

ChromArt
ALOA[®]
**AGAR LISTERIA ACC. TO OTTAVIANI & AGOSTI
ALOA[®] ENRICHMENT-SELECTIVE SUPPLEMENTS**

 Terreno in polvere, supplemento selettivo, arricchimento
e terreno pronto all'uso in piastra e flacone.

1 - DESTINAZIONE D'USO

 Terreno di base in polvere, supplemento selettivo e di arricchimento, flaconi e piastre pronte all'uso per la determinazione ed il conteggio di *Listeria monocytogenes* e di *Listeria* spp. nei campioni della filiera alimentare.

2- COMPOSIZIONI
TERRENO IN POLVERE E PRONTO ALL'USO IN FLACONE - FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA)*

Peptone	18,000 g
Triptone	6,000 g
Estratto di lievito	10,000 g
Sodio piruvato	2,000 g
Glucosio	2,000 g
Magnesio glicerofosfato	1,000 g
Magnesio solfato	0,500 g
Sodio cloruro	5,000 g
Litio cloruro	10,000 g
Disodio idrogeno fosfato anidro	2,500 g
5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-glucopiranoside	0,050 g
Agar	13,500 g

ALOA[®] SELECTIVE SUPPLEMENT

Acido nalidissico, sale sodico

Ceftazidime

Cicloeximide

Polimixina B solfato

(contenuto della fiala da 500 ml)

0,010 g

0,010 g

0,025 g

38.350 UI

(contenuto della fiala da 200 ml)

0,004 g

0,004 g

0,01 g

15.340 UI

ALOA[®] ENRICHMENT SUPPLEMENT

L-α- fosfatidilinositolo

(contenuto della fiala 500 ml)

1,0 g

(contenuto della fiala da 200 ml)

0,4 g

PIASTRE PRONTE - FORMULA TIPICA *

Peptone	18,000 g
Triptone	6,000 g
Estratto di lievito	10,000 g
Sodio piruvato	2,000 g
Glucosio	2,000 g
Magnesio glicerofosfato	1,000 g
Magnesio solfato	0,500 g
Sodio cloruro	5,000 g
Litio cloruro	10,000 g
Disodio idrogeno fosfato anidro	2,500 g
5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-glucopiranoside	0,050 g
Agar	13,500 g
L-α- fosfatidilinositolo	2,000 g
Acido nalidissico, sale sodico	0,020 g
Ceftazidime	0,020 g
Cicloeximide	0,050 g
Polimixina B solfato	76700 UI

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

 ALOA è un terreno cromogeno e selettivo per la ricerca ed il conteggio *L. monocytogenes* e *Listeria* spp. per la sua capacità di differenziare *L. monocytogenes* dalle altre specie di *Listeria*, anche in presenza di una flora mista. ALOA è stato comparato con i terreni PALCAM ed Oxford e con diversi altri terreni cromogenici, da diversi autori: tutti i risultati confermano la superiorità del terreno ALOA sia rispetto ai terreni tradizionali¹⁻⁶ che rispetto ad altri terreni cromogenici^{7,8}.

 Il terreno ALOA è raccomandato dalle norme ISO 11290-1⁹ e ISO 11290-2¹⁰ sia per la procedura di ricerca che per quella di conteggio di *L. monocytogenes* e *Listeria* spp; il terreno ALOA è inoltre citato dall'FDA-BAM¹¹ e da altri enti normatori^{12,13}.

 Lequerq¹⁴ riporta che ALOA è risultato il terreno migliore tra i quattro esaminati e che la sua introduzione nei metodi d'analisi in sostituzione di Oxford e PALCAM aumenta l'isolamento ed il conteggio dei ceppi atipici di *L. monocytogenes*.




Gracieux e coll.¹⁵ riportano con ALOA una percentuale di recupero superiore dei ceppi virulenti, ipovirulenti ed avirulenti di *L. monocytogenes* rispetto al terreno PALCAM e ad altro terreno cromogeno.

Sacchetti e coll.¹⁶ riportano che in una sperimentazione su 132 campioni di alimenti, ALOA ed un secondo terreno cromogeno consentono di determinare *L. monocytogenes* in tempi più rapidi e con maggiore sensibilità e specificità rispetto al terreno PALCAM.

Secondo i dati di Jadhav e coll.¹⁷, l'identificazione con MALDI-TOF è risultata ottimale con le colonie sviluppate su terreno ALOA.

I peptoni e l'estratto di lievito forniscono azoto, carbonio, vitamine ed oligoelementi per la crescita microbica. Il glucosio costituisce una fonte di energia, il sodio cloruro mantiene l'equilibrio osmotico, il sodio fosfato bibasico è incluso come sistema tampone. Il sodio piruvato ed i sali di magnesio stimolano la crescita di *Listeria* spp. L'azione selettiva è dovuta alla presenza nel terreno di base del litio cloruro ed all'aggiunta della miscela antimicrobica del supplemento selettivo contenente ceftazidime, polimixina B, acido nalidissico e cicloeximide. L'azione differenziale è dovuta alla presenza nel terreno del composto cromogenico X-glucoside, quale substrato per l'evidenziazione dell'enzima β -glucosidasi, comune a tutte le specie di *Listeria*. L'azione differenziale specifica è ottenuta con un substrato per la fosfolipasi C (PIPLC: phosphatidyl inositol phospholipase C), propria della sola specie *L. monocytogenes* e di alcuni ceppi di *L. ivanovii*. Con l'azione combinata dei due substrati è possibile differenziare le seguenti colonie: *L. monocytogenes*: colonie verde-blu circondate da un alone opaco, *Listeria* spp. non *monocytogenes*: colonie verde-blu senza alone opaco.

4A- PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 35,3 g in 500 ml di acqua distillata fredda, portare ad ebollizione sotto agitazione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C, aggiungere il contenuto di una fiala di ALOA Enrichment Supplement, preriscaldato a 47-50°C ed il contenuto di una fiala di ALOA Selective Supplement ricostituito con 5 ml di una miscela alcool etilico/acqua distillata sterile (1:1). Mescolare bene e distribuire in piastre sterili.

4B- PREPARAZIONE DEL TERRENO IN FLACONE

Sciogliere il contenuto (200 ml) di un flacone di terreno ALOA in bagnomaria a 100°C. Raffreddare a 47-50°C, aggiungere il contenuto di una fiala di ALOA Enrichment Supplement, preriscaldato a 47-50°C ed il contenuto di una fiala di ALOA Selective Supplement ricostituito con 2 ml di una miscela alcool etilico/acqua distillata sterile (1:1). Mescolare bene e distribuire in piastre sterili.

5 - CARATTERISTICHE CHIMICO-FISICHE

Aspetto del terreno in polvere:	polvere fine, omogenea di colore beige
Aspetto del terreno in piastra:	giallo chiaro opalescente
Aspetto del terreno in flacone:	giallo chiaro opalescente
Aspetto del supplemento selettivo:	pastiglia bianca alta compatta, soluzione incolore e limpida dopo ricostituzione
Aspetto del supplemento di arricchimento:	sospensione torbida, gialla con un lieve fondo
pH finale del terreno completo a 20-25°C:	7,2 ± 0,2

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Agar <i>Listeria</i> acc. to Ottaviani & Agosti (ALOA®)	Terreno in polvere	4016052	500 g (7,1 L)
Agar <i>Listeria</i> acc. to Ottaviani & Agosti (ALOA®)	Terreno in polvere	4016054	5000 g (71 L)
ALOA® Enrichment Selective Supplements	Supplemento	423501	4+4 flaconi, ciascuno per 500 ml di terreno
ALOA® Enrichment Selective Supplements	Supplemento	423505	5+5 flaconi, ciascuno per 200 ml di terreno
ALOA® -Agar <i>Listeria</i> acc. to Ottaviani & Agosti	Piastre pronte	541605	2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane; confezionamento secondario: scatola di cartone
ALOA® -Agar <i>Listeria</i> acc. to Ottaviani & Agosti	Piastre pronte	501605P	5 piastre ø 150 mm confezionamento primario: sacchetto di cellophane; confezionamento secondario: scatola di cartone
ALOA® Flasks Kit	Kit terreno pronto in flacone + supplementi	511605K3	4 x 200 ml

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia.

8 - CAMPIONI

Alimenti, mangimi, campioni della filiera alimentare. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni operare in accordo alle norme di buona prassi di laboratorio e fare riferimento alle norme ed agli Standard internazionali applicabili.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Metodo per la determinazione di *L. monocytogenes* e *Listeria* spp. con doppio arricchimento (ISO 11290-1)

- Eseguire l'arricchimento del campione in half-Fraser broth, con un rapporto campione/terreno liquido 1:10 (es. 25 g di campione + 225 ml di half-Fraser broth) ed incubando a 30°C per 25 ± 1 ore.
- Inoculare con 0,1 ml della coltura del primo arricchimento una piastra di terreno ALOA ed una piastra di un altro terreno a scelta del Laboratorio, basato su un principio diverso da quello di ALOA (es. PALCAM o Oxford).
- Eseguire una subcoltura di 0,1 ml dal brodo half-Fraser broth (indipendentemente dal suo colore) in una provetta contenente 10 ml di Fraser broth. Incubare a 37°C per 24 ± 2 ore. Nel caso si desideri determinare specie di *Listeria* diverse da *L. monocytogenes* una incubazione per ulteriori 24 ore consente di recuperare più specie.





- Inoculare con 0,1 ml della coltura del secondo arricchimento una piastra di terreno ALOA ed una piastra di un altro terreno a scelta del Laboratorio, basato su un principio diverso da quello di ALOA (es. PALCAM o Oxford).
- Esaminare per la presenza di colonie tipiche di *L. monocytogenes* le piastre di ALOA dopo incubazione a 37°C ± 1°C per 24 ± 2 ore; se non vi fosse crescita o non vi fossero colonie tipiche, re-incubare per altre 24 ± 2 ore.
- Esaminare le piastre del secondo terreno seminato (es. PALCAM o Oxford) dopo il periodo di incubazione previsto per la presenza di colonie tipiche di *Listeria* spp.
- Confermare le colonie tipiche con le modalità ed i test indicati in ISO 11290-1, previa purificazione delle colonie in Tryptic Glucose Yeast Agar.

Note

- È possibile conservare a 5°C per non più di 72 ore il pre-arricchimento in half Fraser broth, prima della sub-coltura nel brodo di secondo arricchimento (Fraser broth).
- Half-Fraser broth e Fraser broth possono essere conservati a 5 °C per non più di 72 ore prima della semina su piastra.

Metodo per il conteggio di *L.monocytogenes* e *Listeria* spp (ISO 11290-2)

- Preparare una sospensione del campione in Buffered Peptone Water o in altro brodo d'arricchimento in accordo alla norma ISO 6887 (tutte le parti); nel caso si esegua sia la determinazione che il conteggio in accordo alle parti 1 e 2 della norma ISO 11290, la sospensione del campione può essere fatta in half-Fraser broth (con o senza l'aggiunta del supplemento selettivo).
- Inoculare 0,1 ml della sospensione del campione e 0,1 ml delle diluizioni successive su piastre da 90 mm di terreno ALOA.
- In presenza di campioni con sospette cariche basse, inoculare 1 ml della sospensione del campione e 1 ml delle diluizioni successive su piastre da 140 mm di terreno ALOA.
- Esaminare dopo incubazione a 37°C per 24 ± 2 ore e, se non vi fosse crescita o non vi fossero colonie tipiche, re-incubare per altre 24 ± 2 ore.
- Contare le colonie di *L. monocytogenes* e le colonie di *Listeria* spp. nelle piastre in cui vi siano meno di 150 colonie (piastre diametro 90 mm) o 360 colonie (piastre da 140 mm), in accordo a quanto descritto nel capitoletto "lettura ed interpretazione dei risultati".
- Confermare le colonie tipiche con i test indicati in ISO 11290-2, previa purificazione delle colonie in Tryptic Glucose Yeast Agar.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica delle colonie.

Terreno ALOA.

- Considerare come *L. monocytogenes* presunte le colonie blu-verde circondate da un alone opaco (colonie tipiche).
- Considerare come *Listeria* spp. presunte le colonie blu-verde con o senza alone opaco.

Secondo terreno di semina.

Dopo incubazione alla temperatura e per il tempo previsto per il secondo terreno solido selettivo di semina, esaminare per la presenza di colonie tipiche in accordo alle caratteristiche del terreno scelto.

Nota

I test di conferma per *L.monocytogenes*, obbligatori secondo la norma ISO 11290 ed impiegando il terreno ALOA, sono: β-emolisi (+), utilizzo di L-ramnosio (+), utilizzo di D-xilosio (-). I test di conferma opzionali per *L.monocytogenes* sono: esame microscopico (corti e stretti bastoncini o coccobacilli), catalasi (+), mobilità a 25°C (+). I test di conferma obbligatori per *Listeria* spp. sono: esame microscopico (corti e stretti bastoncini o coccobacilli), catalasi (+); quelli facoltativi sono: VP (+), mobilità a 25°C (+).

Se ritenute affidabili (ISO 7218), i test sopra indicati possono essere sostituiti dalle gallerie d'identificazione biochimica.

11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE			SPECIFICHE
			T°/ τ / ATM	
<i>L. monocytogenes</i>	ATCC 13932	37°C /24- 48h A	colonie verdi-azzurre con alone opaco	A/C ≥ 0,5
<i>L. monocytogenes</i>	ATCC 7973	37°C /24- 48h A	colonie verdi-azzurre con alone opaco	A/C ≥ 0,5
<i>L. innocua</i>	ATCC 33090	37°C /24- 48h A	colonie verdi-azzurre, senza alone	
<i>L. ivanovii</i>	ATCC 19119	37°C /24- 48h A	colonie verdi-azzurre, con o senza alone	
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	37°C / 48h A	nessuna crescita (100% inibizione)	
<i>E. faecalis</i>	ATCC 19433	37°C / 48h A	nessuna crescita (100% inibizione)	

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection
A/C (Rapporto di Produttività): UFC sul terreno in esame / UFC SU Tryptic Soy Agar

12- LIMITI DEL METODO

- La lettura delle piastre con una crescita abbondante può essere facilitata comparando l'opacità del terreno ai bordi dove può non esserci crescita con quella del centro piastra oppure comparando con una piastra non seminata. Piastre con una crescita intensa e confluyente di *L.monocytogenes* appariranno comunque intensamente opache; nel caso di crescite intense di *Listeria* spp non *monocytogenes* le piastre non si opacizzeranno. Se sussistessero dubbi procedere al re-isolamento delle colonie.
- L.ivanovii* alle 24 ore e soprattutto dopo 48 ore di incubazione, presenta colonie verde-blu con alone opaco. In questi casi i test di conferma consentiranno un'identificazione corretta.
- Alcuni ceppi di *Bacillus cereus*, resistenti agli agenti selettivi del terreno, possono produrre delle colonie piatte, rugose, di colore da bianco a blu non omogeneo, con un alone largo ed intenso.
- È stato riportato¹ che alcune specie di 6 generi di batteri Gram positivi possono crescere su ALOA e talvolta generare colonie blu o bluastre: *Bacillus* spp. (*B. circulans*, *B. clausii*, *B. licheniformis*, *B. oleronius*), *Cellulosimicrobium funkei*, *Enterococcus* spp. (*E. faecalis*, *E. faecium/durans*), *Kocuria kristinae*, *Marinilactibacillus psychrotolerans*, *Rothia terrae*, *Staphylococcus* spp. (*S. sciuri*, *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus/xylosus*), *Streptococcus*.
- Alcuni ceppi di *L. monocytogenes* in seguito a stress (soprattutto stress acido) possono presentare una ritardata produzione di fosfolipasi C e la formazione ritardata (o anche assente) dell'alone opaco⁹.





- Alcuni ceppi di *L. monocytogenes* possono presentare una lenta produzione di fosfolipasi C e la formazione dell'alone opaco tipico anche dopo 4 giorni di incubazione⁹. Nessun ceppo di *L. monocytogenes* è stato mai descritto come PIPLC-negativo.
- Rari ceppi di *L. monocytogenes* possono non presentare la β -emolisi. Nel caso che colonie tipiche su ALOA fossero β -emolisi negative, si raccomanda di eseguire test di conferma supplementari (Gram, catalasi, mobilità, CAMP test, PCR).

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I prodotti qui descritti sono da impiegare per controlli microbiologici, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il terreno di coltura ed il supplemento qui descritti devono essere usati congiuntamente in accordo al metodo di preparazione indicato.
- I terreni in polvere ed i supplementi contenenti antibiotici devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura in polvere e pronto all'uso qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare i prodotti con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura, supplemento o agenti microbici.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Fare attenzione quando si aprono i flaconi con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Il terreno pronto in flacone è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave a vapore.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno di base ed il supplemento non utilizzati ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiali per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti qui descritti sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Terreno in polvere - Conservare a +2°C /+8°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

Supplemento selettivo liofilo - Conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2-8 °C. Non utilizzare oltre questa data. Una volta ricostituito, il supplemento deve essere usato in giornata.

Supplemento liquido - Conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2-8 °C. Non utilizzare oltre questa data. Aprire il flacone dell'arricchimento liquido con le precauzioni dell'asepsi e, se il contenuto non fosse utilizzato completamente, conservare a 2-8°C fino alla data di scadenza.

Piastre pronte all'uso - Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

Flaconi pronti all'uso - Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Dopo l'apertura della scatola, i flaconi possono essere utilizzati fino alla data di scadenza. Prima dell'uso verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare i flaconi se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, colore alterato).

Il terreno in flacone può essere sciolto a 100°C per una sola volta.

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Angelidis A.S., Kalamaki M.S., Georgiadou S.S. Identification of non-*Listeria* spp. bacterial isolates yielding a β -D-glucosidase-positive phenotype on Agar *Listeria* according to Ottaviani and Agosti (ALOA). *Int. J. Food Microbiol.* 2015, 193 pp. 114–129
2. Artault, S., Bind, J.L., Delaval, Y., Dureuil, N., Gaillard, N. (2000) AFNOR Validation of the ALOA method for the detection of *Listeria monocytogenes* in foodstuffs. Colloque de la Société Française de Microbiologie, Paris, 19-20 Octobre, 2000.
3. Mioni R., Grimaldi M., Bordin, P., Miglioranza, R., Ferrigno, R. (1998) Ricerca di *L. monocytogenes* negli alimenti. Valutazione di un nuovo terreno selettivo e differenziale specie-specifico e di un sistema rapido d'identificazione. *Industrie Alimentari*, XXXVII, giugno, 732.
4. Ottaviani, F., Ottaviani, M., Agosti, M. (1997) Esperienze su un agar selettivo e differenziale per *Listeria monocytogenes*. *Industrie Alimentari*, XXXVI, luglio-agosto, 888.
5. Ottaviani, F., Ottaviani, M., Agosti, M. (1997) Differential agar medium for *Listeria monocytogenes*. *Quimper Froid Symposium Proceedings*, P6 A.D.R.I.A. Quimper (F) 16-18 June, 1997
6. Vlaemynck, G., Lafarge, V., Scotter, S. (2000) Improvement of the detection of *Listeria monocytogenes* by the application of ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium. *J. Appl. Microbiol.*, 88, 430.
7. Beumer, L.L. (2001) Horizontal method for the detection of *Listeria monocytogenes* ISO 11290-1. *Change of Isolation Media*. Wageningen University, The Netherlands.
8. Moroder L (2002) Comparison of alternative methods for the enumeration of *Listeria monocytogenes* in food. *FEMS-Symposium on the Versatility of Listeria species*. Izmir, October 10-11, 2002
9. ISO 11290-1:2017. *Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes and of Listeria spp.* - Part 1: Detection method.





10. ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. - Part 2: Enumeration method.
11. U.S. Department of Health and Human Services, F.D.A. Bacteriological Analytical Manual, Chapter 10, Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods, revision March 2017
12. Shaw S., Nundy D. and Blais B.: Performance of the ALOA medium in the detection of hemolytic *Listeria* species in food and environmental samples. Laboratory Services Division, Canadian Food Inspection Agency, Ottawa, Ontario, Canada K1A 0C6.
13. S Loncarevic, M Økland, E Sehic, H S Norli, T Johansson. Validation of NMKL method No. 136-*Listeria monocytogenes*, detection and enumeration in foods and feed. Int J Food Microbiol. 2008;124(2):154-63
14. Leclercq A. (2004) Atypical colonial morphology and low recovery of *L. monocytogenes* strains on Oxford, PALCAM, Rapid'L.mon and ALOA solid media. J. of Microbiological Methods, 57, 252-258.
15. Gracieux P., Roche S.M., Pardon P., Velge P. (3003) Hypovirulent *L.monocytogenes* strains are less frequently recovered than virulent strains on PALCAM and Rapid'L.mono media. Int. J. Food Microbiol. 83, 133-145.
16. Sacchetti R., Bianucci F., Ambrogiani E. (2003) Detection of *L.monocytogenes* in foodstuffs using chromogenic isolation media. New Microbiol. 26, 269-274.
17. Jadhav S, Gulati V, Fox EM, Karpe A, Beale DJ, Seviar D, Bhawe M, Palombo EA. Rapid identification and source-tracking of *Listeria monocytogenes* using MALDI-TOF mass spectrometry. Int J Food Microbiol. 2015 Jun 2;202:1-9

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF o REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Non riutilizzare	Imballaggio riciclabile Lato superiore
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le istruzioni per l'Uso	Utilizzare entro	Fragile maneggiare con cura	Proteggere dalla luce diretta

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 16	Modifiche del contenuto dei capitoli "Descrizione e principio del metodo", "Precauzioni ed avvertenze", "Conservazione e validità", "Bibliografia" e del layout.	07/2021

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

