

Especificación

Caldo para enriquecimiento de *Listeria monocytogenes*

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos			
Botellas 250 ml	1 caja con 10 botellas 250 ml. Tapón blanco	12 meses	2-25°C
con: 225 ± 5 ml	termo-resistente de polipropileno.		

Composición

Composición (g/l):

Peptona de Carne.....	5,0000
Peptona de Caseína.....	5,0000
Extracto de levadura.....	5,0000
Extracto de carne.....	5,0000
Sodio cloruro.....	20,000
Fosfato disódico.....	12,000
Fosfato monopotásico.....	1,3500
Esculina.....	1,0000
Cloruro de litio.....	3,0000
Citrato ferrico amónico.....	0,5000
Ac.Nalidixico.....	0,0200
Clorhidrato de acriflavina.....	0,0250

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 esculetina 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 ± 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.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

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

Control de FertilidadInocular: rango práctico 100 ± 20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad) /10⁴-10⁶ (Selectividad)

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

Aerobiosis. Incubación a 37 ± 1°C, lectura a las 24/44 ± 4h

Microorganismo*Escherichia coli* ATCC® 8739 (1)*Enterococcus faecalis* ATCC® 19433 (2)*Listeria monocytogenes* ATCC® 13932, WDCM 00021 + (1) + (2) ≥ 10 UFC. Coln. azul-verdoso. Halo opaco (A. Ottaviani)*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.