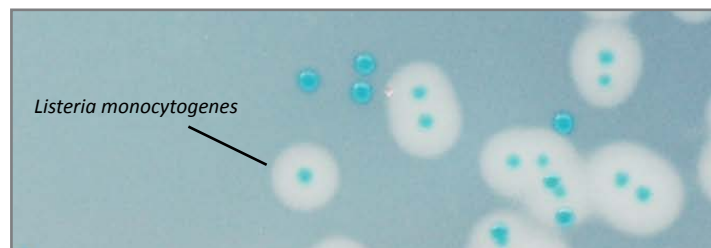
Ilustración 1: Método de detección



INTERPRETACIÓN

Microorganismo	Aspecto típico de las colonias
<i>L. monocytogenes</i>	→ azul, diámetro inferior a 3 mm, halo uniforme y blanco
Otros microorganismos	→ azul, incoloras, otro color, inhibidas

Aspecto típico de las colonias en CHROMagar™ Listeria



Las imágenes mostradas no son contractuales.

RENDIMIENTO Y LIMITACIONES

• Algunas cepas de *L. ivanovii* también pueden dar colonias azules con halo blanco que se distinguen durante la identificación. La especie *L. ivanovii* se encuentra rara vez en los alimentos. Algunas cepas de *B. cereus* también pueden crecer como colonias azules. Estas pueden distinguirse fácilmente de las colonias de *L. monocytogenes* ya que son mucho mayores y poseen un borde irregular y un halo blanco de gran tamaño.

CONTROL DE CALIDAD

Realizar el control de calidad de acuerdo con la utilización del medio y los reglamentos y normas locales para QC. La correcta preparación del medio puede analizarse aislando las cepas ATCC que se enumeran más abajo:

Microorganismo	Aspecto típico de las colonias
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 13932 = WDCM 00021	→ azul con halo
<i>L. innocua</i> = ATCC® 33091*	→ azul sin halo
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ inhibidas
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ inhibidas

WDCM : World Data Center for Microorganism World Federation for Culture Collection

PRECAUCIONES

- No utilice placas que muestren cualquier evidencia de contaminación o cualquier otro signo de deterioro.
- No utilizar el producto más allá de su fecha de caducidad o si el producto muestra cualquier evidencia de contaminación o cualquier otro signo de deterioro.
- Uso previsto para laboratorio. Este producto de laboratorio debe ser utilizado exclusivamente por personal cualificado conforme a las buenas prácticas de laboratorio.
- Cualquier cambio o modificación en el procedimiento puede afectar a los resultados.
- Cualquier cambio o modificación de la temperatura de almacenamiento requerida puede afectar al rendimiento del producto.
- Un almacenamiento inadecuado puede afectar la vida útil del producto.
- Volver a tapar herméticamente los frascos / viales después de cada preparación y mantenerlos en un ambiente de baja humedad, protegido de la condensación y la luz.
- Para una buena detección microbiana: la recogida y transporte de las muestras deberán realizarse y adaptarse a cada muestra concreta de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.

ELIMINACIÓN DE DESECHOS

Después de su uso, todas las placas y el resto de material contaminado deben esterilizarse o eliminarse mediante procedimientos internos apropiados y de acuerdo con las normativas locales. Las placas pueden destruirse mediante autoclavado a 121 °C durante al menos 20 minutos.

REFERENCIAS

Consulte nuestra página web "Publicaciones" para acceder a las publicaciones científicas sobre este producto en particular. [Enlace web: http://www.chromagar.com/publication.php](http://www.chromagar.com/publication.php)

ÍNDICE DE LAS INSTRUCCIONES / ETIQUETA

REF	Referencia de catálogo
	Consultar las instrucciones de utilización
	Cantidad de polvo suficiente para X litros de medio
	Fecha de caducidad
	Temperatura de almacenamiento requerida
	Almacenar protegido de la humedad
	Proteger de la luz
	Fabricante

¿Necesita algún documento técnico?

Disponible para su descarga en www.CHROMagar.com

- Certificado de análisis (CoA) --> Uno por lote
- Hoja de datos de seguridad de materiales (MSDS)

Tamaño del envase

Referencias para pedidos

Base (B)

Suplemento (S)

Σ 5000 mL 250 pruebas de 20 mL =

LM852

=

LM852(B)
Peso: 257,5 g

+

LM852(S)
Peso: 45 g

NT-EXT-009 V9.1 / 06-May-24

CHROMagar es una marca comercial creada por el Dr A. Rambach
ATCC® es una marca registrada de la American Type Culture Collection

VERWENDUNGSZWECK

Chromogenes Medium zum Nachweis und zur Isolierung und Zählung von *L. monocytogenes*.

Listeria monocytogenes ist ein weit verbreitetes Bakterium, das im Boden, im Abwasser und in Fäkalien vorkommt. Es ist schwer zu eliminieren, weil es auf Kontaktoberflächen Biofilme bildet. Dieser Erreger kann ernste Lebensmittelvergiftungen hervorrufen und ist daher oft ein Zielorganismus der mikrobiologischen Qualitätskontrolle in Lebensmittelverarbeitenden Betrieben, um eine Lebensmittelkontamination zu verhindern. Die Kontamination kann bei allen Schritten der Lebensmittelverarbeitungskette auftreten, von den Rohstoffen bis zum Ort des Verzehrs.

ZUSAMMENSETZUNG

Das Produkt besteht aus einer Base (B) und einem Supplement (S).

Produkt	=	Base (B)	+	Supplement (S)
Gesamt g/L		51,5 g/L		9,0 g/L
Zusammensetzung g/L		Agar 15,0 Pepton und Hefeextrakt 23,0 NaCl 5,0 Chromogenmischung 8,5		Selektive Anreicherungs- mischung 9,0
Aussehen		Pulver		Pulver
AUFBEWAHRUNG		2-30 °C		2-8 °C
pH DES ENDMEDIUMS		7,0 +/- 0,5		

Typische Proben

z. B. Fleisch, Milchprodukte,
Gemüse, Meeresfrüchte und
Umweltproben

ZUBEREITUNG (Berechnung für einen Liter)

Schritt 1

Zubereitung der Base
CHROMagar™
Listeria Base (B)

- 51,5 g der Base langsam in 1 L destilliertem Wasser resuspendieren.
- Rühren, bis der Agar aufgequollen ist.
- 15 Minuten lang auf 121 °C +/- 1 °C erhitzen.
- Im Wasserbad auf 45-50 °C +/- 2 °C abkühlen.

Schritt 2

Zubereitung des
CHROMagar™
Listeria Supplements (S)

- 9 g in 40 mL STERILES destilliertes Wasser geben.
- Magnetisch zugeben und bei hoher Geschwindigkeit (700-1000 UpM) mindestens 30 Minuten OHNE HEIZUNG rühren, bis eine cremige, homogene Suspension wie nachstehend abgebildet entsteht:

End- medium	RECHENBEISPIEL
1 L -->	9 g Supplement in 40 mL steriles Wasser
5 L -->	45 g Supplement in 200 mL steriles Wasser

PHASE 1:
Mögliche Anwesen-
heit von Körnern auf
der Oberfläche des
Kolbens und in der
Mischung



Aussehen nach diesem Schritt:

- Flüssigkeit mit nicht aufgelösten Körnern

-->

PHASE 2: Bildung
von dichtem weißem
Schaum an der Ober-
fläche und Aufsteigen
von Schaum



Aussehen nach diesem Schritt:

- Dichter/kompakter Schaum (OBERFLÄCHE)
- Schaumige Mischung

-->

PHASE 3: Weniger
dichter/kompakter
Schaum, cremigere
Mischung



Aussehen nach diesem Schritt:

- Kein Aufsteigen von Schaum
- Luftigerer Schaum
- Flüssigkeit

-->

PHASE 4:
SEHR GUTE MISCHUNG



Aussehen nach diesem Schritt:

- Homogen
- Flüssig (Flüssigkeit)
- Ohne Körner, kein Schaum

GUTE ZUBEREITUNG

Schritt 3

Mixen der
zubereiteten Base (B)
und des zubereiteten
Supplements (S)

- Die geschmolzene, auf 45-50 °C abgekühlte CHROMagar™ Listeria Base vorsichtig rühren.
- Das homogene, rekonstituierte Supplement zufügen und 1-2 Minuten bis zur vollständigen Homogenisierung weiterrühren.
- SOFORT in sterile Petrischalen gießen.
- **Warnung: PETRISCHALEN NICHT STAPELN.**
- Abkühlen lassen. Trocknen lassen.

Aufbewahrung

- Vor dem Gebrauch dunkel lagern.
- Fertige Platten können einen Tag bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.
- Die Platten können bis zu 1 Monat im Kühlschrank (2-8 °C) aufbewahrt werden, wenn sie sachgerecht zubereitet wurden und vor Licht und Austrocknung geschützt sind.

BEIMPFFEN

Siehe Abschnitt Verfahren

- Kühl gelagerte Agarplatten vor dem Beimpfen auf Raumtemperatur bringen.

Probenahme und -transport sollten unter Einhaltung guter Laborpraktiken sorgfältig und an die jeweilige Probenart angepasst durchgeführt werden.

VERFAHREN

CHROMagar™ *Listeria* Methode

- Zum Nachweis der Anwesenheit/Abwesenheit von *L. monocytogenes* in Lebensmittel- und Umgebungsproben. (Siehe Abbildung 1)

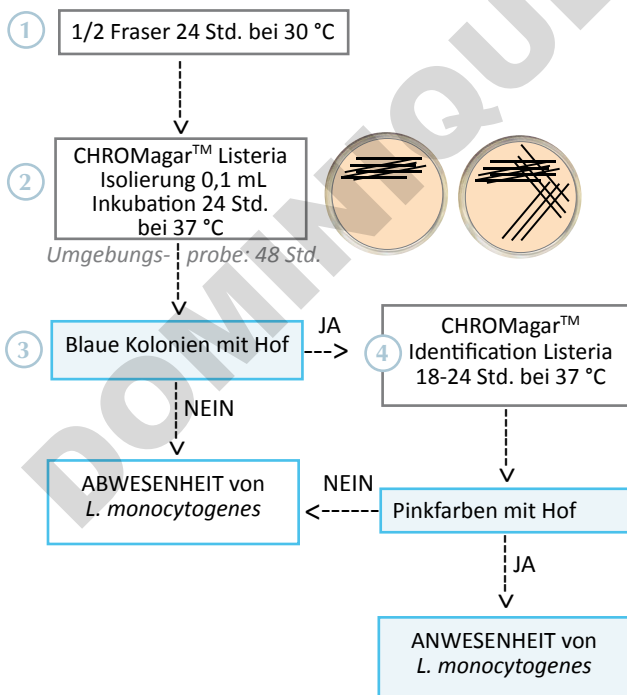
- 1 Probe anreichern: x g oder x mL mit 9 x 1/2 Fraser Bouillon mischen
→ 24 Std. +/- 2 Std. bei 30 °C +/- 1 °C
- 2 0,1 mL auf 1/3 einer gut getrockneten CHROMagar™ *Listeria* Platte ausstreichen, bis die Flüssigkeit absorbiert ist. Auf dem Rest der Platte verteilen, um isolierte Einzelkolonien zu erhalten, und inkubieren.
→ 24 Std. +/- 2 Std. bei 37 °C +/- 1 °C
- 3 Typische Kolonien:
NEIN → Abwesenheit von *L. monocytogenes*
JA → Müssen alle durch eine alternative Methode als positiv bestimmten Proben nach einer der folgenden Methoden bestätigt werden:
- 4 1/ Verwendung der konventionellen Tests nach standardisierten Methoden gemäß CEN oder ISO (einschließlich Aufreinigung).
2/ Mit CHROMagar™ Identification *Listeria* direkt von der verdächtigen Kolonie ohne Aufreinigung.

Bei unterschiedlichen Ergebnissen (präsumtiven positiv bei der alternativen Methode, nicht bestätigt durch eins der oben beschriebenen Verfahren) muss das Labor die notwendigen Maßnahmen ergreifen, um die Gültigkeit der erhaltenen Ergebnisse sicherzustellen.

Testportionen von mehr als 25 g wurden nicht getestet.

Bei Umgebungsproben sind die Kolonien nach 24 Std. in der Regel noch nicht vorhanden. In diesem Fall weitere 24 Std. +/- 2 Std. inkubieren.

Abbildung 1: Nachweismethode



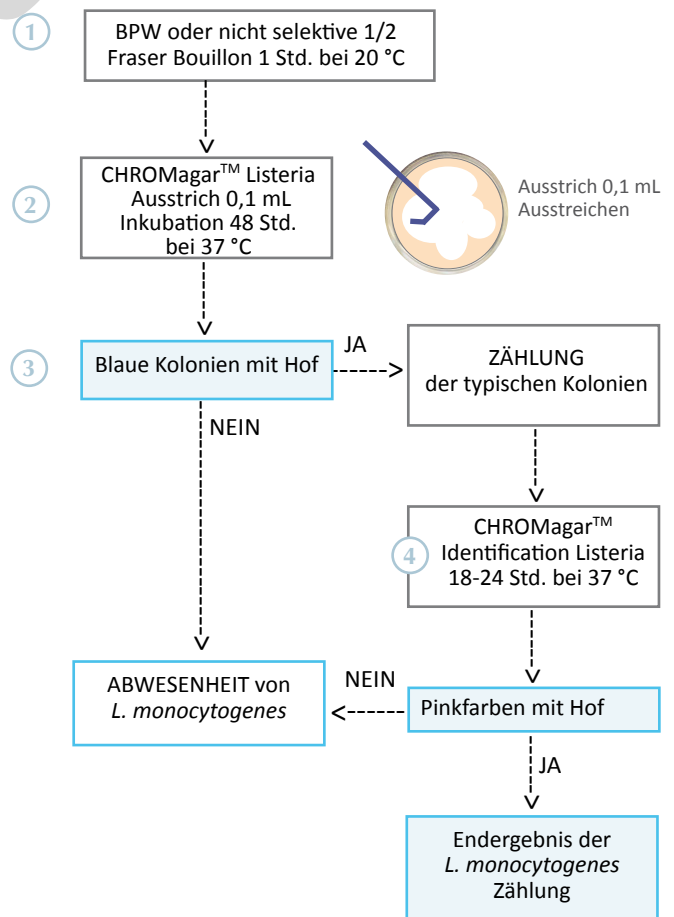
CHROMagar™ *Listeria* Zählmethode

- Für die Zählung von *L. monocytogenes* in allen Lebensmittel- und Umgebungsproben. (Siehe Abbildung 2)

- 1 Probe wiederbeleben und x g oder x mL mit 9 x BPW oder nicht selektiver 1/2 Fraser Bouillon mischen
→ 1 Std. +/- 5 Min. bei 20 °C +/- 1 °C
- 2 0,1 mL auf einer gut getrockneten CHROMagar™ *Listeria* Platte ausstreichen (im Fall einer Schätzung kleiner Zahlen 1 mL auf 3 Platten ausstreichen) und inkubieren.
→ 48 Std. +/- 2 Std. bei 37 °C +/- 1 °C
Ein erstes Ablesen nach 24 Stunden erlaubt den schnellen Nachweis von stark kontaminierten Proben. Die endgültige Zählung wird jedoch nach 48 Std. +/- 2 Std. durchgeführt. Die Berechnung und Interpretation der Ergebnisse erfolgt gemäß ISO 7218.
- 3 Typische Kolonien:
NEIN → Abwesenheit von *L. monocytogenes*
JA → Zählen und eine Kolonie direkt vom CHROMagar™ *Listeria* bestätigen. Wenn die Bestätigung bereits während der Untersuchungsphase durchgeführt wurde, ist keine neue Bestätigung erforderlich. Anderenfalls müssen alle durch eine alternative Methode als positiv bestimmten Proben nach einer der folgenden Methoden bestätigt werden:
- 4 1/ Verwendung der konventionellen Tests nach standardisierten Methoden gemäß CEN oder ISO (einschließlich Aufreinigung).
2/ Mit CHROMagar™ Identification *Listeria* direkt von der verdächtigen Kolonie ohne Aufreinigung.

Bei unterschiedlichen Ergebnissen (präsumtiven positiv bei der alternativen Methode, nicht bestätigt durch eins der oben beschriebenen Verfahren) muss das Labor die notwendigen Maßnahmen ergreifen, um die Gültigkeit der erhaltenen Ergebnisse sicherzustellen.

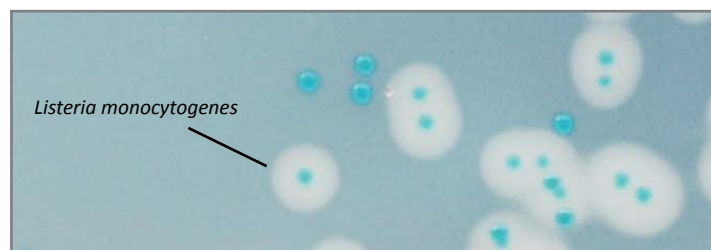
Abbildung 2: Zählmethode



INTERPRETATION

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
<i>L. monocytogenes</i>	→ blau, Durchmesser kleiner als 3 mm, regelmäßig mit weißem Hof
Andere Mikroorganismen	→ blau, farblos, andere Farbe, inhibiert

Typisches Erscheinungsbild der Kolonien auf CHROMagar™ *Listeria*



Die gezeigten Fotos sind unverbindlich.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

• Einige Stämme von *L. ivanovii* können auch blaue Kolonien mit weißem Hof ergeben, die während der Identifizierung unterschieden werden. Die Art *L. ivanovii* wird in Lebensmitteln selten gefunden. Einige Stämme von *B. cereus* können auch als blaue Kolonien wachsen. Sie sind leicht von *L. monocytogenes* Kolonien zu unterscheiden, weil sie viel größer sind und einen unregelmäßigen Rand und einen sehr breiten weißen Hof haben.

QUALITÄTSKONTROLLE

Bitte führen Sie die Qualitätskontrolle je nach Gebrauch des Mediums und gemäß nationaler Qualitätskontrollvorschriften und -normen durch.

Ob das Medium richtig hergestellt wurde, kann durch Isolierung der folgenden ATCC-Stämme getestet werden:

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 13932 = WDCM 00021	→ blau mit Hof
<i>L. innocua</i> = ATCC® 33091	→ blau ohne Hof
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ inhibiert
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ inhibiert

WARNHINWEISE

- Platten nicht verwenden, wenn diese Anzeichen von Kontamination oder Beschädigung zeigen.
- Produkt nicht verwenden, wenn das Haltbarkeitsdatum überschritten ist oder Anzeichen von Kontamination oder Beschädigung beobachtet werden.
- Für den Laborgebrauch. Dieses Produkt darf nur von geschultem Laborpersonal und unter Einhaltung guter Laborpraktiken verwendet werden.
- Jede Abweichung von dem beschriebenen Verfahren kann die Ergebnisse beeinflussen.
- Jede Abweichung von der erforderlichen Lagertemperatur kann die Leistung des Produkts beeinträchtigen.
- Unsachgemäße Lagerung kann sich auf die Haltbarkeitsdauer auswirken.
- Die Flaschen/Ampullen müssen nach jeder Präparation wieder fest verschlossen und an einem trockenen, lichtgeschützten Ort aufbewahrt werden.
- Um einen guten Nachweis von Mikroorganismen zu gewährleisten, ist es wichtig, dass Probenahme und -transport sorgfältig und entsprechend der jeweiligen Probenart unter Einhaltung guter Laborpraktiken durchgeführt werden.

ABFALLENTSORGUNG

Alle Platten und sonstige kontaminierte Materialien müssen nach dem Gebrauch sterilisiert oder durch geeignete interne Verfahren und in Übereinstimmung mit den lokalen Vorschriften entsorgt werden. Die Platten können durch mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121 °C unschädlich gemacht werden.

LITERATUR

Wissenschaftliche Artikel über dieses spezielle Produkt finden Sie im Bereich „Publications“ auf unserer Website.

Web link: <http://www.chromagar.com/publication.php>

ZEICHENERKLÄRUNG GEBRAUCHSANWEISUNG/ETIKETT

	Bestellnummer
	Gebrauchsanweisung beachten
	Die Basemenge reicht für X Liter Medium
	Haltbar bis
	Erforderliche Lagertemperatur
	Vor Feuchtigkeit schützen
	Vor Licht schützen
	Hersteller

Technische Dokumente:

Als Download erhältlich auf: www.CHROMagar.com

- Analysenzertifikat (CoA) -> Eins pro Charge
- Sicherheitsdatenblatt (SDB)

Packungsgröße

Artikelnummern

Base (B)

Supplement (S)

Σ 5000 mL 250 Tests zu je 20 mL =

LM852

= LM852(B) Gewicht: 257,5 g

+ LM852(S) Gewicht: 45 g

NT-EXT-009 V9.1 / 06-May-2024

CHROMagar ist eine von Dr. A. Rambach geschaffene Marke

ATCC® ist eine eingetragene Marke der American Type Culture Collection