

Listeria-Agar nach Ottaviani und Agosti

Artikel-Nummer 178e

Anwendung

Der Listeria-Agar nach Ottaviani und Agosti ist ein chromogenes, selektives Medium zur Isolierung und Keimzahlbestimmung von *Listeria monocytogenes* aus Lebensmitteln. Mit diesem Nährboden können *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* eindeutig gegen andere Listerien abgegrenzt werden.

Der Nährboden entspricht in seiner Zusammensetzung den Vorgaben der DIN EN ISO 11290-1:2005 und -2:2005.

Typische Zusammensetzung pro l

Fleischpepton	18 g
Caseinpepton	6 g
Hefeextrakt	10 g
Natriumpyruvat	2 g
Glucose	2 g
Magnesiumglycerophosphat	1 g
Natriumchlorid	5 g
Lithiumchlorid	10 g
Magnesiumsulfat	0,5 g
Dinatriumhydrogenphosphat	2,5 g
X-Glucosid (5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl-D-glucoopyranosid)	0,05 g
Ceftazidim	20 mg
Nalidixinsäure	20 mg
Polymyxin B	76700 U
Amphotericin B	10 mg
L- α -Phosphatidylinositol	2 g
Agar	15 g
pH 7,2 \pm 0,2	

Der Nährboden ist leicht trüb und gelblich gefärbt.

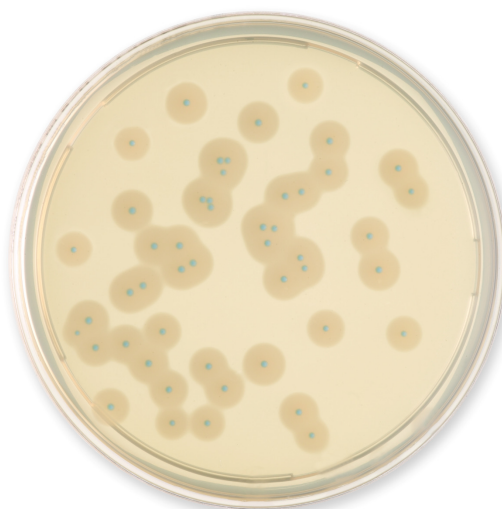
Beschreibung

Durch die reichhaltige Nährstoffkombination aus Fleischpepton, Caseinpepton und Hefeextrakt, angereichert mit Glucose, Natriumpyruvat und Magnesiumsulfat, wird das Wachstum der Listerien gefördert. Die selektiven Agenzien Lithiumchlorid, Nalidixinsäure, Ceftazidim und Polymyxin B hemmen das Wachstum der gramnegativen und grampositiven bakteriellen Begleitflora, während Amphotericin B antimykotisch wirkt.

Das Nachweissystem des Nährbodens basiert auf der Aktivität der beiden Enzyme phosphatidylspezifische Phospholipase C (PIPLC) und β -Glucosidase.

Die mit dem Virulenzprozess assoziierte PIPLC wird nur von den beiden pathogenen Spezies *L. monocytogenes* und *ivanovii* (Mäuse-pathogen) gebildet. Die Aktivität des Enzyms PIPLC wird durch den Abbau des Substrates L- α -Phosphatidylinositol nachgewiesen – es bildet sich ein trüber Hof um die Kolonien.

Das Enzym β -Glucosidase wird von allen Listerien gebildet und spaltet das im Nährboden enthaltene chromogene Substrat X-Glucosid. Die Kolonien aller Listerien wachsen blau.



Listeria monocytogenes

Kulturbedingungen

Der Nährboden wird für das Nachweisverfahren nach DIN EN ISO 11290-1:2005 nach der Voranreicherung in 1/2-Fraser-Bouillon (heipha Art.-Nr. 575225) und anschließend in Fraser-Bouillon (heipha Art.-Nr. 196r) beimpft und aerob 24 ± 3 h bei 37°C inkubiert. Wenn nach 24 ± 3 h Bebrütung das Wachstum schwach ist, keine oder keine typischen Kolonien festzustellen sind, werden die Platten weitere 24 ± 3 h inkubiert.

Für das Zählverfahren nach DIN EN ISO 11290-2:2005 wird der Nährboden mit der Erstverdünnung beimpft und wie oben bebrütet.

Bei einer Inkubation über 48 h hinaus können starke Präzipitatbildner den gesamten Nährboden eintrüben.

Qualitätskontrolle

Teststämme	Kulturbedingungen	Koloniemorphologie
<i>Listeria monocytogenes</i> * ATCC 15313	24 ± 3 h 37°C	gutes Wachstum, mittelgroße, blaue Kolonien mit trübem Präzipitathof
<i>Listeria monocytogenes</i> * ATCC 19115	24 ± 3 h 37°C	gutes Wachstum, mittelgroße, blaue Kolonien mit trübem Präzipitathof
<i>Listeria innocua</i> * ATCC 33090	24 ± 3 h 37°	gutes Wachstum, mittelgroße, blaue Kolonien ohne Präzipitathof
<i>Escherichia coli</i> ** ATCC 8739	48 ± 3 h 37°C	Wachstum vollständig unterdrückt
<i>Bacillus cereus</i> ** ATCC 10876	48 ± 3 h 37°C	Wachstum vollständig unterdrückt
<i>Enterococcus faecalis</i> ** ATCC 29212	48 ± 3 h 37°C	Wachstum vollständig unterdrückt
<i>Aspergillus niger</i> ** ATCC 16404	48 ± 3 h 37°C	Wachstum vollständig unterdrückt

Inokulum *10-00 KBE ; ** 10 000 - 100 000 KBE (Koloniebildende Einheiten)

Weiterführende Identifizierung

Bei den verdächtigen blauen Kolonien mit trübem Hof kann es sich sowohl um *L. monocytogenes* als auch um *L. ivanovii* handeln. Die weitere Differenzierung kann z. B. nach DIN EN ISO 11290:2005 durchgeführt werden.

Literatur

DIN EN ISO 11290-1 (2005-01): Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln. Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von

Listeria monocytogenes – Teil 1: Nachweisverfahren

DIN EN ISO 11290-2 (2005-01): Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln. Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* – Teil 2: Zählverfahren.

Vlaemynck, G. et al. (2000): Improvement of the detection of *Listeria monocytogenes* by the application of ALOA, a diagnostic chromogenic medium. J. Appl. Microbiol. **88**: 430-441.