

CHROMOGENER LISTERIA- SELEKTIVNÄHRBODEN (ISO)

Chromogen-Listeria-Agar-Basis (ISO)

Art.-Nr. CM1084

Chromogen-Listeria Selektiv-Supplement (ISO)

Art.-Nr. SR0226

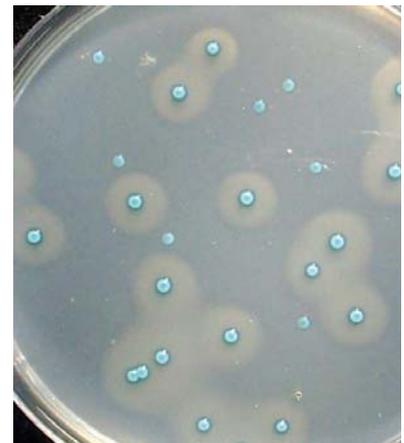
Brilliance™ Listeria Differential-Supplement

Art.-Nr. SR0228

oder

L- α -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 ¹ und DIN EN ISO 11290-2:2005-01 ².



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 Agosti¹.

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 Nährbodens¹.

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 beschrieben³. Studien belegen die bessere Performance dieses Mediums gegenüber PALCAM und Oxford für die Isolierung von *L. monocytogenes*⁴.

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

| | |
|--|---------------|
| Chromogen-Listeria-Agar-Basis (ISO) | CM1084 |
| 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

| | |
|---|-------|
| L-α-Phosphatidylinositol (SIGMA, Art.-Nr. P6636) | 2,0 g |
|---|-------|

pH 7,2 \pm 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 – 04/05⁵), 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 \pm 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 \pm 3h inkubieren. Falls negativ, für weitere 24 \pm 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 \pm 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.