

# CHROMOGENER LISTERIA- SELEKTIVNÄHRBODEN (ISO)

## Chromogen-Listeria-Agar-Basis (ISO)

Art.-Nr. CM1084

## Chromogen-Listeria Selektiv-Supplement (ISO)

Art.-Nr. SR0226

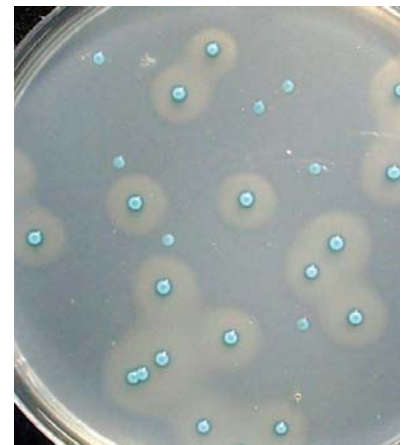
## Brilliance™ Listeria Differential-Supplement

Art.-Nr. SR0228

oder

## L- $\alpha$ -Phosphatidylinositol

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



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

- **Präsumtive Identifizierung von *Listeria* spp.**

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

- **Präsumtive Identifizierung von *Listeria monocytogenes***

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

- **Selektiv**

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

- **Empfohlen**

Die Agar-Basis und das Selektiv-Supplement von Oxoid entsprechen der Zusammensetzung des Mediums nach DIN EN ISO 11290-1:2005-01 <sup>1</sup> und DIN EN ISO 11290-2:2005-01 <sup>2</sup>.



**Chromogener Listeria-Selektivnährboden (ISO)**  
**Art.-Nr. CM1084 + SR0226 sowie entweder SR0228 oder L-α-Phosphatidylinositol**

**Zusammenfassung**

Das Medium ist für die Identifizierung von *Listeria* spp. auf Basis der enzymatischen Spaltung eines chromogenen Substrates entwickelt worden. Die Chromogen-Agar-Basis (ISO) und das Chromogen-Listeria-Selektiv-Supplement (ISO) entsprechen der in DIN EN ISO 11290-1:2005-01 genannten Rezeptur des Listerien-Agars von Ottaviani und Agosti<sup>1</sup>.

Die Rezeptur von Ottaviani und Agosti beinhaltet außerdem Phosphatidylinositol, so dass die von *L. monocytogenes* gebildete Phosphatidylinositol-Phospholipase C (PIPLC) nachgewiesen wird. Die Zugabe von 2 g/l Phosphatidylinositol zur Chromogen-Listeria-Agar-Basis (ISO) und dem Chromogen-Listeria-Selektiv-Supplement (ISO) entspricht dann exakt der ISO-Rezeptur des Nährbodens<sup>1</sup>.

Alternativ kann Lecithin (Brilliance™ Listeria-Differential-Supplement; SR0228) anstatt Phosphatidylinositol zugegeben werden, wodurch die Phosphatidylcholin-Phospholipase C – (PCPLC)-Aktivität nachgewiesen wird.

Beide Enzyme, PCPLC und PIPLC, sind für die Ausprägung der Pathogenität essentiell. Dabei 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 diese Enzyme und obwohl *L. ivanovii* primär tierpathogen ist, wurden Infektionen beim Menschen beschrieben<sup>3</sup>. Studien belegen die bessere Performance dieses Mediums gegenüber PALCAM und Oxford für die Isolierung von *L. monocytogenes*<sup>4</sup>.

**Testprinzip**

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

Die Differenzierung von *L. monocytogenes* und pathogenen *L. ivanovii* von anderen *Listeria* spp. erfolgt dann aufgrund ihrer Fähigkeit zur Bildung der Phospholipase-Enzyme PIPLC und PCPLC, die das im Medium enthaltene Phosphatidylinositol oder Lecithin hydrolysieren, wodurch sich trübe Präzipitationszonen um die Kolonien bilden.

**Typische Zusammensetzung**

<b>Chromogen-Listeria-Agar-Basis (ISO)</b>	<b>CM1084</b>
Enzymatischer Verdau von tierischem Gewebe	18,0
Enzymatischer Verdau von Casein	6,0
Hefeextrakt	10,0
Natriumpyruvat	2,0
Glucose	2,0
Magnesiumglycerophosphat	1,0
Magnesiumsulfat (wasserfrei)	0,5
Natriumchlorid	5,0
Lithiumchlorid	10,0
Dinatriumhydrogenphosphat (wasserfrei)	2,5
X-Glucosid Chromogene Mischung	0,05
Agar	12,0

**Chromogen-Listeria-Selektiv-Supplement (ISO) SR0226**

Nalidixinsäure	0,02
Polymixin B	76.700 IU
Ceftazidim	0,02
Amphotericin B	0,01

**Brilliance™ Listeria-Differential-Supplement SR0228**

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

**ODER**

<b>L-α-Phosphatidylinositol (SIGMA, Art.-Nr. P6636)</b>	2,0 g
---	-------

pH 7,2 ± 0,2 bei 25°C

**Zubereitung**

**(i) ISO-Formulierung, modifiziert**

34,5 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 Chromogen-Listeria-Selektiv-Supplement (ISO) und ein Röhrchen Brilliance™ Listeria-Differential-Supplement zugeben. Gut mischen und in sterile Petrischalen gießen.

**(ii) ISO-Formulierung**

34,5 g in 475 ml Aqua dest. suspendieren, gut mischen und 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Das Medium auf ca. 50°C abkühlen. 1 g L-α-Phosphatidylinositol (SIGMA, P6636) in 25 ml A. dest lösen, gut mischen und nach dem vollständigen Lösen 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Den nach Vorschrift gelösten Inhalt eines Röhrchens Chromogen-Listeria-Selektiv-Supplement (ISO) und 25 ml der zubereiteten Phosphatidylinositol-Lösung zur abgekühlten Nährboden-Basis zugeben. Gut mischen und in sterile Petrischalen gießen.

**Durchführung**

Der Nährboden kann zur Subkultivierung nach Anreicherung, z.B. gemäß ISO, NMKL, FDA, AFNOR (UNI 03/04 – 04/05<sup>5</sup>), verwendet werden. Die folgende Methode ist eine Zusammenfassung nach DIN EN ISO 11290-1:2005-01 :

- 25 g Untersuchungsmaterial in 225 ml halbkonzentrierte Fraser-Bouillon geben und im Stomacher für mindestens 30 Sekunden zerkleinern.
- Bouillon bei 30°C für 24±3 Stunden inkubieren.
- Vorsichtig den Beutel schütteln, dann mit einer Impföse den Chromogenen Listeria Agar (gemäß Ottaviani und Agosti) und einen zweiten Selektivnährboden nach Wahl (z.B. PALCAM) inokulieren und bei 37°C für 24±3h inkubieren. Falls negativ, für weitere 24±3h inkubieren (PALCAM-Agar sollte mikroaerophil bebrütet werden, um beste Ergebnisse zu erreichen).
- Die PALCAM-Platten auf schwarze Kolonien und den Chromogenen Listeria Agar auf blaue Kolonien mit bzw. ohne Präzipitationszone hin untersuchen.
- Aus der bebrüteten halbkonzentrierten Fraser-Bouillon 0,1 ml in 10 ml Fraser-Bouillon inokulieren. Bei 37°C für 48±3h bebrüten und mit Schritt 3,4 und 6 fortfahren.
- Präsumtive Kolonien als *L. monocytogenes* oder *Listeria* spp. durch geeignete Methoden bestätigen (siehe Ref. 1).

Zur Bestätigung eignen sich folgende Oxoid-Produkte: Gramfärbung R40080, O.B.I.S. mono (ID0600M), Listeria Latex Test (DR1126A), Microbact Listeria 12L (MB1128A).

**Beschaffenheit**

Trockennährboden: strohfarbendes, fein-fließendes Pulver  
 Selektiv-Supplement: hellgelbes, gefriergetrocknetes Pellet  
 Differential-Supplement: cremefarbene, opake Flüssigkeit  
 Zubereiteter Nährboden: honiggelbes, transparentes Gel

**Vorsichtsmaßnahmen**

Nur für den Laborgebrauch.  
 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 vorschrittmäßiger Lagerung sind die Produkte bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar.

**Qualitätskontrolle**

Spezies	Culti-Loops®	Wachstum
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 7644	C3970L	gut; Blau/grün mit Hof
<i>L. innocua</i> ATCC® 33090	C9005L	gut; Blau/grün ohne Hof
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212	C7030L	inhibiert

**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 (ISO 11290-1:1996 + AMD 1:2004)
- 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 (ISO 11290-2:1998 + AMD 1:2004)
- Cummins, A.J., et al. (1994) *Listeria ivanovii* infection in a patient with AIDS. *J. of Infection* **28**:89-91.
- Daten bei OXOID gespeichert
- ONE-Bouillon: AFNOR-Referenz: siehe Oxoid Folio No. 1059.