

AL protocole court / Gélose

(Agar *Listeria* selon Ottaviani et Agosti)

356-3695 / 356-3965
356-4041 / 356-4042
356-4043 / 355-5200
356-4201

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu **chromogénique** sélectif pour la recherche des *Listeria monocytogenes* et des autres *Listeria*, et le dénombrement des *Listeria monocytogenes* dans les produits destinés à l'alimentation humaine et animale, et dans les échantillons d'environnement.

Ce milieu peut être utilisé dans un protocole décrit dans les normes ou dans un protocole court validé comme méthode alternative aux méthodes de référence.

NF VALIDATION par AFNOR CERTIFICATION selon le protocole EN ISO 16140

La méthode AL protocole court est certifiée NF VALIDATION comme méthode alternative à la norme de référence NF EN ISO 11290-1, selon le protocole ISO 16140, pour la **recherche des *Listeria monocytogenes* et des autres *Listeria* pour tous produits d'alimentation humaine et pour les échantillons d'environnement.**



BRD 07/16 – 01/09
METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSES POUR
L'AGROALIMENTAIRE
Certifié par AFNOR Certification
www.afnor-validation.com

La méthode AL protocole court est aussi certifiée NF VALIDATION comme méthode alternative à la norme de référence NF EN ISO 11290-2, selon le protocole ISO 16140, pour le **dénombrement des *Listeria monocytogenes* pour tous produits d'alimentation humaine et pour les échantillons d'environnement.**



BRD 07/17 -01/09
METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSES POUR
L'AGROALIMENTAIRE
Certifié par AFNOR Certification
www.afnor-validation.com

Pour toute information concernant la fin de validité de la certification NF VALIDATION, consulter les attestations BRD 07/16 – 01/09 et BRD 07/17 -01/09 disponibles auprès de votre représentant Bio-Rad ou d'AFNOR Certification.

REFERENCES NORMATIVES

- **U.S. Department of Health and Human Services U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition** – Département US de la Santé et des Services Humains, Administration de l'Alimentation et de la drogue, Centre pour la sécurité alimentaire et la nutrition appliquée, Bactériologique, Analytique, Manuel en ligne, Janvier 2003.
- **NF EN ISO 11290-1/A1 (Février 2005)** Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 1 Méthode de recherche (IC : V08-028-1).
- **NF EN ISO 11290-2/A1 (Février 2005)** Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 2 Méthode de dénombrement (IC : V08-028-2).

PRINCIPE

Le principe du milieu AL (Agar *Listeria* selon Ottaviani and Agosti) repose sur la détection simultanée de 2 activités enzymatiques : la β -glucosidase et une phospholipase C spécifique du phosphatidylinositol (PI-PLC).

L'activité β -D-glucosidase, commune à toutes les bactéries du genre *Listeria* est mise en évidence à l'aide d'un substrat chromogénique (X-glucoside). Son hydrolyse induit la formation d'une coloration bleue à bleu-vert chez toutes les colonies de *Listeria*.

La PI-PLC est une enzyme retrouvée uniquement chez les espèces pathogènes de *Listeria* : *L. monocytogenes* et *L. ivanovii*.

Le milieu AL contient du phosphatidylinositol dont la dégradation produit un halo opaque autour des colonies de bactéries de ces 2 espèces. Ce halo apparaît généralement après 24h d'incubation chez *L.monocytogenes* et après seulement 48 heures d'incubation

AL protocole court / Gélose

(Agar *Listeria* selon Ottaviani et Agosti)

chez *L. ivanovii*.

La sélectivité du milieu est obtenue par l'action combinée du Chlorure de Lithium, des antibiotiques et de l'antifongique.

PRESENTATION

- 500g **code 356-4043**
- Suppl. 1 qsp 500 ml (10 flacons) **code 356-4041**
- Suppl. 1 qsp 250 ml (100 gélules) **code 356-4201**
- Suppl. 2 qsp 500 ml (10 flacons 25ml) **code 356-4042**

Base prête à l'emploi (à compléter)

- 6 flacons de 237,5 ml (qsp 250ml) **code 355-5200**

Pré-coulé

- 90 mm x 20 boîtes **code 356-3695**
- 90 mm x 120 boîtes **code 356-3965**

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Pré-coulé et suppléments: + 2-8°C à l'obscurité.
- Déshydraté: +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit sec et frais.
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Peptone-de viande	18 g
Tryptone	6 g
Extrait de levure	10 g
Pyruvate de Sodium	2 g
Glucose	2 g
Glycérophosphate de Magnésium anhydre	1 g
Sulfate de Magnésium anhydre	0,5 g
Chlorure de Sodium (NaCl)	5 g
Chlorure de Lithium (LiCl)	10 g
Na ₂ HPO ₄ anhydre	2,5 g
Substrat chromogénique (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucopyranoside)	0,05 g
Acide Nalidixique	0,02 g
Ceftazidime	0,02 g
Sulphate de polymixine B	76700 U
Cycloheximide	0,05 g
Phosphatidylinositol	2 g
Agar	12 g

Base pH_{25°C} = 7.2 ± 0.2

PREPARATIONS :

• SUPPLÉMENTS AL

AL supplement 1 1 flacon qsp 500 ml (356-4041)

En portant des gants de protection en latex, reconstituer aseptiquement le contenu du flacon avec 5 ml d'eau distillé stérile en utilisant une pipette stérile.

AL supplément 1 1 gélule qsp 250 ml (356-4201)

Prêt à l'emploi. En portant des gants de protection en latex, dans un environnement

stérile ouvrir la gélule et ajouter son contenu à un flacon d'AL base (code 355-5200) ou à 237,5 ml de milieu reconstitué à partir de la base déshydratée (code 356-4043).

AL supplement 2, 25ml, flacon qsp 500 ml (356-4042)

Pré-chauffer dans un bain-marie réglé à 44-47°C le supplément pendant au moins 5 minutes.

• DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter le pot de base avant chaque utilisation

Base déshydratée

Mettre en suspension **34,55g** de poudre dans **470 ml** d'eau distillée.

Porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète.

Stériliser à l'autoclave pendant 15 minutes à 121°C.

500 g de base AL permet de réaliser 7.2 litre de milieu complet

Milieu complet

Après autoclavage, refroidir la base à 44-47°C. Ajouter au 470 ml de milieu de base le contenu d'un flacon reconstitué d'**AL supplément 1** qsp 500 ml (356-4041). Agiter pour bien homogénéiser. Ajouter le contenu d'un flacon d'**AL supplément 2 préchauffé** à 44-47°C. Homogénéiser par agitation douce avant de couler en boîte de Pétri. **Attention** la température du milieu de base ne doit pas excéder **50°C** au moment de l'addition du supplément 2. Au-delà de 50°C, il y a un risque de formation d'un précipité dans le milieu.

Empiler les boîtes (maximum 5) pour permettre un refroidissement lent et sécher la surface de la gélose.

• BASE PRÊT A L'EMPLOIS

Milieu complet

Faire fondre le milieu AL base (code 355-5200) et maintenir la gélose en surfusion à 44-47°C. Ajouter l'**AL supplément 1** : Ajouter soit 2.5 ml d'AL supplément 1 (356-4041) reconstitué, soit le contenu d'une gélule AL supplément 1 (356-4201) en portant des gants de protection latex.

Agiter. Ajouter 12.5 ml (la moitié) du flacon d'**AL supplément 2** (code 356-4042) PRE-CHAUFFE à 44-47°C et homogénéiser par agitation douce. Couler en boîte de Pétri.

Attention la température du milieu de base ne doit pas excéder 50°C au moment de l'addition du supplément 2. Il y a un risque de précipitation dans le milieu. Empiler les boîtes (maximum 5) pour permettre un refroidissement lent et sécher la surface de la gélose.

AL protocole court / Gélose

(Agar *Listeria* selon Ottaviani et Agosti)

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) NON FOURNI(S)

- Diluant Tryptone-Sel :
9 ml x 25 tubes (ex.* code 355-5754)
90 ml x 6 flacons (ex.* code 355-5756)
- 500 g (ex.* code 356-4544)
- 5 poches de 2,3 l (ex.* code 355-5791)

Méthode de recherche :

- Bouillon FRASER 1/2 :
Prêt à l'emploi (complet) :
6 flacons de 225 ml (ex.* code 355-5797)
4 poches de 3 L (ex.* code 355-57894)
- Déshydraté :
Base 500 g (ex.* code 356-4604)
Supplément sélectif lyophilisé : Coffret de 10 flacons (ex.* code 356-4616)

Méthode de dénombrement :

- Bouillon FRASER 1/2 sans agents sélectifs avec Citrate de Fer (III) ammoniacal
- Bouillon FRASER 1/2 :
Prêt à l'emploi (complet) :
6 flacons de 225 ml (ex.* code 355-5797)
4 poches de 3 L (ex.* code 355-5794)
- Déshydraté :
Base 500 g (ex.* code 356-4604)
Supplément sélectif lyophilisé : Coffret de 10 flacons (ex.* code 356-4616)

- Eau Peptonée Tamponnée :
6 flacons de 225 ml (ex.* code 355-4179)
500 g (ex.* code 356-4684)
4 poches de 3 L (ex.* code 355-57895)
2 poches de 5 L (ex.* code 355-5790)

Confirmation

- Gélose RAPID'*L.mono*
Précoulé :
90 mm x 20 boîtes (code 356-3694)
90 mm x 120 boîtes (code 356-3964)
Prêt à l'emploi : 1 coffret (code 355-5294)

Déshydraté + suppléments

- 500g (code 356-4293)
- Supplément 1 (10 flacons, qsp 500 ml de gélose de base) (code 356-4294)
- Supplément 2 (10 flacons, qsp 500 ml de gélose de base) (code 356-4746)

- PALCAM
Pré-coulé
20 boîtes x 90 mm (ex.* code 356-3674)
- Déshydraté
500 g (ex.* code 356-4754)
Supplément (ex.* code 356-4752)

*ex. = exemple

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Agitateur-homogénéisateur
- Boîtes de Pétri stériles ($\varnothing = 90$ ou 140 mm)
- Pipettes stériles (0,1 ml ; 1 ml.....)
- Etaleurs stériles
- Pipettes Pasteur stériles
- Bains-marie avec une précision de ± 1 °C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PROTOCOLES ALTERNATIFS

• Recherche des *Listeria monocytogenes* et des autres *Listeria* spp. selon le protocole court :

• Préparation de l'échantillon/ Enrichissement

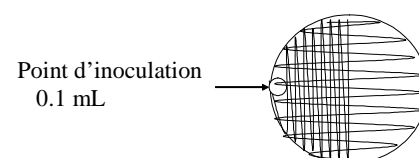
- Diluer n g ou n ml de l'échantillon dans $9 \times n$ ml de bouillon Fraser 1/2.
- Incuber à 30°C (± 1 °C) pendant 24 h (± 2 h).

NB : Après incubation, le bouillon d'enrichissement sélectif FRASER 1/2 peut être conservé au froid (3°C \pm 2°C) pendant 72h, avant ensemencement de la gélose AL.

NB: dans le cadre de la marque NF VALIDATION, les prises d'essai supérieures à 25g n'ont pas été testées.

• Isolement et Incubation

- Pipeter 0,1mL du bouillon Fraser demi après incubation et les déposer sous forme de goutte sur la surface d'une boîte de milieu AL, proche du bord. Etaler l'inoculum avec une anse d'ensemencement stérile sur une moitié de la boîte, puis étaler sur la seconde moitié à partir de la première moitié comme décrit dans le schéma ci-dessous.



- Incuber les boîtes à l'envers à 37°C (± 1 °C) pendant 24 h (± 2 h)

• Lecture

- Réaliser une lecture après 24 heures (± 2 h).

NB 1 : Une lecture après 48h est également possible.

AL protocole court / Gélose

(Agar *Listeria* selon Ottaviani et Agosti)

NB 2: Après incubation, les géloses AL agar peuvent être conservées au froid (2-8°C) pendant 72h avant lecture et confirmation éventuelle.

NB 3 : En présence d'un résultat positif *Listeria monocytogenes* par la méthode validée AL Recherche, il n'est pas nécessaire d'effectuer une nouvelle confirmation si l'échantillon testé a déjà été confirmé positif en *Listeria monocytogenes* lors du dénombrement.

• Dénombrement des *Listeria monocytogenes* selon le protocole court :

• Préparation de l'échantillon/Revivification

- Ensemencer l'échantillon dans de l'Eau peptonée tamponnée ou du bouillon FRASER 1/2 complet (dilution 1/10^{ème}).
- Incuber à 20 °C (± 2 °C) pendant 1 h (± 5 min)

-> Obtention de la solution mère (SM)

NB : l'étape de revivification en Eau peptonée tamponnée est facultative

• Etalement et Incubation

A partir de la solution mère (SM) :

- Etaler 0,1 ml sur 1 boîte de gélose AL en surface ou 1ml en inclusion dans une boîte de gélose AL (ensemencement en profondeur)
- Incuber les boîtes à l'envers à 37 °C (± 1 °C) pendant 48± 3 heures.

NB : S'il est nécessaire, pour certains produits, de procéder à l'estimation de petits nombres, étaler 1 ml en surface de 3 boîtes (~0,33ml/boîte) de gélose AL ou 1ml en inclusion dans une boîte de gélose AL (ensemencement en profondeur)

• Lecture

- Réaliser une lecture après 48 ± 3 heures d'incubation.

NB : Le résultat final du dénombrement est obtenu après 48 heures ±3h. Une première lecture à 24 heures est toutefois possible afin de détecter plus rapidement les échantillons fortement contaminés.

NB 1 : Après incubation, les géloses AL agar peuvent être conservées au froid (2-8°C) pendant 72h avant lecture et confirmation éventuelle.

NB 2 : En présence d'un résultat positif par la méthode validée AL Dénombrement, il n'est pas nécessaire d'effectuer une confirmation dans la mesure où l'échantillon testé a déjà été confirmé positif en *Listeria monocytogenes* lors de la recherche.

NB 3 : Le fait de ne pas confirmer 5 colonies

en dénombrement implique un risque de rendre un résultat surestimé du fait de la présence éventuelle de colonies caractéristiques qui ne seraient pas des *Listeria monocytogenes*.

• Expression du résultat

- Se reporter aux normes 11290-1 et 2, et ISO 7218.

• Confirmation des colonies caractéristiques *Listeria monocytogenes* :

Colonies bleues/bleue-vertes avec halo

Dans le cadre de la marque NF VALIDATION la confirmation d'au moins une colonie caractéristique est nécessaire et doit être effectuée selon une des manières suivantes :

- Par l'utilisation des **tests classiques** décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification).

- Par l'utilisation de sondes nucléiques tel que prévu dans la norme EN ISO 7218 à partir des colonies isolées (avec ou sans l'étape de purification), comme par exemple la PCR **iQ-Check™ *Listeria monocytogenes*** (code **357-8124**).

- Une colonie isolée sur la gélose AL peut être confirmée par un repiquage par spot sur une gélose RAPID'L.mono.

Note : Il est possible de confirmer jusqu'à 12 colonies sur une boîte de gélose RAPID'L.mono.

- L'utilisation de toute **autre méthode certifiée** NF VALIDATION de **principe différent** de la gélose AL. Le protocole validé de la seconde méthode devra être respecté dans son ensemble, c'est à dire que toutes les étapes antérieures à l'étape intermédiaire de laquelle on repart pour la confirmation doivent être communes aux deux méthodes.

Listeria spp. :

Colonies bleues/bleue-vertes avec ou sans halo

Dans le cadre de la marque NF VALIDATION la confirmation d'au moins une colonie caractéristique est nécessaire et doit être effectuée selon une des manières suivantes :

- Par l'utilisation des **tests classiques** décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification).

AL protocole court / Gélose

(Agar *Listeria* selon Ottaviani et Agosti)

- Par l'utilisation de sondes nucléiques tel que prévu dans la norme EN ISO 7218 à partir des colonies isolées (avec ou sans l'étape de purification), comme par exemple la PCR **iQ-Check™** *Listeria* spp. (code **357-8113**).

- Une colonie isolée sur la gélose AL peut être confirmée en réalisant une strie sur une gélose **PALCAM**.

Note : Il est possible de confirmer jusqu'à 6 colonies sur une boîte de gélose PALCAM.

- L'utilisation de toute **autre méthode certifiée** NF VALIDATION de **principe différent** de la gélose AL. Le protocole validé de la seconde méthode devra être respecté dans son ensemble, c'est à dire que toutes les étapes antérieures à l'étape intermédiaire de laquelle on repart pour la confirmation doivent être communes aux deux méthodes.

- En cas de résultats discordants (positif présomptif par la méthode alternative, non confirmé par l'une des options décrites ci-dessus) le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.

• **Confirmation des *Listeria monocytogenes* avec le milieu AL dans le cadre de la méthode RAPID'L.mono certifiée NF VALIDATION (n° BRD: 07/04 - 09/98.)**

La méthode de recherche des *Listeria monocytogenes* avec le milieu RAPID'L.mono permet la confirmation des résultats positifs en utilisant le milieu AL

• **Isolement et incubation**

- Effectuer un spot d'une colonie isolée du milieu RAPID'L.mono directement sur une gélose AL (Il est possible de confirmer jusqu'à 12 colonies sur une boîte de gélose AL)
- Incuber les boîtes à l'envers à 37 °C (± 1 °C) pendant 24 heures (± 2 h)

• **Lecture**

- Réaliser une lecture après 24 heures (± 2 h) d'incubation.

PROTOCOLES NORMATIFS

• **Recherche des *Listeria monocytogenes* selon la norme ISO 11290-1/A1 :**

• **Préparation de l'échantillon/ Enrichissement sélectif primaire**

- Ensemencer η g ou η ml de l'échantillon dans 9 x η ml de bouillon FRASER 1/2.
- Incuber à 30°C (± 1°C) pendant 24 h (± 2 h).

• **Enrichissement sélectif secondaire**

- Ensemencer 0,1 ml du bouillon FRASER 1/2 en fin d'incubation dans 10 ml de FRASER 1
- Incuber à 37 °C (± 1 °C) pendant 48 heures (± 2 h).

• **Isolement et Incubation**

- Prélever le bouillon d'enrichissement en fin d'incubation (Bouillon de Fraser 1/2 ou Fraser 1*) avec une anse d'ensemencement stérile et isoler à la surface de la gélose AL
- Incuber les boîtes à l'envers à 37°C (± 1°C) pendant 24 h (± 3 h) et si nécessaire 24 h (± 3 h) supplémentaires.

* Il n'est pas nécessaire de procéder à un isolement à partir du bouillon Fraser 1 si des colonies typiques de *L. monocytogenes* sont mises en évidence déjà à partir du bouillon Fraser 1/2.

• **Lecture**

- Réaliser une lecture après 24 h (± 3 h) et si nécessaire après 48 h (± 3 h) d'incubation.

• **Dénombrement des *Listeria monocytogenes* selon la norme ISO 11290-2/A1:**

• **Préparation de l'échantillon/Revivification**

- Ensemencer η g ou η ml de l'échantillon dans 9 x η ml d'Eau peptonée tamponnée ou de bouillon FRASER _ sans agents sélectifs avec Citrate de Fer (III) ammoniacal.
- Incuber à 20 °C (± 2 °C) pendant 1 h (± 5 min)
-> Obtention de la solution mère (SM)

• **Etallement et Incubation**

A partir de la solution mère (SM) :

- Etaler 0,1 ml sur 1 boîte d' Agar *Listeria* en accord avec Ottaviani and Agosti (AL)
- Effectuer, si nécessaire, une dilution au 1/10 (ou plus) dans le diluant Tryptone-Sel et étaler 0,1 ml de chaque dilution sur 1 boîte de gélose AL
- Incuber les boîtes à l'envers à 37 °C (± 1 °C) pendant 24 h (± 3 h) et 48 h (± 3 h).
S'il est nécessaire, pour certains produits, de procéder à l'estimation de petits nombres, étaler 1 ml de la SM sur 3 boîtes (~0,33ml/boîte) de gélose AL

• **Lecture**

- Réaliser une lecture après 24 h (± 3 h) et 48 h (± 3 h) d'incubation.

Note : Retenir que les boîtes contenant au maximum 150 colonies caractéristiques et au maximum 300 colonies au total.

• **Confirmation des colonies caractéristiques**

Pour la confirmation et l'identification des colonies présumées *L. monocytogenes*, sélectionner 5 colonies caractéristiques c'est-à-dire

AL protocole court / Gélose

(Agar *Listeria* selon Ottaviani et Agosti)

bleues/bleue-vertes avec halo, (s'il y en a moins, les retenir toutes) et procéder aux tests d'identification selon la norme 11290 résumés dans les tableaux I et II.

Tableau I:
Vérification de l'appartenance au genre *Listeria*

GENRE <i>Listeria</i>	GRAM	CATALASE		MOBILITE				
	+	+						
		1	2	3	4	5	6	7
<i>L.monocytogenes</i>	+	-	+	-	+	-	-	

Tableau II:
Identification de *Listeria monocytogenes*

Légendes :

- 1 : HEMOLYSE
- 2 : C.A.M.P. TEST *R. equi*
- 3 : C.A.M.P. TEST *S. aureus*
- 4 : D-XYLOSE
- 5 : L-RHAMNOSE
- 6 : MANNITOL
- 7 : REDUCTION DES NITRATES
- + : plus de 90 % de réaction positive
- : absence de réaction

PRECAUTION D'EMPLOI

- Les précautions d'usage relatives à la manipulation de produits potentiellement contaminés, dans un laboratoire de microbiologie doivent être observées.
- Pour les boîtes fortement chargées avec une opacification intense de la gélose, la lecture peut être facilitée en comparant l'opacité de la gélose par rapport à une boîte de gélose AL non ensemencée.
- Il existe d'autres bactéries Gram + β -glucosidase positives sans halo (par ex : *Enterococcus* spp.) et avec halo (par ex : *Bacillus* spp.)
- Il existe des souches *L. monocytogenes* β -glucosidase positives lentes.
- Avant d'utiliser les boîtes de gélose AL, laisser sécher, selon la norme ISO 7218, à 25 °C- 50 °C jusqu'à disparition des gouttelettes à la surface du milieu. Toutefois, éviter un séchage prolongé qui pourrait altérer les performances du milieu.
- Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire (EN ISO 7218)

PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

MICRO-ORGANISMES	Aspect des colonies après 24-48 heures d'incubation à 37 °C	
	CROISSANCE	COULEUR
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a WDCM00020	+	Bleues Halo (+)
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b WDCM00021	+	Bleues Halo (+)
<i>Listeria innocua</i> WDCM00017	+	Bleues Halo (-)
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM00009	Inhibition	NA
<i>Escherichia coli</i> WDCM00013	Inhibition	NA

NA = Non Applicable

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Agar *Listeria* according to Ottaviani and Agosti (AL) / *Listeria monocytogenes* / Detection / Enumeration / Food products / Fraser / Glucosidase / Phospholipase / Chromogenic / Medium.

BIBLIOGRAPHIE

• VLAEMYNCK G., LAFARGE V. and SCOTTER S. (2000) : Improvement of the detection of *Listeria monocytogenes* by the application ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium.
J. Applied Microbiology **88**: 430-441.

• OTTAVIANI F., OTTAVIANI M., AGOSTI M. (1997a): Esperienze su un agar selettivo e differenziale per *Listeria monocytogenes*. Industrie Alimentari, **36**, 1-3.

• OTTAVIANI F., OTTAVIANI M., AGOSTI M. (1997b): Differential agar medium for *Listeria monocytogenes*. Quimper Froid Symposium Proceedings p6. ADRIA Quimper France. **16-18** June 1997.