

O.A. Listeria Agar

Chromogenic selective medium for detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp, according to ISO 11290, Part 1 and Part 2.

TYPICAL FORMULA (per liter of medium)

Enzymatic Digest of Animal Tissues	18.0 g
Enzymatic Digest of Casein	6.0 g
Yeast Extract	10.0 g
Sodium Pyruvate	2.0 g
Glucose	2.0 g
Magnesium Glycerophosphate	1.0 g
Magnesium Sulfate, Anhydrous	0.5 g
Sodium Chloride	5.0 g
Lithium Chloride	10.0 g
Disodium Hydrogen Phosphate, Anhydrous	2.5 g
5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Glucopyranoside	0.05 g
Nalidixic Acid	0.02 g
Ceftazidime	0.02 g
Cycloheximide	0.05 g
Polymyxin B Sulphate	76700 IU
L- α -Phosphatidylinositol	2.0 g
Agar	15.0 g
Final pH 7.2 \pm 0.2 at 25°C	

DESCRIPTION

O.A. Listeria Agar is a chromogenic medium used for the selective isolation, differentiation and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp from food, animal feed, environmental samples, and other materials in areas of food production and food handling.

This medium complies with the formulation of Ottaviani and Agosti recommended in ISO 11290-1, ISO 11290-2, FDA-BAM and APHA.

PRINCIPLE

Enzymatic digest of animal tissues and enzymatic digest of casein provide amino acids, nitrogen, carbon, minerals, vitamins and other nutrients for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Sodium pyruvate and glucose are sources of energy. Phosphates act as buffer. Magnesium sulfate provides divalent cations and sulfate. Lithium chloride is a selective agent. 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucopyranoside is the chromogenic substrate for the detection of the β -glucosidase enzyme. Nalidixic acid, ceftazidime, cycloheximide and polymyxin B are the selective agents. The substrate phosphatidylinositol is included to detect the phospholipase activity. Agar is the solidifying agent.

TECHNIQUE

Detection method according to ISO 11290-1

Demi Fraser Broth (ref. 414000) and Fraser Broth (ref. 24131) are used for the primary and secondary enrichments, respectively. Inoculate the surface of O.A. Listeria Agar from both enriched cultures to obtain well-isolated colonies.

Enumeration method according to ISO 11290-2

Use an appropriate diluent, e.g. Buffered Peptone Water (ref. 414030), Demi Fraser Broth (ref. 424010), to prepare an 1 to 9 dilution of the test sample. Inoculate the surface of the medium directly with the initial suspension to obtain well-isolated colonies.

Incubate at 37 \pm 1°C for 24 \pm 2 h and for an additional 24 \pm 2 h.

INTERPRETATION OF RESULTS

All the species of *Listeria* are glucosidase-positive producing blue-green colonies with or without halo. The differentiation of *L. monocytogenes* is based on the formation of an opaque halo around the colony due to the phospholipase C activity.

For the enumeration method count all colonies presumed to be *L. monocytogenes* and/or *Listeria* spp.

For confirmation, subculture onto appropriate non-selective agar, e.g. Blood Agar, Nutrient Agar, TSYEA (ref. 10432). Then, carry out confirmation tests including a positive and negative control.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

2-8°C away from light, until the expiry date on the label. However, our stability studies have shown that the transport at 18-25°C for 4 days, or at 35-39°C for 48 hours, does not alter in any way the performance of the product. Eliminate if signs of deterioration or contamination are evident.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product contains hazardous substances and is classified as dangerous. It is recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is designed for professional use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to the national and local regulations in force.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

REFERENCES

- ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Part 1: Detection Method.
- ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Part 2: Enumeration Method.
- BAM: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* (2017) Bacteriological Analytical Manual. Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods - U.S. Food and Drug Administration.
- APHA (2015): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- Savini V. et al. (2014) Liofilchem® O.A. *Listeria* agar and direct CAMP test provided sooner *Listeria monocytogenes* identification from neonatal bacteremia. *Int J Clin Exp Pathol.* 3:1172-1175.
- Ottaviani, E.; Ottaviani, M. and Agosti, M. (1997): Differential agar medium for *Listeria monocytogenes*. *Ind. Aliment.* 36: 888.



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

O.A. Listeria Agar

PRESENTATION

Ready-to-use plates (140 mm) containing 50 ± 2 ml of medium

STORAGE

2-8°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
10223	10 plates	<ul style="list-style-type: none"> • 5 plates in thermally soldered film • 2 x 5 plates in cardboard box

pH OF THE MEDIUM

7.2 ± 0.2

USE

O.A. Listeria Agar is a medium used for the selective isolation, differentiation and enumeration of *Listeria* spp from food and environmental samples, according to ISO 11290-1 and ISO 11290-2

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Slightly opalescent, amber

SHELF LIFE










4 months

QUALITY CONTROL

- Control of general characteristics, label and print
- Sterility control
7 days at 22 ± 2°C, in aerobiosis
7 days at 35 ± 2°C, in aerobiosis
- Microbiological control
Inoculum for productivity: 50-100 CFU
Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU
Inoculum for specificity: 10³-10⁴ CFU
Incubation Conditions: 48 ± 4 h / 37 ± 1°C

Microorganism		Growth	Specification
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021	Good	Blue green colonies with opaque halo
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Inhibited	---
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibited	---
<i>Listeria innocua</i>	WDCM 00017	Good	Blue green colonies without opaque halo

TABLE OF SYMBOLS

 Batch code	 Do not reuse	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
 Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult instructions for use	



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

O.A. Listeria Agar

Terreno cromogenico selettivo per la ricerca ed il conteggio di *Listeria monocytogenes* e altre specie di *Listeria*, secondo ISO 11290, Parte 1 e Parte 2.

FORMULA TIPICA (per litro di terreno)

Digerito Enzimatico di Tessuti Animali	18.0 g
Digerito Enzimatico di Caseina	6.0 g
Estratto di Lievito	10.0 g
Sodio Piruvato	2.0 g
Glucosio	2.0 g
Magnesio Glicerofosfato	1.0 g
Magnesio Solfato, anidro	0.5 g
Sodio Cloruro	5.0 g
Litio Cloruro	10.0 g
Disodio Idrogeno Fosfato, anidro	2.5 g
5-Bromo-4-Cloro-3-endoil-β-D-Glucopiranoside	0.05 g
Acido Nalidissico	0.02 g
Ceftazidime	0.02 g
Cicloesimide	0.05 g
Polimixina B Sulfato	76700 IU
L-α-Fosfatidilinositolo	2.0 g
Agar	15.0 g
pH Finale 7.2 ± 0.2 a 25°C	

DESCRIZIONE

O.A. Listeria Agar è un terreno cromogenico utilizzato per l'isolamento selettivo, la differenziazione ed il conteggio di *Listeria monocytogenes* e *Listeria* spp da alimenti, mangimi campioni ambientali, ed altri materiali nelle aree di produzione e manipolazione degli alimenti.

Questo terreno è conforme con la formulazione di Ottaviani ed Agosti raccomandata da ISO 11290-1, ISO 11290-2, FDA-BAM ed APHA.

PRINCIPIO

Digerito enzimatico di tessuti animali e digerito enzimatico di caseina forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, minerali, vitamine ed altri nutrienti per la crescita microbica. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, in particolare del gruppo B. Sodio piruvato e glucosio sono fonte di energia. I fosfati agiscono come tampone. Il magnesio solfato fornisce cationi divalenti e solfato. Il litio cloruro è un agente selettivo. 5-bromo-4-cloro-3-endoil-β-D-glucopiranoside è il substrato cromogenico per la ricerca dell'enzima β-glucosidasi. Acido nalidissico, ceftazidime, cicloesimide e polimixina B sono agenti selettivi. Il substrato fosfatidilinositolo è incluso per determinare l'attività della fosfolipasi. L'agar è l'agente solidificante.

TECNICA

Metodo di ricerca secondo ISO 11290-1

Demi Fraser Broth (ref. 414000) e Fraser Broth (ref. 24131) sono utilizzati per l'arricchimento primario e secondario, rispettivamente. Inoculare la superficie di O.A. Listeria Agar utilizzando entrambe le colture per ottenere colonie ben isolate.

Metodo di conta secondo ISO 11290-2

Utilizzare un diluente appropriato, es. Buffered Peptone Water (ref. 414030), Demi Fraser Broth (ref. 424010), per preparare una diluizione 1 a 9 del campione. Inoculare la superficie del terreno direttamente con la sospensione iniziale per ottenere colonie ben isolate.

Incubare a 37 ± 1°C per 24 ± 2 ore e per ulteriori 24 ± 2 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Tutte le specie di *Listeria* sono glucosidasi-positive e producono colonie blu-verdi con o senza alone. La differenziazione di *L. monocytogenes* si basa sulla formazione di un alone opaco attorno alla colonia dovuto all'attività della fosfolipasi C.

Per la conta, considerare tutte le colonie di *L. monocytogenes* e/o *Listeria* spp presuntive

Per la conferma, trasferire la coltura su un appropriato agar non selettivo, es. Blood Agar, Nutrient Agar, TSYEA (ref. 10432). Quindi, procedere con i test di conferma includendo un controllo positivo e uno negativo.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E TRASPORTO

Il prodotto deve essere conservato a 2-8°C al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Tuttavia i nostri studi di stabilità hanno dimostrato che il trasporto a 18-25°C per 4 giorni, oppure a 35-39°C per 48 ore, non altera in nessun modo l'efficienza del prodotto. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento o contaminazione.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente, perciò non è classificato come pericoloso; per il suo impiego si consiglia comunque di consultare la scheda di sicurezza. Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso in ambito professionale e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Part 1: Detection Method.
- ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Part 2: Enumeration Method.
- BAM: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* (2017) Bacteriological Analytical Manual. Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods - U.S. Food and Drug Administration.
- APHA (2015): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- Savini V. et al. (2014) Liofilchem® O.A. *Listeria* agar and direct CAMP test provided sooner *Listeria monocytogenes* identification from neonatal bacteremia. *Int J Clin Exp Pathol.* 3:1172-1175.
- Ottaviani, E.; Ottaviani, M. and Agosti, M. (1997): Differential agar medium for *Listeria monocytogenes*. *Ind. Aliment.* 36: 888.



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

O.A. Listeria Agar

PRESENTAZIONE

Piastre da 140 mm pronte all'uso contenenti 50 ± 2 ml di terreno

CONSERVAZIONE

2-8°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Modalità di confezionamento
10223	10 piastre	<ul style="list-style-type: none"> • 5 piastre in film bisaldante, saldato termicamente • 2 x 5 piastre in scatola di cartone

pH DEL TERRENO

7.2 \pm 0.2

IMPIEGO

O.A. Listeria Agar è un terreno utilizzato per l'isolamento selettivo, la differenziazione ed il conteggio di *Listeria* spp da alimenti e campioni ambientali, secondo ISO 11290-1 ed ISO 11290-2

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto

ASPETTO DEL TERRENO

Ambra, leggermente opalescente

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE










4 mesi

CONTROLLO DI QUALITÀ

1. Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa
2. Controllo sterilità
7 giorni a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, in aerobiosi
7 giorni a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, in aerobiosi
3. Controllo microbiologico
Dimensione inoculo per produttività: 50-100 UFC
Dimensione dell'inoculo per selettività: 10^4 - 10^6 UFC
Dimensione dell'inoculo per specificità: 10^3 - 10^4 UFC
Condizioni d'incubazione: 48 ± 4 ore / $37 \pm 1^\circ\text{C}$

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021	Buona	Colonie blu-verdi con alone opaco
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Inibita	---
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inibita	---
<i>Listeria innocua</i>	WDCM 00017	Buona	Colonie blu-verdi senza alone opaco

TABELLA DEI SIMBOLI

 Numero di lotto	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Data di scadenza	 Fragile, maneggiare con cura
 Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com