

Chromoplate Listeria Agar

Chromoplate Listeria Selektivagar nach OTTAVIANI und AGOSTI

Nährboden zum Nachweis und zur Zählung von *Listeria monocytogenes* in Lebensmitteln.

Der Nährboden entspricht dem Agar Listeria according to Ottaviani and Agosti in der ISO 11290 (2004).

Wirkungsweise

Die reichhaltige Grundlage des Chromoplate Listeria Selektivagars ermöglicht einem breiten Spektrum an Bakterien gutes Wachstum.

Der Zusatz von Hemmstoffen bewirkt, dass ein Großteil der gram-positiven und gram-negativen Begleitkeime ebenso wie Hefen und Pilze im Wachstum deutlich reduziert werden.

L. monocytogenes und *L. innocua* wachsen nahezu ungehemmt, während das Wachstum anderer Listerien verzögert (*L. ivanovii*) bzw. gehemmt (*L. seeligeri*) sein kann.

Durch die Zugabe von 5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl- β -D-Glucopyranosid ist eine Differenzierung von β -D-Glucosidase-positiven und -negativen Bakterien möglich.

Listerien sind β -D-Glucosidase-positiv und wachsen als blaugrüne Kolonien auf dem Nährboden.

Zum Nachweis von *L. monocytogenes* wird dem Nährboden L- α -Phosphatidylinosit hinzugefügt. *L. monocytogenes* besitzt das als Virulenzfaktor beschriebene Enzym Phosphatidylinosit-Phospholipase C (PI-PLC). Durch diese Phospholipase Aktivität bilden sich undurchsichtige Höfe um *L. monocytogenes* Kolonien.

Neben *L. monocytogenes* zeigt bei den Listerien nur *L. ivanovii* die Phospholipase C Aktivität.

Typische Zusammensetzung (g/l)

Pepton aus Fleisch 18,0; Pepton aus Casein 6,0; Hefeextrakt 10,0; Natriumpyruvat 2,0; Glucose 2,0; Magnesiumglycerophosphat 1,0; Magnesiumsulfat 0,5; Natriumchlorid 5,0; Lithiumchlorid 10,0; Di-Natriumhydrogenphosphat 2,5; 5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl- β -D-Glucopyranosid 0,05; L- α -Phosphatidylinosit (Rohextrakt aus Sojalecithin) 2,0; Nalidixinsäure 0,02; Ceftazidim 0,02; Polymyxin B 76700 IU; Amphotericin B 0,01; Agar-Agar 13,0.

pH: 7.2 ± 0.2 bei 25°C .

Die Nährbodenplatten sind leicht opaleszent und gelblich.

Lagerung der Nährbodenplatten bei $+2^\circ\text{C}$ bis $+8^\circ\text{C}$ (vor Austrocknung, Temperaturschwankungen und Licht geschützt).

Anwendung und Auswertung

Die Platten auf Raumtemperatur bringen.

Falls Kondenswasser auftritt, Platten direkt vor der Anwendung trocknen. (z.B. 20 min. bei 55°C).

Beimpfung nach Anreicherung
(Nachweisverfahren-ISO11290-1):

Erste Anreicherung:

Die erste Anreicherung wird in 1/2 Fraser-Bouillon durchgeführt (1:10 Verdünnung z.B. 25g Probe in 225 ml 1/2 Fraser Bouillon). Die 1/2 Fraser-Bouillon wird 24 ± 3 Stunden bei 30°C inkubiert.

Mit einer Impföse wird aus der ersten Anreicherung eine Probe so auf dem Chromocult® Listeria Selektiv Agar ausgestrichen, dass gut isolierte Einzelkolonien erzielt werden.

Zweite Anreicherung:

Aus der ersten Anreicherung (1/2 Fraser-Bouillon) werden 0,1 ml in 10 ml Fraser-Bouillon überimpft. Die Fraser-Bouillon wird 48 ± 3 Stunden bei

35°C oder 37°C inkubiert.

Mit einer Impföse wird aus der zweiten Anreicherung eine Probe so auf dem Chromocult® Listeria Selektiv Agar ausgestrichen, dass gut isolierte Einzelkolonien erzielt werden.

Beimpfung direkt aus der Lebensmittelprobe
(Zählverfahren ISO-11290-2):

Die Probe wird in gepuffertem Peptonwasser verdünnt (1:10 und weitere Dezimalstufen)

Im Oberflächenverfahren werden 0,1 ml des Proben-Homogenisats bzw. die entsprechenden Verdünnungen ausgespatelt.

Bebrütung:

24 ± 3 Stunden bei 37°C . Bei schwachem Wachstum oder negativem Ergebnis weitere 24 ± 3 Stunden inkubieren.

Auswertung:

Sämtliche Kolonien, die auf dem Nährmedium blaugrün mit einem undurchsichtigen Hof erscheinen, werden als verdächtige *L. monocytogenes* Kolonien (typische Kolonien) gezählt.

Die verdächtigen Kolonien müssen bestätigt werden da *L. ivanovii* und einige andere Bakterien z.B. Bacillen das typische Koloniebild von *L. monocytogenes* zeigen können.

Die Bestätigung der isolierten Keime kann z.B. durch den Single-Path L' mono erfolgen.

Literature

Notermans, S.H.W., Dufrenne, J., Leimeister-Wächter, M., Domann, E., and Chakraborty, T. 1991. Phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity as a marker to distinguish between pathogenic and nonpathogenic *Listeria* species. Appl. Environ. Microbiol. 57:2666 - 2670.

Ottaviani, E.; Ottaviani, M., and Agosti, M. 1997. Differential agar medium for *Listeria monocytogenes*. Industrie Alimentari 36, 888.

Vlaemynck, G., Lafarge, V., and Scotter, S. 2000. Improvement of the detection of *Listeria* by the application of ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium. J. Appl. Microbiol. 88, 430 - 441.

Bauwens, L., Vercammen, F., and Hertsens, A. 2003. Detection of pathogenic *Listeria* spp. in zoo animal faeces: use of immunomagnetic separation and a chromogenic isolation medium. Vet. Microbiol. 91, 115 - 123.

ISO INTERNATIONAL STANDARDISATION ORGANISATION. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Part 1: Detection method - Amendment 1. ISO 11290:2004.

ISO INTERNATIONAL STANDARDISATION ORGANISATION. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Part 2: Enumeration method - Amendment 1. ISO 11290:2004.

Chromoplate Listeria Agar

Chromoplate Listeria Selektivagar nach OTTAVIANI und AGOSTI

Ordering Information

Produkt	Bestell-Nr.	Packungsgröße
Chromoplate Listeria Agar	1.00427.0001	4 Flaschen Nährmedium Basis und 4 Flaschen Selektiv-Supplement und 4 Flaschen Anreicherungs-Supplement zur Zubereitung von 4 x 250 ml Nährmedium
Peptonwasser, gepuffert	1.07228.0500	1 x 500 g
Fraser Listeria-Selektiv-Anreicherungs-bouillon (Basis),	1.10398.0500	1 x 500 g
Fraser Listeria Selektivsupplement (2 x 8 Fläschchen, zur Herstellung von FRASER Bouillon)	1.10399.0500	
SinglePath L mono	1.04148.0001	

Quality control (sprial plating method)

Teststämme	Wiederfindungsrate	Koloniefarbe
Listeria monocytogenes ATCC 13932	> 50 %	blaugrün mit undurchsichtigem Hof
Listeria monocytogenes ATCC 19111	> 50 %	blaugrün mit undurchsichtigem Hof
Listeria innocua ATCC 33090	> 50 %	blaugrün
Escherichia coli ATCC 25922	> 10 ⁵	-
Enterococcus faecalis ATCC 19433	< 0,001 %	-
Candida tropicalis ATCC 750	< 0,001 %	-