

Listeria-Anreicherungslösung

(TSYEB, Tryptone Yeast Soya Extract Bouillon)

Zur selektiven Anreicherung von *Listeria* spp. aus Milch und Milchprodukten sowie anderen Lebensmitteln. Die Anreicherungslösung entspricht der Trypton-Soja-Bouillon mit Hefeextrakt des § 35 LMBG¹ und der ISO/DIS 10560².

Sie entspricht ferner nach Zugabe von Agar dem Trypton-Soja-Agar mit Hefeextrakt (TSYEA) des § 35 LMBG¹.

Listeria-Anreicherungs-lösung-Basis

Art.-Nr. CM 862

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung (CASO-Bouillon)	30,0
Hefeextrakt	6,0
pH 7,3 ± 0,2	

Listeria-Anreicherungs-Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR 141

Zusammensetzung je Röhrchen (1 Röhrchen je 500 ml)	
Nalidixinsäure	20,0 mg
Cycloheximid	25,0 mg
Acriflavin	7,5 mg

Zubereitung

18 g Listeria-Anreicherungs-lösung-Basis in 500 ml Aqua dest. lösen, 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen. Zu einem Röhrchen Listeria-Anreicherungs-Selektiv-Supplement (Art.-Nr. SR 141) aseptisch 2 ml steriles Aqua dest. hinzufügen und das Supplement durch vorsichtiges Schwenken vollständig lösen. Den gelösten Inhalt zu 500 ml, auf 50°C abgekühlter Listeria-Anreicherungs-lösung-Basis geben. Gut mischen und in sterile Endgefäße füllen.

Listeria-Anreicherungs-Selektiv-Supplement (mod.)

Art.-Nr. SR 213

Zusammensetzung je Röhrchen

(1 Röhrchen je 500 ml)	
Nalidixinsäure	20,0 mg
Amphotericin B	5,0 mg
Acriflavin	7,5 mg

Zubereitung

Zu einem Röhrchen Listeria-Anreicherungs-Selektiv-Supplement (mod.) 2 ml steriles Aqua dest. hinzufügen und das Supplement durch vorsichtiges Schwenken vollständig lösen. Den gelösten Inhalt zu 500 ml auf 50°C abgekühlter Listeria-Anreicherungslösung-Basis geben. Gut mischen und Platten gießen.

Listeria-Anreicherungs-Selektiv-Supplement mit red. Acriflavingehalt

Art.-Nr. SR 149

Zusammensetzung je Röhrchen

(1 Röhrchen je 2,25 l)	
Nalidixinsäure	90,0 mg
Cycloheximid	112,5 mg
Acriflavin	22,5 mg

Listeria-Anreicherungslösung mit reduziertem Acriflavingehalt

81 g Listeria-Anreicherungslösung-Basis in 2,25 l Aqua dest. lösen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Auf 50°C abkühlen. Zu einem Röhrchen Listeria-Anreicherungs-Selektiv-Supplement mit red. Acriflavingehalt (OXOID, Art.-Nr. SR 149) aseptisch 5 ml 70% Ethanol hinzufügen und das Supplement durch vorsichtiges Schwenken vollständig lösen. Den gelösten Inhalt zu 2,25 l, auf 50°C abgekühlter Listeria-Anreicherungslösung-Basis geben. Gut mischen und in sterile Endgefäße füllen.

Beschreibung

Listeria-Anreicherungslösung basiert auf der von Lovett et al.³ beschriebenen Zusammensetzung und wird zur selektiven Anreicherung von *Listeria* spp. aus Lebensmitteln, besonders Milch und Milchprodukten, empfohlen. Mit dieser Methode konnten weniger als 10 KBE/ml Rohmilch nachgewiesen werden.

Um höhere Isolierungsraten zu erzielen wird empfohlen, nach 1, 2 und 7 Tagen Subkulturen auf Listeria-Selektivnährboden anzulegen. Agello et al.⁴ zeigten, daß eine Ausdehnung der Bebrütung auf 7 Tage zu einer verbesserten Wiederauffindung von geschädigten Listerien aus Milch und Milchprodukten führte.

Kulturverfahren

1. 25 g oder 25 ml Untersuchungsmaterial zu 225 ml Listeria-Anreicherungslösung geben und bei Bedarf homogenisieren.

2. Bis zu 7 Tagen bei 30°C bebrüten.

3. Nach ein, zwei und sieben Tagen Subkulturen anlegen:

Entweder direkt auf dem Listerien-Selektivnährboden ausstreichen oder 1 ml Anreicherung zu 9 ml 0,5%iger KOH-Lösung geben, kräftig auf dem 'Vortex' mischen und dann auf Listeria-Selektivnährboden ausstreichen.

Geeignete Listeria-Selektivnährböden

- PALCAM-Selektivnährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 877 + SR 150)
- Oxford-Selektivnährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 856 + SR 140 bzw. SR 206)
- Trypton-Soja-Agar mit Hefeextrakt¹
Durch Zugabe von 12-18 g Agar (OXOID, Art.-Nr. LP 11) kann aus der Listeria-Anreicherungslösung-Basis (TSYEB, OXOID Art.-Nr. 862 + SR 149) der Trypton-Soja-Agar mit Hefeextrakt (TSYEA, Tryptone Soya Yeast Extract Agar) leicht hergestellt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Supplemente: 2-8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Listeria monocytogenes ATCC 19117

Negativkontrolle

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Zusätzliche Hinweise

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

Die Listeria-Anreicherungs-Selektiv-Supplemente (OXOID, Art.-Nr. SR 141 und SR 149) enthalten eine toxische Konzentration an Cycloheximid; siehe auch 'Allgemeine Richtlinien zur Verwendung von OXOID Trockennährböden'.

Literatur

1. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 00.00-22: "Nachweis und Bestimmung von *Listeria monocytogenes* in Lebensmitteln".
2. ISO/DIS 10560 (1992) "Milch und Milchprodukte; Nachweis von *Listeria monocytogenes* Milk and milk products. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*."
3. Lovett, J., Francis, D.W. und Hunt, J.M. (1987) J. Food Protect. 50, 188-192.
4. Agello, G., Hayes, P. und Feeley, J. (1986) "Abstracts of the annual meeting". ASM, Washington, D.C., S. 5.