

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

COLICULT-MCC COSMETIKIT® COMPACT-DRY-PLATES®
CRIOTECA® CHROMOSALM DESINFECTEST®
PLAQUIS® KITPRO-5S NUTRILINIA
M-IDENT® SEILAGUA® MUGPLUS CROMOKIT®

DryPlates® LIS

Detección de *Listeria spp.* y presunción de *L.monocytogenes*

DryPlates® LIS: DPP013- (caja 60 u) y DPP013+ (caja 1200 u)

Placas preparadas de medio deshidratado en disco nutriente, estériles y listas para su uso inmediato, que se hidratan precisamente mediante la muestra en el momento de inocularla en frío, lo que ahorra el hervido-fusión-enfriado-a-45°C y las 2 horas de todo este trabajo propio del medio clásico para siembra por inclusión en masa. Extraordinaria caducidad (1 año desde fabricación).

El **Agar Ottaviani & Agosti** (ISO 11290:2004, llamado Cromocitogenes en Microkit) es un medio excelente (selectivo y diferencial) para detección selectiva de *Listeria spp.* (colonias verdes) y de *L.monocytogenes* (colonias verdes con halo) en muestras alimentarias, ambientales y de otros tipos. El sustrato cromogénico detecta la beta-glucosidasa, enzima común en todas las especies de *Listeria* y unas raras cepas de *Enterococos* y *Bacilos*, provocando la aparición de colonias verde-azuladas. Un sustrato adecuado detecta la fosfolipasa propia de *L.monocytogenes*, provocando un halo de lisis/precipitación alrededor de sus colonias. Dado que algunas cepas de *L.ivanovii* también son capaces de provocar halo, se requiere confirmación de las colonias presuntivas con halo, con la simple prueba: Rhamnosa +/Xylosa – (Kit completo KMT012, también disponible en tubos preparados, TPL014, TPL015, y también en medio deshidratado DMT167 + suplementos DMT169 y DMT171). Ahorre el coste de las galerías de identificación! Cuando el inóculo procede de enriquecimiento (cuando no es para recuento de *Listeria*), suelen ser tantas las microcolonias formadas que sólo se suelen apreciar mediante el viraje de la totalidad del medio al mismo color verde-azulado.



Listeria monocytogenes en DryPlates®-LIS: colonias verdes (*Listeria spp.*) que a contraluz muestran un halo a su alrededor.

¡Enhorabuena por utilizar el sustituto del Siglo XXI de los medios deshidratados y de los medios preparados hidratados!

MODO DE EMPLEO para muestras de 1 ml

1. Con unas pinzas, sacar un **disco nutriente** de su bolsa y colocar en la tapa de una placa DryPlates® recién abierta.
2. Añadir al centro de la base de la placa 1 ml de la muestra enriquecida y dejar caer encima el disco nutriente (con pinzas o simplemente cerrando la tapa con disco sobre la base de la placa), nunca al revés. Cerrar la placa. De esta forma y en caso de presencia de *Listeria*, no debemos aspirar a obtener colonias aisladas, sino grandes biomasas que virarán la placa a azul-verdoso. Para recuento en 1 ml, actuar de igual modo pero con 1 ml de muestra no enriquecida, y en tal caso sí se podrán observar y contar colonias verdes con halo.
3. O bien añadir al centro de la base de la placa 1 ml de agua estéril (o solución salina, Ringer, Buffered Peptone Water, Buffered Peptone Neutralizing, LPT Broth...) y dejar caer encima el disco nutriente. Estriar encima el caldo enriquecido, con estría lo más larga posible, para conseguir colonias aisladas. El disco una vez empapado se adhiere muy bien a la placa, por lo que se puede estriar sin problemas. Cerrar la placa.
4. Incubar en estufa, **IMPORTANTE**: en atmósfera húmeda (basta con dejar un vaso de agua lleno en la estufa), sin voltear las placas (el disco abajo) para que no se fugue nada de muestra durante la incubación. Nunca incube las DryPlates® directamente sobre la bandeja de la estufa, intercale dos placas vacías (o el tapón naranja incluido como "base portaplacas" para poner entre la torre de placas y la base metálica de la estufa) para que la DryPlate® no se seque durante la incubación por el exceso de calor del metal; igualmente no deje que la torre de placas toque la paredes de la estufa. Las condiciones de incubación (tiempo y temperatura) son las estándar: 35-37°C durante 24-48 h. Antes de leer, es muy importante verificar que la superficie de la placa sigue húmeda. Las cepas de *Listeria spp.* que no estén en estado subletal o estresado, crecerán desde las primeras 24h como colonias, virajes o estrías verde-azulados (detección precoz). Si no aparecieran estos cambios en 24h, siga incubando para revitalizar las células dañadas sub-letalmente durante la fabricación del producto, hasta las 48 h.

- Leer los resultados buscando sólo el color diana: *Listeria spp.* crece de color verde-azulado (sean colonias aisladas, sean estrías, sean zonas del medio o sea el medio completo). Si se aprecian halos alrededor de dichas colonias, se trata con alta probabilidad de *Listeria monocytogenes* y debe confirmarse con Xylosa/Rhamnosa como indicamos antes.

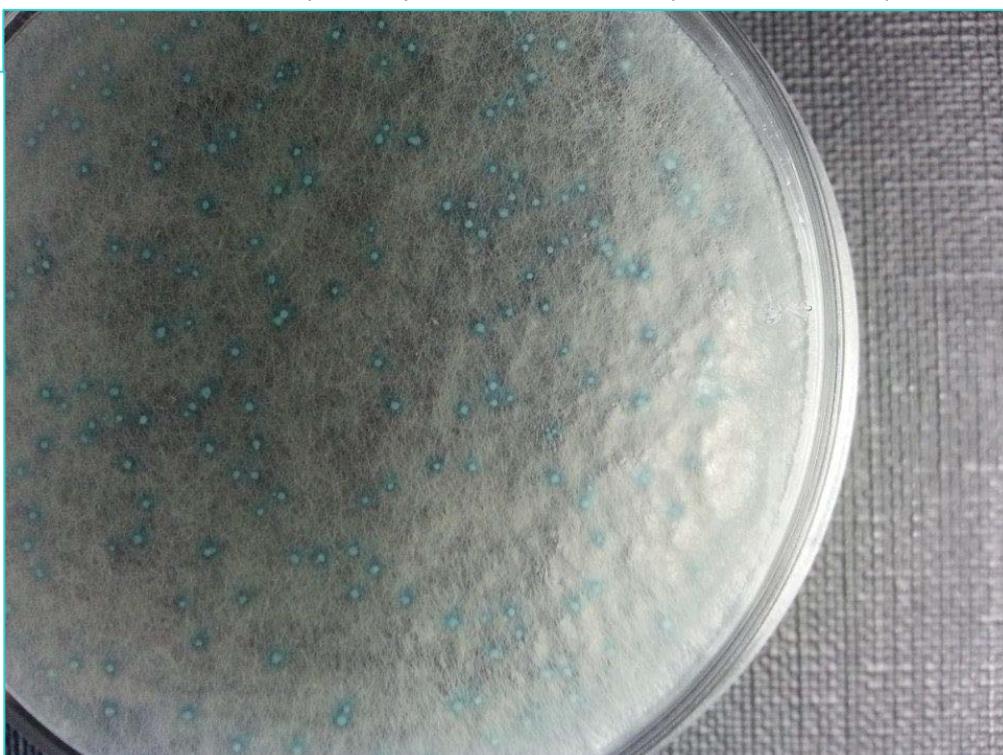
MODO DE EMPLEO para muestras líquidas filtradas (100, 250... ml)

- Siga los mismos pasos que en el caso anterior pero con las siguientes salvedades:
- Prehidrate el disco nutriente incluido en la placa con 1 ml de agua estéril (o solución salina, Ringer, Buffered Peptone Water, Buffered Peptone Neutralizing, LPT Broth...). Recuerde, añada el disco sobre el ml de agua y no al revés.
- Filtrar la muestra líquida (100, 250... ml) por una membrana estéril de 0,45 ó de 0,22 µm y depositar la membrana sobre el disco prehidratado de la DryPlates® LIS, evitando la formación de burbujas entre ambos. Evite estresar las posibles células de *Listeria spp.* retenidas en la membrana: es conveniente enjuagar/revitalizar la membrana una vez recién filtrada la muestra, filtrando acto seguido por ella 100 ml de, por ejemplo, Buff.Peptone ClNa Solution pH 7,0 Pharmacopea (MICROKIT RPL115, DMT301); apague la bomba en cuanto se haya terminado el líquido del embudo de filtración y deposite la membrana sin demora sobre la DryPlates® LIS prehidratada.

MODO DE EMPLEO para ambientes interiores (superficies y aires) y para detección de patógenos tras enriquecimiento

- Puede estriar un escobillón con el que haya barrido una muestra de superficies, o con un asa con caldo enriquecido, sobre cualquier DryPlates®, previamente hidratada con 1 ml de agua estéril (recuerde, el disco sobre el ml de agua y no al revés). El viraje de la estría y las colonias aisladas al final de la misma contrastarán mejor con el color de base del medio.
- También puede dejar la DryPlates® de cualquier medio, previamente hidratada con 1 ml de agua estéril (recuerde, el disco sobre el ml de agua y no al revés), abierta durante 10-15 minutos en los puntos críticos de la sala, para realizar una estimación “de campo” de la flora ambiental (aunque es mejor usar un muestreador tipo Microflow o MBS para obtener recuentos por m³ de aire).

Listeria monocytogenes en DryPlates®-LIS: colonias verde-azuladas (*Listeria spp.*) que a contraluz muestran un halo a su alrededor. Las colonias contrastan perfectamente con el color blanco del medio y el disco. Si no se observan halos pero las colonias son verde-azuladas, dar como positivo para *Listeria spp.* y estriar sobre placa clásica del mismo medio Otaviani & Agosti (PPLM70), donde se podrá observar mucho mejor si existen o no halos.



CONSERVACIÓN Y PRECAUCIONES DE USO

Almacenar a temperatura ambiente (ideal 15-25°C) **¡no en nevera!**, ya que en ésta la humedad es más fácil que prehidrate y estropee los discos nutrientes. Es imprescindible **almacenar en lugar muy seco y oscuro**, ya que la humedad y la luz dañan irreversiblemente los medios de cultivo deshidratados. Si trabaja en zonas de alta humedad atmosférica, almacene las DryPlates®, bien cerradas en su bolsa, dentro de una caja hermética “tupper” con sacos antihumedad (ej: VRB747).

Otros muchos medios en DryPlates®: Aerobios totales (en alimentos y cosméticos, en aguas, en aguas oligotróficas), Levaduras y Mohos, *E.coli* y demás coliformes, Enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Candida albicans*, Enterococos fecales, *Vibrio parahaemolyticus*-*Vibrio cholerae*, Flora acidoláctica. Si necesita otros medios en formato DryPlates® podemos diseñarlos especialmente para Ud.

El usuario final es el único responsable de la eliminación de los microorganismos según la legislación medioambiental vigente.

Autoclavar antes de desechar a la basura. **Validado en base a la Norma UNE-EN-ISO 16140.**

Diseño y fabricación 100% españoles. Derechos de explotación de la PATENTE concedidos a dos empresas: Laboratorios MICROKIT, S.L. (Madrid) y BC Aplicaciones Analíticas, S.A (Barcelona) tras más de 8 años de ensayos y mejoras en sinergia para poder ofrecerle el mejor y más versátil producto de estas características.

DryPlates® es marca registrada por Laboratorios MICROKIT, S.L.

Texto elaborado el 17 de Julio de 2014, actualizado el 28/X/2014.