O.A. Listeria Agar

Chromogenic selective medium for detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp from clinical specimens and other materials.

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 ± 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 clinical, food and other samples.

This medium complies with the formulation of Ottaviani and Agosti recommended in ISO 11290 (both parts), 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 polymixyn B are the selective agents. The substrate phosphatidylinositol is included to detect the phospholipase activity. Agar is the solidifying agent.

TECHNIQUE

Inoculate the surface of the medium either directly with the specimen or sample or from an enrichment broth trying to obtain well-isolated colonies. Incubate at 37 ± 1°C for 24 ± 2 h and for an additional 24 ± 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 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 does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *in vitro* diagnostic use 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.

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.

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

CE IVD

- 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 90mm plates containing 22 ± 1 ml of medium

STORAGE
2-8°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
10620	20 plates	• 10 plates in thermally soldered film • 2 x 10 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 different materials

TECHNIQUE
Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM
Slightly opalescent, amber

SHELFLIFE
4 months

QUALITY CONTROL
1. Control of general characteristics, label and print
2. Sterility control
   7 days at 22 ± 2°C, in aerobiosis
   7 days at 35 ± 2°C, in aerobiosis
3. Microbiological control
   Inoculum for productivity: 50-100 CFU
   Inoculum for selectivity: 10^4-10^6 CFU
   Inoculum for specificity: 10^3-10^4 CFU
   Incubation Conditions: 48 ± 4 h / 37 ± 1°C

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

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD *In vitro* Diagnostic Medical Device	Manufacturer	Use by	Fragile, handle with care
REF Catalogue number	Temperature limitation	Contains sufficient for <n> tests	Caution, consult instructions for use	Do not reuse

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

CE IVD

O.A. Listeria Agar

Terreno cromogenico selettivo per la ricerca ed il conteggio di *Listeria monocytogenes* e *Listeria* spp da campioni clinici ed altri materiali.

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-indoil-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 campioni clinici, alimenti ed altri campioni.

Questo terreno è conforme con la formulazione di Ottaviani ed Agosti raccomandata da ISO 11290 (entrambe le parti), 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-indoil-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

Inoculare la superficie del terreno direttamente con il campione o con il brodo di arricchimento cercando di 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 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 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 diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.

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.

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

CE IVD

- 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 90 mm pronte all'uso contenenti 22 ± 1 ml di terreno

CONSERVAZIONE
2-8°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Modalità di confezionamento
10620	20 piastre	• 10 piastre in film bisaldante, saldato termicamente • 2 x 10 piastre in scatola di cartone

pH DEL TERRENO
7.2 ± 0.2

IMPIEGO
O.A. Listeria Agar è un terreno utilizzato per l'isolamento selettivo, la differenziazione ed il conteggio di *Listeria* spp da differenti materiali

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 sterilita
   7 giorni a 22 ± 2°C, in aerobiosi
   7 giorni a 35 ± 2°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 ± 1°C

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

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Numero di lotto	IVD Per uso diagnostico *in vitro*	Fabbricante	Data di scadenza	Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> test	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	Non riutilizzare

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

CE IVD