


**Egalement nommé**

Milieu AL

**Principe**

 Milieu pour l'isolement de *Listeria* spp. et l'identification présomptive de *L. monocytogenes* selon les normes ISO 11290-1 et 11290-2.

**Formule \* en g/L**

Peptone de viande.....	18.000	
Tryptone.....	6.000	Chlorure de lithium.....
Extrait de levure.....	10.000	10.000
Sodium pyruvate.....	2.000	Disodium phosphate anhydre.....
Dextrose.....	2.000	2.500
Magnesium glycerophosphate.....	1.000	5-bromo-4-chloro-3-indolyl-
Magnesium sulphate.....	0.500	β-D-glucopyranoside.....
Chlorure de sodium.....	5.000	0.050
		Agar.....
		13,000
		pH final 7.2 ± 0.2 à 25 °C

\*Ajuster et/ou compléter au besoin pour répondre aux critères de performance

**Préparation**

 Mettre en suspension 33 g de poudre dans 476 ml d'eau purifiée et porter à ébullition sous agitation constante. Stériliser en autoclavage à 121 ° C pendant 15 minutes. Refroidir à 45-50 ° C et ajouter 1 bouteille de supplément d'enrichissement *Listeria* Ottaviani & Agosti (Art. DSHB3072) et 1 flacon de supplément sélectif *Listeria* Ottaviani & Agosti (Art. DSHB3071). Homogénéiser en mélangeant et distribuer dans des boîtes de Pétri. Le milieu solidifié apparaît trouble.

**Description**

 Complété avec tous ses suppléments, la Gélose *Listeria* O&A est un milieu sélectif et différentiel pour la détection des espèces de *Listeria* et l'identification présomptive de *Listeria monocytogenes*.

 La sélectivité est obtenue grâce à la concentration élevée de chlorure de lithium et du mélange d'antimicrobiens. L'activité différentielle est due au substrat chromogène pour détecter la β-glucosidase, enzyme présente dans toutes les espèces de *Listeria*.

 L'identification spécifique est obtenue par le L-α-phosphatidylinositol, qui agit comme substrat pour une phospholipase C qui n'est présente que dans *Listeria monocytogenes* et certaines souches de *Listeria ivanovii*.

 La combinaison des deux substrats permet la différenciation de *L. monocytogenes* qui produit des colonies de couleur bleu-vert mais entourées d'une zone opaque des autres espèces de *Listeria* qui croissent avec des colonies bleu-vert sans aucun halo. Cette différenciation est évidente après incubation des plaques pendant 24 ± 2 heures à 37 ° C.

 Parfois, en particulier avec des échantillons fortement contaminés, il est possible que certaines colonies, de couleur blanche, ne soient pas *Listeria*. Dans ce cas, il est recommandé une étape d'enrichissement préalable à l'inoculation de la plaque.

 Observations: La plupart des *Listeria ivanovii* produisent également un halo opaque autour des colonies après 48 h d'incubation. Cette présomption doit être confirmée par la réalisation des tests d'identification biochimique ou sérologique (fermentation des sucres Ramnosa / Xylose, tests d'hémolyse, test CAMP, etc.) ou de tout test confirmant l'espèce sans hésitation.

**Remarques:**

 Supplément d'enrichissement *Listeria* Ottaviani & Agosti (Art. DSHB3072):

1 flacon de quantité suffisante pour 500 ml de milieu complet

L-α-phosphatidylinositol 1,0 g

Eau distillée stérile 24,0 ml

 Supplément sélectif *Listeria* Ottaviani & Agosti (Art. DSHB3071):

1 flacon quantité suffisante pour 500 ml de milieu complet

Acide nalidixique 10,0 mg

Cefotaxime 10,0 mg

Cycloheximide 25,0 mg

Sulfate de polymyxine B 38350 ui

**Utilisation**

Il existe de nombreuses méthodologies standardisées (ISO, FDA-BAM, AOAC, AFNOR, etc.). Le technicien doit suivre le protocole validé dans son laboratoire.



### Contrôle qualité

**Température d'incubation:** 37 ± 1 °C

**Temps d'incubation:** 44±4 h

**Inoculum:** Gamme d'utilisation 100 ± 20 UFC. min. 50 UFC (productivité) / 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC (sélectivité), ≥10<sup>3</sup> UFC (spécificité), selon l'ISO 11133:2014/Amd 1:2018 & Adm 2:2020

### Micro-organismes

### Croissance

### Remarques

<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Inhibée	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC® 13932	Productivité > 0.50	Colonies bleues-vertes entourée d'un halo opaque
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC® 35152	Productivité > 0.50	Colonies bleues-vertes entourée d'un halo opaque
<i>Listeria innocua</i> ATCC® 33090	Bonne (Spécificité)	Colonies bleues-vertes sans halo opaque
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Inhibé	-

### Références

- Artault, S., j.L. Bind, Y. Delaval, N. Dureuil, N. Gallart (2000) AFNOR validation of the ALOA method for the detection of *Listeria monocytogenes* in foodstuffs. Coll. Soc. Fran. Microbiol. 19-20 Oct. Paris.
- Bannerman, E.S. & J. Bille (1988) A new selective medium for isolating *Listeria* from heavily contaminated material. Appl. Environm. Microbiol. 54:1:165-167.
- Greenwood, M., C. Willis, P. Dosweell, G. Allen & K. Pathak (2005) Evaluation of chromogenic media for the detection of *Listeria* species in food.
- Hitchins, A.D. & K. Jinneman (1998) *Listeria monocytogenes* in FDA-BAM 8th edition Revision A. Updater January 2003. AOAC Intl. Gathersburg. MD. USA.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018 Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 11290-1:2017 Standard. Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and for *Listeria* spp.- Part 1: Detection Method
- ISO 11290-2:2017 Standard. Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and for *Listeria* spp.- Part 2: Enumeration Method
- Jantzen, M.M., J. Navas, M. de Paz, B. Rodriguez, W.P. da Silva & M. Nuñez (2006) Evaluation of ALOA plating medium for its suitability to recover high pressure-injured *Listeria monocytogenes* from ground chicken meat. Letters Appl. Microbiol 43:313-317
- Manafi, M. W. Kneifel & S. Bascomb (1991) Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiol Rev. 55:3:335-348
- Ottaviani, F., M. Ottaviani & M. Agosti (1997) Esperienza su un agar salettivo e differenziale per *Listeria monocytogenes*. Industrie Alimentari 36:1-3
- Victor Lachica, R. (1990) Selective plating medium for quantitative recovery of food-borne *Listeria monocytogenes*. Appl. Environm. Microbiol. 56:1:167-169
- Watkins, J. & K.P. Sleath (1981) Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes* from sewage, sewage sludge and river water. J. Appl. Bacteriol. 50:1-9

### Conservation

Pour usage professionnel uniquement. À conserver fermé, loin de la lumière, dans un endroit frais et sec (+4°C à 30°C).