

**Especificación**

Caldo para enriquecimiento de *Listeria monocytogenes* según normas ISO.

**Presentación**

20 Tubos  
Tubo 16 x 113 mm  
con: 10 ± 0,2 ml

**Encajado**

1 caja con 20 Tubos de 16 X 113 mm con tapón  
metálico- no pinchable y rotulados .

**Caducidad Almacenamiento**

12 meses      2-25°C

**Composición**

Composición (g/l):

Peptona de carne.....	5.000
Peptona de Caseína.....	5.000
Extracto de levadura.....	5.000
Extracto de carne.....	5.000
Cloruro Sódico .....	20.000
Hidrogenofosfato disódico.....	12.000
Dihidrogenofosfato potásico.....	1.350
Esculina.....	1.000
Cloruro de litio.....	3.000
Citrato ferrico amónico.....	0.500
Ac.Nalidixico.....	0.020
Clorhidrato de acriflavina.....	0.025

## Descripción/Técnica

### Descripción:

Este caldo basal para el enriquecimiento de *Listeria* corresponde a las modificaciones de Fraser y Sparber al medio UVM, que posteriormente fueron adoptadas por el Servicio de Inspección y Seguridad de los Alimentos del Departamento de Agricultura de los EUA (USDA-FSIS). La incorporación del cloruro de litio inhibe el desarrollo de *Enterococcus* que también pueden hidrolizar la esculina, al igual que todas las especies de *Listeria*. De esta forma cualquier oscurecimiento del medio, producida por la reacción de la esculina resultante de la hidrólisis de la esculina con el hierro presente en el medio se puede interpretar como una presencia presuntiva de *Listeria*. Además parece que el citrato férrico amónico favorece el desarrollo de *L. monocytogenes*.

### Técnica:

La metodología de uso que se describe en el ISO 11290, es la recomendada.

Aunque algunos autores utilizan el Caldo Fraser como único enriquecimiento, se ha verificado que se obtienen mejores resultados cuando se emplea como enriquecimiento secundario, de acuerdo a la siguiente metodología:

- Inocular la muestra en examen en un caldo de enriquecimiento primario, p. ej. UVM I o el Caldo Lovett e incubar durante 18-24 horas.
- Tomar alícuotas de 0,1 mL de este enriquecimiento primario, sembrarlas en porciones de 10 mL de Caldo Fraser, e incubarlas durante  $24 \pm 2$  horas.
- Los tubos que se ennegrezcan o simplemente se oscurezcan se considerarán presuntamente positivos y deberán ser sub-cultivados sobre medios sólidos para el aislamiento y confirmación, p. ej. Oxford Agar, Palcam Agar ó selectivo listeria según Ottaviani & Agosti. Los tubos sin oscurecimiento se consideran negativos y pueden desestimarse o continuar incubándose por otras 24 horas adicionales en caso de duda.

Según las normativas utilizadas, o las muestras a analizar, puede aplicarse distintos tiempos o temperaturas de incubación.

Nota: La posible presencia de precipitados en el medio es normal y no afecta el correcto funcionamiento del medio.

**Control de Calidad****Control Físico/Químico**

Color : Marrón-amarillento      pH: 7,2 ± 0,2 a 25°C

**Control de Fertilidad**Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad) /10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> (Selectividad)

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

Aerobiosis. Incubación a 37°C±1, lectura a las 24-48±2h

**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) ≥ 10 UFC. Coln. azul-verdoso. Halo opaco (A. Ottaviani)**Desarrollo**

Inhibido. Confirmado en TSA a 37°C±1 lectura 24 ± 3h.

Inhibición parcial. Confirmado en TSA a 37°C±1 lectura 24 ±

**Control de Esterilidad**

Incubación 48 horas a 30-35°C v 48 horas a 20-25°C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

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