

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	(g/l)
Enzymatic Digest of Animal Tissues	18.0
Enzymatic Digest of Casein	6.0
Yeast Extract	10.0
Sodium Pyruvate	2.0
Glucose	2.0
Magnesium Glycerophosphate	1.0
Magnesium Sulfate, anhydrous	0.5
Sodium Chloride	5.0
Lithium Chloride	10.0
Disodium Hydrogen Phosphate, anhydrous	2.5
5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Glucopyranoside	0.05
Agar	15.0
Final pH 7.2 \pm 0.2 at 25°C	

DESCRIPTION

O.A. Listeria Agar is a chromogenic medium used with supplements 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.

With the addition of O.A. Listeria Supplement (ref. 81074) the 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. Agar is the solidifying agent.

O.A. Listeria Supplement consists of an Enrichment Supplement and a Selective Supplement. They are incorporated in the medium to detect the phospholipase activity and confer further selectivity, respectively. The substrate phosphatidylinositol and the following antimicrobial agents are added: Nalidixic acid, Ceftazidime, Cycloheximide and Polymyxin B.

PREPARATION

Suspend 72 g of powder in 1 liter of deionized or distilled water. Bring to boil and shake until completely dissolved. Sterilize at 121°C for 15 minutes. Cool up to 45-50°C. Aseptically, add the entire content of 2 bottles (40 ml) of O.A. Listeria Enrichment Supplement and rehydrated content of 2 vials (10 ml) of O.A. Listeria Selective Supplement. Mix well and pour in Petri dishes.

NOTE: To reconstitute the selective supplement use an equal part mixture of distilled water and ethanol.

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

L. monocytogenes produce typical blue-green colonies surrounded by an opaque halo. Blue-green colonies with or without halo are considered presumptive *Listeria* spp.

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

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed and use it before the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident. Store prepared plates at 2-8°C away from light.

WARNING AND PRECAUTIONS

For professional use only. Operators must be trained and have certain experience in the laboratory methods. Please read the instructions carefully before using this product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.



LIOFILCHEM® S.r.l.

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

Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.

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.
- 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

STORAGE

10-30°C

pH OF THE MEDIUM

7.2 ± 0.2

USE

O.A. Listeria Agar is a medium used with supplements 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

SHELFLIFE

4 years

QUALITY CONTROL

Appearance of Dehydrated Medium: Free-flowing, homogeneous, whitish beige

Appearance of Prepared Medium: Opalescent, yellow

Expected Cultural Response:

Inoculum: ≤100 CFU (productivity); >10³ CFU (selectivity and specificity)







Incubation: 48 ± 4 h / 37 ± 1°C

Microorganism		Specification
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021	Good growth, blue green colonies with opaque halo
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a	WDCM 00109	Good growth, blue green colonies with opaque halo
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Total inhibition
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Total inhibition
<i>Listeria innocua</i>	WDCM 00017	Blue green colonies without opaque halo

PACKAGING

610601	Dehydrated medium	500 g of powder in plastic bottle
620601	Dehydrated medium	100 g of powder in plastic bottle

TABLE OF SYMBOLS

LOT	Batch code	 Consult instructions for use	 Manufacturer	 Use by
REF	Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Keep away from sunlight



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, 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* ed altre specie di *Listeria*, secondo ISO 11290, Parte 1 e Parte 2.

FORMULA TIPICA	(g/l)
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
Agar	15.0 g
pH Finale 7.2 \pm 0.2 a 25°C	

DESCRIZIONE

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

Con l'aggiunta di O.A. Listeria Supplement (ref. 81074) il terreno è conforme con la formulazione di Ottaviani ed Agosti raccomandata in 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-indoil- β -D-glucopiranoside è il substrato cromogenico per la ricerca dell'enzima β -glucosidasi. L'agar è l'agente solidificante.

O.A. Listeria Supplement è costituito da un supplemento per l'arricchimento e da un supplemento selettivo. Questi vengono incorporati nel terreno per la determinazione dell'attività fosfolipasica e per conferire ulteriore selettività. Vengono quindi aggiunti il substrato fosfatidilinositolo ed i seguenti agenti antimicrobici: Acido nalidissico, Cefotaxime, Cicloesimide e Polimixina B.

PREPARAZIONE

Sospendere 72 g di polvere in 1 litro di acqua deionizzata o distillata. Portare ad ebollizione ed agitare fino a completa dissoluzione. Sterilizzare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C. In asepsi, aggiungere l'intero contenuto di 2 flaconi (40 ml) di O.A. Listeria Enrichment Supplement ed il contenuto reidratato di 2 fiale (10 ml) di O.A. Listeria Selective Supplement. Miscelare bene e versare in piastre Petri.

NOTA: Per ricostituire il supplemento selettivo utilizzare una miscela in parti uguali di acqua ed etanolo.

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 \pm 1°C per 24 \pm 2 ore e per ulteriori 24 \pm 2 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Tutte le specie di *Listeria* sono glucosidasi-positivo 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.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente.. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento. Conservare le piastre preparate a 2-8°C al riparo dalla luce.



LIOFILCHEM® S.r.l.

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

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Solo per uso professionale. Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza nei metodi di laboratorio. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare questo prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni riportate in questo documento.

Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle modalità di manipolazione sicure.

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

CONSERVAZIONE

10-30°C

pH DEL TERRENO

7.2 ± 0.2

IMPIEGO

O.A. Listeria Agar è un terreno utilizzato con supplementi 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

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE

4 anni

CONTROLLO DI QUALITÀ

Aspetto del Terreno Disidratato: Omogeneo, granulometria fine, biancastro beige

Aspetto del Terreno Preparato: Opalescente, giallo

Risultato Attesi dei Test Colturali:

Inoculo: ≤100 UFC (produttività); >10³ UFC (selettività e specificità)

Incubazione: 48 ± 4 h / 37 ± 1°C

Microrganismo	WDCM	Specifiche
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021	Crescita buona, colonie blu-verdi con alone opaco
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a	WDCM 00109	Crescita buona, colonie blu-verdi con alone opaco
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012	Totale inibizione
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Totale inibizione
<i>Listeria innocua</i>	WDCM 00017	Colonie blu-verdi senza alone opaco

CONFEZIONAMENTO

610601	Terreno disidratato	500 g di polvere in flacone di plastica
620601	Terreno disidratato	100 g di polvere in flacone di plastica

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT	Numero di lotto	 Consultare le istruzioni per l'uso	 Fabbricante	 Data di scadenza
REF	Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Tenere al riparo dalla luce solare



LIOFILCHEM® S.r.l.

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