

BD PALCAM Listeria Agar

USO PREVISTO

BD PALCAM Listeria Agar (agar per *Listeria* PALCAM) è un terreno differenziale selettivo per l'isolamento e la rilevazione di *Listeria monocytogenes* e altre *Listeria* spp. da alimenti e campioni clinici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Agar PALCAM è basato sulla formula di van Netten et al., che hanno allestito questo terreno selettivo e differenziale per l'isolamento e la conta di *Listeria* spp. da campioni alimentari.¹ Il terreno PALCAM è consigliato da APHA e AFNOR per l'identificazione di *Listeria monocytogenes* negli alimenti e dalla International Dairy Federation come terreno di piastratura per rilevare *Listeria* spp. nel latte e nei prodotti caseari.²⁻⁴ Il terreno PALCAM è consigliato anche da Health Canada per isolare *L. monocytogenes* in alimenti e campioni ambientali e da OADC per individuare l'organismo nei cibi.^{5,6} Il terreno può essere usato anche per l'isolamento di *L. monocytogenes* da campioni clinici.^{7,8}

BD PALCAM Listeria Agar utilizza agar sangue Columbia per fornire i nutrienti e i cofattori necessari alla crescita di *Listeria*. La selettività del terreno è dovuta alla presenza di cloruro di litio, solfato di polimixina B, acriflavina HCl e ceftazidime, che sopprimono la crescita di gran parte delle spp. non *Listeria*. La concentrazione di ceftazidime viene ridotta da 20 mg/L a 8 mg/L per facilitare la crescita e l'isolamento di *Listeria*. La differenziazione su terreno PALCAM è basata sull'idrolisi dell'esculina e la fermentazione del mannitolo. Tutte le *Listeria* spp. provocano idrolisi dell'esculina, che si manifesta con l'annerimento del terreno. Il prodotto dell'idrolisi, esculetina (6, 7-diidrossicumarina), reagisce con ioni ferrici formando un complesso da marrone a nero. In alcuni casi, su questo terreno possono crescere organismi diversi da *Listeria*, come stafilococchi o enterococchi. Sono stati aggiunti mannitolo e l'indicatore di pH rosso fenolo per differenziare i ceppi fermentanti il mannitolo dalle *Listeria*. La fermentazione del mannitolo è dimostrata dal viraggio del terreno da rosso a giallo per la produzione di acidi.

REAGENTI

BD PALCAM Listeria Agar

Formula* per litro di acqua purificata

Base agar sangue Columbia Bacto	39,0 g
Mannitolo	10,0
Glucosio	0,5
Esculina	1,0
Citrato ferrico di ammonio	0,5
Cloruro di litio	15,0
Rosso fenolo	0,08
Acriflavina HCl	0,005
Solfato di polimixina B	0,01
Ceftazidime	0,008
Agar Bacto	2,0

pH 7,2 ± 0,2

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni cromatiche, essiccamento, fissurazioni o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare il terreno. Incubare in aerobiosi per 42 – 48 h a 35 – 37 °C e leggere i risultati dopo 18 – 24 h e dopo 42 – 48 h.

Ceppo	Risultato della crescita
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19112	Crescita da discreta a eccellente, colonie grigioverdi con alone da marrone scuro a nero nel terreno circostante
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	Crescita da buona a eccellente, colonie grigioverdi con alone da marrone scuro a nero nel terreno circostante
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione da parziale a completa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibizione completa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inibizione da parziale a completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibizione parziale, colonie giallastre circondate da alone giallo
Non inoculate	Rossa, da trasparente a lievemente appannata

PROCEDURA

Materiali forniti

BD PALCAM Listeria Agar (piastre **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipologia e trasporto dei campioni

Il terreno è usato in particolare per l'isolamento di *Listeria* da alimenti e prodotti caseari, ma anche per l'isolamento da campioni clinici, come le feci, negli studi epidemiologici sul trasporto di *Listeria* o per altri campioni clinici altamente contaminati con la flora normale (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**). Per i campioni prelevati da siti corporei essenzialmente sterili, v. **Procedura del test**. Inviare campioni e prelievi al laboratorio direttamente o su terreni di trasporto. Il liquido di arricchimento per *Listeria* può essere usato come terreno di trasporto.²⁻⁷ Se il trasporto richiede più di 24 h, i campioni possono essere congelati per evitare la crescita eccessiva dei contaminanti.⁷

Procedura del test

Strisciare il campione o il prelievo direttamente o da un brodo di arricchimento sulla superficie del terreno. Se si sospetta una diffusa contaminazione, inoculare **BD PALCAM Listeria Agar** con campioni clinici. I campioni clinici prelevati da siti corporei essenzialmente sterili, ad es. liquido cerebrospinale, liquido amniotico, placenta, o campioni fetali, devono essere strisciati su terreni non selettivi, tipo **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** o **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)**. Si possono aggiungere anche terreni selettivi per batteri Gram-positivi, ad es. **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**.^{7,8} Incubare in aerobiosi il terreno inoculato **BD PALCAM Listeria Agar** (e i terreni contenenti sangue in atmosfera aerobica arricchita con CO₂) per 18 – 24 h a 35 – 37 °C. In caso di esito negativo, incubare per altre 24 h.

Risultati

Su **BD PALCAM Listeria Agar**, le colonie di *Listeria* appaiono grigioverdi con alone nero. Per confermare la presenza di *Listeria*, eseguire le subcolture su terreni appropriati e le analisi di identificazione biochimica/sierologica.^{2,3,7} Le colonie degli organismi fermentanti il mannitolo, come gli stafilococchi, in grado di svilupparsi su questo terreno appaiono gialle con alone dello stesso colore.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD PALCAM Listeria Agar è un terreno approvato per l'isolamento selettivo di *Listeria monocytogenes* e altre *Listeria* spp. da alimenti e campioni clinici.²⁻⁸

Su questo terreno, tutte le *Listeria* spp. crescono e sviluppano colonie di aspetto identico. Pertanto, per identificare gli isolati usare le procedure biochimiche e/o sierologiche adatte alle specie.

L'incubazione del terreno in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica o in atmosfera microaerobica può provocare il viraggio dell'indicatore di pH rosso fenolo da rosso a giallo o arancione, simulando una falsa fermentazione del mannitolo. È quindi preferibile ricorrere all'atmosfera aerobica.

Alcuni ceppi di *Listeria* possono svilupparsi più lentamente su questo terreno. Pertanto, le piastre inoculate devono essere incubate di nuovo se risultano negative dopo 18 – 24 h.

Listeria possono essere presenti in numero molto ridotto in alcuni campioni o prelievi che sono sotto il livello di rilevamento del terreno. In questi casi può essere necessario intervenire con il pre-arricchimento.³⁻⁷

BIBLIOGRAFIA

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. 4th 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., 8th 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. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th 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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD PALCAM Listeria Agar

N. di cat. 254539

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



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