

Fraser-Anreicherungsbouillon

Zur selektiven, zweistufigen Anreicherung von *Listeria* spp. aus Lebensmitteln und Umweltmaterial. Die Selektivanreicherungen entsprechen DIN EN ISO 11290-1¹ sowie dem §35 LMBG 00.00-32².

Fraser-Anreicherungsbouillon-Basis

Art.-Nr. CM 895

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Proteose-Pepton	5,0
Caseinpepton	5,0
Fleischextrakt 'Lab-Lemco'	5,0
Hefeextrakt	5,0
Natriumchlorid	20,0
Dinatriumhydrogenphosphat	12,0
Kaliumdihydrogenphosphat	1,35
Äsculin	1,0
Lithiumchlorid	3,0
pH 7,2 ± 0,2	

Fraser-Selektiv-Supplement, halbkonz.

Art.-Nr. SR 166 E

Zusammensetzung je Röhrchen

(1 Röhrchen je 225 ml)

Eisen(III)-ammoniumcitrat	112,5 mg
Nalidixinsäure	2,25 mg
Acriflavin	2,8125 mg

Zubereitung

14,35 g Fraser-Bouillon-Basis in 225 ml Aqua dest. lösen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen. Den Inhalt eines Röhrchens Fraser-Selektiv-Supplement, halbkonz. (SR 166E) aseptisch in 4 ml Ethanol/sterilem Aqua dest. (1:1) lösen. Kräftig mischen, z.B. auf einem Labormixer.

Das Fraser-Selektiv-Supplement, halbkonz. (SR 166G) löst sich rückstandsfrei, wenn 40 ml Ethanol/sterilem Aqua dest. (1:1) zugegeben werden und kräftig geschüttelt wird. 1 Röhrchen SR 166G ist für 2,25 l Nährboden bestimmt.

Fraser-Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR 156

Zusammensetzung je Röhrchen

(1 Röhrchen je 500 ml)

Eisen(III)-ammoniumcitrat	250,0 mg
Nalidixinsäure	10,0 mg
Acriflavin	12,5 mg

Zubereitung

28,7 g Fraser-Bouillon-Basis in 500 ml Aqua dest. lösen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen. Den Inhalt eines Röhrchens Fraser-Selektiv-Supplement aseptisch in 5 ml Ethanol/sterilem Aqua dest. (1:1) lösen. Den gelösten Inhalt zu 500 ml, auf 50°C abgekühlter Fraser-Bouillon-Basis geben. Kräftig mischen und zu je 10 ml in sterile Röhrchen oder Fläschchen abfüllen.

Beschreibung

Zur Isolierung, Koloniezahlbestimmung und Identifizierung von *Listeria monocytogenes* aus Lebensmitteln wurden viele Methoden und Nährböden entwickelt. Allgemein anerkannt ist, daß die Zwei-Stufen-Anreicherung nach USDA-FSIS, bei der die *Listeria*-Anreicherungen UVM I und II eingesetzt werden, zur Untersuchung von Fleischprodukten am geeignetsten ist. Ebenfalls nachgewiesen ist, daß die außerordentliche Genauigkeit der Fraser-Anreicherungsbouillon beim Nachweis von *Listeria* spp. aus Lebensmitteln und Umweltmaterial außerordentlich genau ist^{3,4}.

Fraser-Anreicherungsbouillon ist eine Modifikation der in der USDA-FSIS vorgeschriebenen sekundären *Listeria*-Anreicherungsbouillon (UVM II) und basiert auf der Zusammensetzung von Fraser und Sperber³.

Sie enthält Äsculin, Eisen(III)-ammoniumcitrat und Lithiumchlorid. Alle *Listeria* spp. hydrolysieren Äsculin zu Äscu-

letin und Glucose. Äsculetin bildet mit den vorhandenen Eisen(III)-Ionen schwarze Präzipitate. Der Zusatz von Eisen(III)-ammoniumcitrat fördert zudem das Wachstum von *L. monocytogenes*⁵. Lithiumchlorid wurde der Bouillon zugesetzt, da es das Wachstum von Enterokokken hemmt, die ebenfalls Äsculin hydrolysieren können. Eine Halbierung der Konzentration von Nalidixinsäure und Acriflavin in der Primäranreicherung bewirkt eine verbesserte Anzucht vorgeschädigter *Listerien* aus Lebensmitteln und Umweltproben.

Die Schwarzfärbung der Bouillon zeigt präsumtive *Listerien* an. Kulturen, die sich nach 48 Stunden Bebrütung nicht schwarz färben, können als frei von *Listerien* betrachtet werden. Eine Subkultivierung auf festen Nährböden kann entfallen.

Kulturverfahren

- 25 g oder 25 ml Lebensmittel in 225 ml halbkonzentrierte Fraser-Anreicherungsbouillon (oder andere Untersuchungsmengen im Verhältnis 1:10) geben und 24 Stunden bei 30°C inkubieren.
- 0,1 ml der Primäranreicherung in 10 ml Fraser-Anreicherungsbouillon geben und 48 Stunden bei 37°C bebrüten.
- Ungeachtet einer etwaigen Verfärbung werden aus der halb- sowie der vollkonzentrierten Anreicherung jeweils 2 Selektivmedien beimpft:
 - PALCAM-Selektivnährboden
 - Oxford-Selektivnährboden

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Supplement: 2-8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

(Wachstum mit Schwarzfärbung)

Listeria monocytogenes ATCC 19117

Negativkontrolle

(kein Wachstum, keine Schwarzfärbung)

Enterococcus faecalis ATCC 29212

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Micrococcus luteus ATCC 9341

Acinetobacter baumannii ATCC 19606

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Zusätzliche Hinweise

Gebrauchsfertigen Nährboden dunkel lagern. Acriflavin bildet bei Lichteinwirkung Inhibitoren und kann dann das Wachstum von *Listerien* hemmen.

Beim Wiederauflösen des Fraser-Selektiv-Supplements entsteht eine feinkörnige Suspension, die vor der Zugabe zur sterilen Basisbouillon gut gemischt werden muß.

Literatur

- DIN EN ISO 11290-1: "Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* - Teil 1: Nachweisverfahren"
- BGA „Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG“ L00.00-32: „Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes*. Teil 1: Nachweisverfahren“

Nährböden

3. Fraser, J.A. und Sperber, W.H. (1988) J. Food Protect. 51, Nr. 10, 762-765.
4. McClain, D. und Lee, W.H. (1988) J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71, Nr. 3, 660-664.
5. Cowart, R.E. und Foster, B.G. (1985) J. Infect. Dis. 151, 721-730.