

OXOID-CHROMOGEN-LISTERIA- SELEKTIVNÄHRBODEN (OCLA)

Oxoid-Chromogen-Listeria-Agar-Basis

Art.-Nr. CM1080

Listeria-Chromogen- Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR0227

Listeria-Chromogen- Differenzierungs-Supplement

Art.-Nr. SR0228

Art.-Nr. PO5165A (Fertigplatte)

**Ein Medium für die Isolierung,
Keimzählung und präsumtive
Identifizierung von *Listeria* spp.
und *Listeria monocytogenes* aus
Lebensmitteln.**

Durch die Spaltung eines X-Glucosid-Chromogens wachsen *Listeria* spp. als blaue Kolonien.

• Präsumtive Identifizierung von *Listeria monocytogenes*

Eine Hydrolyse von Lecithin durch Phospholipase-Aktivität von *Listeria monocytogenes* wird als opake Zone um die Kolonie erkennbar.

• Selektiv

Lithiumchlorid, Nalidixinsäure, Ceftazidim, Amphotericin und Polymixin inhibieren das Wachstum der Begleitflora, wie z.B. *Bacillus* spp. und Enterokokken.

• Zugelassen

OCLA wurde validiert und zugelassen durch AFNOR (Referenz: UNI 03/04 – 04/05)¹.

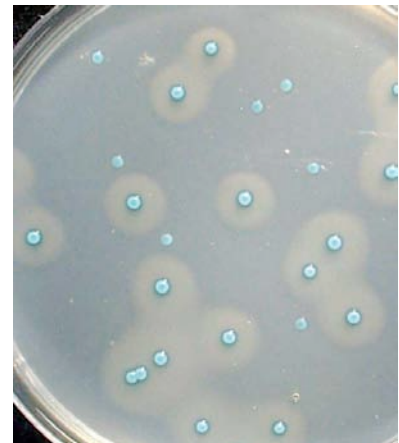


Abb.:

L. monocytogenes: blaue Kolonien mit trübem Hof
Listeria spp.: blaue Kolonien ohne Hof

• Präsumtive Identifizierung von *Listeria* spp.



OXOID-Chromogen-Listeria-Selektivnährboden (OCLA) Art.-Nr. CM1080 + SR0227 + SR0228

Verwendungszweck

OCLA ist ein selektives Medium für die präsumtive Identifizierung und Differenzierung von *L. monocytogenes* und anderen *Listeria* spp. aus Lebensmitteln.

Testprinzip

Die präsumtive Identifizierung von *Listeria* spp. basiert auf der Spaltung des Chromogens X-Glucosid durch die β -Glucosidase. Andere Organismen, die dieses Enzym exprimieren, wie z.B. Enterokokken, werden durch Lithiumchlorid, Polymixin B und Nalidixinsäure gehemmt. Amphotericin hemmt das Wachstum von Hefen und Schimmelpilzen.

Die Differenzierung von *L. monocytogenes* und pathogenen *L. ivanovii* erfolgt dann aufgrund ihrer Fähigkeit zur Bildung der Lecithinase, einer Phospholipase. Das Enzym hydrolysiert das im Medium enthaltene Lecithin, wodurch sich trübe Präzipitationszonen um die Kolonien bilden.

Zusammenfassung

Wie in der Originalrezeptur nach Ottaviani und Agosti¹ basiert bei OCLA die präsumtive Identifizierung von *Listeria* spp. auf der enzymatischen Spaltung eines chromogenen Substrates. Bei der modifizierten OCLA-Rezeptur werden jedoch pathogene *Listeria* spp. durch den Nachweis der Lecithinase (Phosphotidylcholin-Phospholipase C - PCPLC), anstatt der Phosphotidylinositol-Phospholipase C (PIPLC) weiter differenziert. Beide Enzyme, PCPLC und PIPLC, sind für die Ausprägung der Pathogenität essentiell. Dagegen ist der alleinige Nachweis schon eines der Enzyme hinreichend bzgl. einer generellen Aussage über die Pathogenität. *L. monocytogenes* als bekannteste pathogene *Listeria* spp. ist sowohl human- als auch tierpathogen. Einige *L. ivanovii* - Stämme bilden auch die Lecithinase und obwohl *L. ivanovii* primär tierpathogen ist, wurden Infektionen beim Menschen beschrieben³. Studien belegen die Überlegenheit dieses Mediums gegenüber PALCAM oder Oxford für die Isolierung von *L. monocytogenes*⁴.

Typische Zusammensetzung

	(g/l)
OXOID-Chromogen-Listeria-Agar-Basis	
Pepton	18,5
Hefeextrakt	4,0
Natriumchlorid	9,5
Natriumpyruvat	2,0
Lithiumchlorid	15,0
Maltose	4,0
X-Glucosid Chromogene Mischung	0,2
Agar	14,0

Listeria-Chromogen-Selektiv-Supplement

Nalidixinsäure	0,026
Polymixin B	0,01
Ceftazidim	0,006
Amphotericin	0,01

Listeria-Chromogen-Differenzierungs-Supplement

Lecithin-Lösung	40 ml
-----------------	-------

pH 7,2 \pm 0,2 bei 25°C

Zubereitung

33,6 g in 480 ml Aqua dest. suspendieren, gut mischen und 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Das Medium auf 46°C abkühlen und den nach Vorschrift gelösten Inhalt eines Röhrchens Listeria-Selektiv-Supplement und ein Röhrchen Listeria-Differential-Supplement zugeben. Gut mischen und in sterile Petrischalen gießen.

Durchführung

OCLA kann zur Subkultivierung nach Anreicherung verwendet werden, z.B. ISO, NMKL, BAM u.a. Im folgenden Protokoll wird die ONE-Bouillon verwendet, wobei diese Methode AFNOR-validiert ist und gleiche Ergebnisse zum Verfahren nach ISO 11290-1:1997 zeigt^{1,5}.

- 25 g Untersuchungsmaterial in 225 ml ONE-Bouillon (CM1066 & SR0234) geben und im Stomacher für mindestens 30 Sekunden zerkleinern.
- Bouillon ohne Schütteln bei 30°C für 24 \pm 2 Stunden inkubieren.
- Vorsichtig den Beutel schütteln, mit einer Impföse 10 μ l entnehmen, auf OCLA ausstreichen und bei 37°C für 24 \pm 2 Stunden inkubieren. Die Platten auf blaue Kolonien mit bzw. ohne Präzipitationszone hin untersuchen.
- Bei der Untersuchung von Fleischproben sind negative Platten weitere 24 \pm 2 Stunden zu bebrüten.
- Präsumtive Kolonien als *L. monocytogenes* oder *Listeria* spp. bestätigen, z.B. Gramfärbung, Katalase, OXOID O.B.I.S. mono **ID0600M**, OXOID Listeria Latex Test **DR1126A**, Microbact Listeria 12L **MB1128A**.

Typische Koloniefarben auf OCLA

Organismus	Typische Koloniefarbe*
<i>L. monocytogenes</i>	blau/grün, opake Zone
Lecithinase positive <i>L. ivanovii</i>	blau/grün, opake Zone
Lecithinase negative <i>L. ivanovii</i>	blau/grün, keine Zone
Andere <i>Listeria</i> spp.	blau/grün, keine Zone

*Die Koloniefarbe ist eine präsumtive Identifizierung, weil sie abhängig von der Enzymaktivität ist.

Beschaffenheit

Trockennährboden: strohfarbenedes, fein-fließendes Pulver
Selektiv-Supplement: weißes, gefriergetrocknetes Pellet
Differential-Supplement: creamfarbene opake Flüssigkeit
Zubereiteter Nährboden: honiggelbes, transparentes Gel

Vorsichtsmaßnahmen

in vitro Diagnosticum.

Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden. Bei Verklumpungen, Verfärbungen oder anderen sichtbaren Verfallsanzeichen sollte das Produkt ebenfalls nicht eingesetzt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden: fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–30 °C.

Supplemente: dunkel, 2–8°C.

Bei vorschriftsmäßiger Lagerung sind die Produkte bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar.

Qualitätskontrolle

Spezies	Culti-Loops®	Wachstum
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	C3970L	Gutes Wachstum Blau/grüne Kolonien mit Hof
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090	C9005L	Gutes Wachstum Blau/grüne Kolonien ohne Hof
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	C7030L	Inhibiert

Literatur

- Oxid Folio No. 1059. AFNOR-Referenz: UNI 03/04-04/05
- Ottaviani, F., Ottaviani, M., Agosti, M. (1997) Quimper Froid Symposium Proceedings, P6 A.D.R.I.A. Quimper (F) 16-18 June
- Cummins, A.J., Fielding, A.K., McLauchlin, J. (1994) *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS. *J. of Infection* **28**:89-91.
- Daten bei OXOID gespeichert
- ISO 11290-1:1997 Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* Part 1: Detection Method.

Oxoid GmbH

Postfach 10 07 53 • D-46467 Wesel - Am Lippeglacis 4-8 • 46483 Wesel
Telefon Service-Center (0281)152-233 • Fax (0281)152-214