

## Base de Caldo de Enriquecimiento para Listeria ISO

Cat. 1120

Medio de enriquecimiento para la detección y enumeración de Listeria en muestras alimentarias y ambientales.

### Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Enriquecimiento selectivo	Listeria

Industria: Clínica / Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 11290



### Principios y usos

La Base de Caldo de Enriquecimiento para Listeria es un medio apropiado para el enriquecimiento selectivo de Listeria según la ISO 11290, para la preparación de Caldo Fraser o Caldo 1/2 Fraser agregando los suplementos correspondientes.

Este medio 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 esculina, que reacciona con los iones de hierro produciendo un ennegrecimiento del medio. Otra ventaja de este medio es que la adición de citrato amonio férrico 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 alta cantidad de cloruro de sodio inhibe el crecimiento de los enterococos. El digerido enzimático de caseína, el digerido enzimático de 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. Las sales de fosfato actúan como un sistema tampón.

### Fórmula en g/L

Digerido enzimático de caseína	5	Esculina	1
Extracto de carne	5	Cloruro sódico	20
Extracto de levadura	5	Digerido enzimático de tejido animal	5
Hidrogenofosfato de potasio	1,35	Cloruro de litio	3
Hidrógeno fosfato disódico dihidratado	12		

### 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 su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar a 45-50 °C y agregar asepticamente un vial del Suplemento Selectivo para Listeria Fraser (Cat. 6001) para preparar el Caldo Fraser o un vial del Suplemento Selectivo para Listeria Half Fraser (Cat. 6002) para la preparación de Caldo Half Fraser. Homogeneizar suavemente y dispensar en recipientes estériles.

### Instrucciones de uso

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

- Inocular 0,1 ml de cultivo del Caldo Half Fraser incubado (independientemente de su color) en 10 ml de Caldo Fraser.
- Incubar a 37 °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 de Enriquecimiento para Listeria Fraser (Cat. 1120)

junto con el Suplemento Selectivo para Listeria Half Fraser (Cat. 6002), Homogeneizar e incubar a 30 °C durante 25±1 horas.

- Enriquecimiento secundario: Inocular 0,1 ml del medio anterior incubado (independientemente de su color) en 10 ml de Base de Caldo de Enriquecimiento para Listeria Fraser junto con el Suplemento Selectivo para Listeria Fraser (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) 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: Seleccionar las colonias presuntivas y llevar 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	Ámbar	7,2±0,2

## Test microbiológico

Según la ISO 11133:

Caldo 1/2 Fraser:

- Condiciones de incubación: (30±1 °C / 24±2 h).
- Condiciones de inoculación: Microorganismos objetivo (<100 CFU) / Microorganismo no objetivo (> 1000 CFU) / Selectividad (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU).

Caldo Fraser:

- Condiciones de incubación: (37±1 °C / 48±2 h).
- Condiciones de inoculación: Microorganismos objetivo (<100 CFU) / Microorganismo no objetivo (> 1000 CFU) / Selectividad (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición total (0)	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<100 colonias en TSA	
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 + <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	>10 colonias en Agar Listeria conforme a Ottaviani y Agosti	Colonias de color verde azulado con halo opaco
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 35152 + <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 + <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	>10 colonias en Agar Listeria conforme a Ottaviani y Agosti	Colonias de color verde azulado con halo opaco

## Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C  
Temp. Max.: 25 °C

## Bibliografía

ISO Normative 11290-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method.  
Fraser J.A. and Sperber W.H (1988) McClain D. and Lee W.H(1988)