

## BD PALCAM Listeria Agar

### USO PREVISTO

**BD PALCAM Listeria Agar** (agar PALCAM BD para *Listeria*) es un medio selectivo de diferenciación para el aislamiento y la detección de *Listeria monocytogenes* y otras especies de *Listeria* a partir de alimentos y muestras clínicas.

### PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

El agar PALCAM se basa en la fórmula de van Netten et al, quienes desarrollaron este medio selectivo y diferencial para su uso en el aislamiento y recuento de las especies de *Listeria* a partir de muestras alimentarias<sup>1</sup>. APHA y AFNOR recomiendan utilizar el medio PALCAM para detectar *Listeria monocytogenes* en alimentos, y la International Dairy Federation lo recomienda como medio en placa adicional para la detección de las especies de *Listeria* en la leche y los productos lácteos<sup>2-4</sup>. Health Canada también recomienda el medio PALCAM para la detección de *L. monocytogenes* en alimentos y muestras ambientales, así como lo recomienda OADC para la detección del organismo en los alimentos<sup>5,6</sup>. Asimismo, se puede utilizar para el aislamiento de *L. monocytogenes* a partir de muestras clínicas<sup>7,8</sup>.

En **BD PALCAM Listeria Agar**, la base de agar sangre Columbia suministra los nutrientes y cofactores necesarios para el crecimiento de *Listeria*. Se logra selectividad en el medio mediante la presencia de cloruro de litio, sulfato de polimixina B, acriflavina-HCl y ceftazidima, que suprime el crecimiento de la mayoría de los organismos diferentes de las especies de *Listeria* presentes en alimentos y muestras clínicas. La concentración de ceftazidima se reduce de 20 mg/L a 8 mg/L para mejorar el crecimiento y la recuperación de *Listeria*. La diferenciación en el medio PALCAM se basa en la hidrólisis de esculina y la fermentación del manitol. Todas las especies de *Listeria* hidrolizan la esculina, como lo demuestra el oscurecimiento del medio. El producto de la hidrólisis, la esculetina (=6,7-dihidroxicumarina), reacciona con iones férricos hasta producir un complejo de marrón a negro. A veces pueden crecer en este medio organismos diferentes de *Listeria*, tales como los estafilococos o enterococos. El manitol y el indicador de pH, el rojo fenol, se han añadido para diferenciar las cepas fermentadoras de manitol de las especies de *Listeria*. La fermentación de manitol se demuestra por un cambio de color del medio de rojo a amarillo debido a la producción de ácidos.

### REACTIVOS

#### BD PALCAM Listeria Agar

Fórmula\* por litro de agua purificada

Bacto Columbia Blood Agar Base	39,0 g
Manitol	10,0
Glucosa	0,5
Esculina	1,0
Citrato férrico de amonio	0,5
Cloruro de litio	15,0
Rojo fenol	0,08
Clorhidrato de acriflavina	0,005
Sulfato de polimixina B	0,01
Ceftazidima	0,008
Bacto Agar	2,0

pH 7,2 ± 0,2

\*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

## PRECAUCIONES

**IVD** . Solamente para uso profesional.

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

## ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los periodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

## CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar el medio. Incubar en atmósfera aerobia durante 42 – 48 h a 35 – 37 °C y efectuar la lectura después de 18 – 24 h y 42 – 48 h.

Cepa	Resultado del crecimiento
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19112	Crecimiento de aceptable a excelente; colonias de grises a verdes rodeadas de halos de color marrón oscuro a negro en el medio
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de grises a verdes rodeadas de halos de color marrón oscuro a negro en el medio
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición (parcial a) completa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibición completa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inhibición (parcial a) completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibición parcial; colonias amarillentas rodeadas de halos amarillos
Sin inocular	Rojo, transparente o trazas lechosas

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

**BD PALCAM Listeria Agar** (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

### Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

### Tipos y transporte de las muestras

Este medio se utiliza especialmente para el aislamiento de *Listeria* a partir de alimentos y productos lácteos. También se puede utilizar para el aislamiento a partir de muestras clínicas tales como las heces en estudios epidemiológicos de tasas de portadores de *Listeria* o de otras muestras clínicas con alto nivel de contaminación de flora normal (véase también

**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). Para las muestras de zonas corporales principalmente estériles, consultar el **Procedimiento de análisis**.

Las muestras deben enviarse al laboratorio directamente o en medios de transporte. Se pueden utilizar medios de enriquecimiento líquido para *Listeria* como medio de transporte<sup>2-7</sup>. Para el transporte de más de 24 h, las muestras pueden mantenerse congeladas para evitar el crecimiento excesivo de los contaminantes<sup>7</sup>.

### Procedimiento de análisis

Extender la muestra directamente o a partir de un caldo de enriquecimiento en la superficie del medio. **BD PALCAM Listeria Agar** debe inocularse con muestras clínicas si se sospecha un alto nivel de contaminación. Las muestras clínicas de zonas corporales principalmente estériles, por ejemplo, líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico, placenta o muestras fetales, deben extenderse principalmente en medios no selectivos tales como una placa de **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** o **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**. También pueden incluirse medios selectivos para bacterias gram positivas, por ejemplo, **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**<sup>7,8</sup>. Incubar el medio **BD PALCAM Listeria Agar** inoculado en atmósfera aerobia (y todos los medios con sangre en una atmósfera aerobia enriquecida con CO<sub>2</sub>) durante 18 – 24 h a 35 – 37 °C. En caso de resultado negativo, incubar nuevamente durante 24 h más.

### Resultados

En **BD PALCAM Listeria Agar**, las colonias de *Listeria* son de color verde grisáceo con un halo negro. La confirmación de la presencia de *Listeria* se realiza mediante subcultivo en medios apropiados e identificación bioquímica/serológica<sup>2,3,7</sup>. Las colonias de organismos fermentadores de manitol tales como los estafilococos, que pueden crecer en este medio, presentan un color amarillo con un halo amarillo.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

**BD PALCAM Listeria Agar** es uno de los medios aprobados utilizados para el aislamiento selectivo de *Listeria monocytogenes* y otras especies de *Listeria* a partir de muestras alimentarias y clínicas<sup>2-8</sup>.

En este medio, todas las especies de *Listeria* crecen y presentan colonias del mismo aspecto. Por tanto, todos los aislados deben identificarse con los procedimientos bioquímicos y/o serológicos a nivel especie.

La incubación de este medio en una atmósfera aerobia enriquecida con dióxido de carbono o en una atmósfera microaerobia puede causar un cambio de color de rojo a amarillo o naranja en el indicador de pH rojo fenol, lo que se asemeja a una fermentación de manitol falsa positiva. Por tanto, se prefiere una atmósfera aerobia.

Determinadas cepas de *Listeria* pueden crecer lentamente en este medio. Por tanto, las placas inoculadas deben incubarse nuevamente si se produce resultado negativo después de 18 – 24 h.

La *Listeria* puede estar presente en cantidades muy pequeñas en ciertas muestras que se encuentran por debajo del nivel de detección de este medio. En estos casos, tal vez sea necesario el enriquecimiento previo<sup>3-7</sup>.

### REFERENCIAS

1. Van Netten, P., I. Perales, A. Van de Moosalijk, G. D. W. Curtis, and D. A. A. Mossel. 1989. Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. *Int. J. of Food Microbiol.* 8:299-317.
2. L'association française de normalisation (AFNOR). 1993. Food Microbiology- Detection of *Listeria monocytogenes*-Routine Method, V 08-055. AFNOR, Paris.
3. International Dairy Federation. 1990. Milk and milk products - Detection of *Listeria monocytogenes*. IDF Provisional International Standard no. 143. International Dairy Federation, Brussels.
4. Ryser, E.T., and C.W. Donnelly. 2001. *Listeria*. In: Downes, F.P., and K. Ito. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
5. Farber, J. M., D. W. Warburton, and T. Babiuk. 1994. Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food and environmental samples. Health Protection Branch Ottawa, MFHPB-30. Polyscience Publications, Quebec.
6. Bacteriological Analytical Manual. American Organization of Analytical Chemists., 8<sup>th</sup> ed., revision A, 1998. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.

7. Bille, J., J. Rocourt, and B. Swaminathan. 2003. *Listeria* and *Erysipelothrix*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Halle, E., et al. 2000. Genitalinfektionen Teil II. In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ -Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 11. Urban & Fischer, Munich, Germany.

## **ENVASE Y DISPONIBILIDAD**

### **BD PALCAM Listeria Agar**

Nº de cat. 254539                      Medios en placa listos para usar, 20 placas

## **INFORMACIÓN ADICIONAL**

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



### **BD Diagnostic Systems**

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50      Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception\_Germany@europe.bd.com

### **BD Diagnostic Systems Europe**

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636      Fax: +33-476 68 3292      <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company