

### PALCAM-Selektivnährboden

Zum Nachweis und zur Isolierung von *Listeria monocytogenes*.

Der Nährboden entspricht der DIN EN ISO 11290-1<sup>1</sup> und dem § 35 LMBG<sup>2,3</sup>.

### PALCAM-Agar-Basis

Art.-Nr. CM 877

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Columbia-Agar-Basis	39,0
Hefeextrakt	3,0
Glucose	0,5
Äsculin	0,8
Eisen(III)-ammoniumcitrat	0,5
Mannit	10,0
Phenolrot	0,08
Lithiumchlorid	15,0
pH 7,2 ± 0,2	

### PALCAM-Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR 150

Zusammensetzung je Röhrchen (1 Röhrchen je 500 ml)	
Polymyxin B	5,0 mg
Acriflavin	2,5 mg
Ceftazidim	10,0 mg

#### Zubereitung

34,5 g PALCAM-Agar-Basis in 500 ml Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen lassen. Den Inhalt eines Röhrchens PALCAM-Selektiv-Supplement in 2 ml Aqua dest. lösen und aseptisch zu 500 ml abgekühlter PALCAM-Agar-Basis geben. Gut mischen und Platten gießen.

Der Zusatz von 2,5% (v/v) Eigelb-Emulsion (OXOID, Art.-Nr. SR 47) kann bei der Anzucht hilfreich sein.

#### Beschreibung

Der PALCAM-Selektivnährboden basiert auf der Zusammensetzung nach van Netten et al.<sup>4</sup> und wird zur Isolierung von *Listeria monocytogenes* aus Lebensmitteln empfohlen.

Das steigende Interesse am Nachweis von Listerien aus Lebensmitteln führte zur Entwicklung zahlreicher Nährböden<sup>5-12</sup>. Nach Cassidy und Brackett<sup>13</sup> ist keines der derzeit zur Verfügung stehenden Verfahren bei alleiniger Anwendung für alle Lebensmittel gleichermaßen geeignet. Der PALCAM-Selektivnährboden ist durch den Zusatz von Lithiumchlorid, Ceftazidim, Polymyxin B und Acriflavin hochselektiv. Das doppelte Indikatorsystem Äsculin/Eisen(III)-Ionen und Mannit/Phenolrot ermöglicht eine einfachere Identifizierung von *Listeria monocytogenes*. *Listeria monocytogenes* hydrolysiert das im Nährboden enthaltene Äsculin; durch die Bildung schwarzer Eisen-Phenol-Komplexe aus Aglucon entstehen schwarze Höfe

um die Kolonien herum. *Listeria monocytogenes* kann Mannit nicht verwerten. Kontaminanten wie Enterokokken und Staphylokokken verfärben dagegen durch die Verwertung von Mannit den pH-Indikator Phenolrot nach gelb und sind so leicht zu erkennen. Strikte Aerobier wie *Bacillus* spp. und *Pseudomonas* spp., die auf diesem Nährboden wachsen können, werden durch mikroaerophile Bebrütung gehemmt.

#### Kulturverfahren

Das Verfahren zur Isolierung von *Listeria monocytogenes* ist vom Untersuchungsmaterial abhängig<sup>13</sup>, wobei der Isolierung und Identifizierung in der Regel eine Bebrütung in einer Anreicherungslösung vorausgeht.

Im allgemeinen wird für Milchprodukte Listeria-Anreicherungslösung (OXOID, Art.-Nr. CM 862 + SR 141 oder SR 149) eingesetzt. Für Fleisch und Fleischerzeugnisse wird in UVM-Anreicherungsbouillon (OXOID, Art.-Nr. CM 863 + SR 142 bzw. SR 143) eine primäre und sekundäre Anreicherung durchgeführt.

1. PALCAM-Selektivnährboden mit einer Impföse Anreicherungskultur beimpfen.
  2. Unter mikroaerophilen Bedingungen 48 Stunden bei 36°C bebrüten. Für die mikroaerophile Bebrütung wird die Verwendung des CampyGen (OXOID, Art.-Nr. CN 25 oder CN 35) in Kombination mit dem Anaerobiertopf (OXOID, Art.-Nr. AG 25, HP 11 oder HP 31) empfohlen.
  3. Platten nach 48 Stunden Bebrütung auf typische Listeria-Kolonien überprüfen.
  4. Präsumtive Listeria-Kolonien sind durch biochemische und serologische Testungen zu bestätigen<sup>14</sup>.
- In Deutschland ist vom BGA eine einheitliche Untersuchungsmethodik für alle Lebensmittel unter Verwendung von zwei Nährböden (Oxford- und PALCAM-Selektivnährboden) vorgegeben<sup>2,3</sup>.

#### Koloniemorphologie

*Listeria* spp.

Nach 48 Stunden Bebrütung graugrüne Kolonien, Ø ca. 2 mm, mit eingesunkenem, schwarzem Zentrum (Kraterbildung). Um die Kolonien bilden sich auf dem braunroten Nährboden schwarze Höfe aus.

*Enterococcus* und *Staphylococcus* spp.

Können gelegentlich als graue Kolonien mit braungrünem Hof oder als gelbe Kolonien mit gleichfarbigem Hof wachsen.

#### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Supplement: 2-8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

#### Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

*Listeria monocytogenes* ATCC 19117

Negativkontrolle

*Escherichia coli* ATCC 25922

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

*Enterococcus faecalis* ATCC 29212

**Zusätzliche Hinweise**

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

**Literatur**

1. DIN EN ISO 11290-1: "Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes* - Teil 1: Nachweisverfahren"
2. BGA "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG" L 00.00-32: „ Horizontales Verfahren für den Nachweis und die Zählung von *Listeria monocytogenes*. Teil 1: Nachweisverfahren"
3. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 00.00-22: "Nachweis und Bestimmung von *Listeria monocytogenes* in Lebensmitteln".
4. van Netten, P. et al. (1989) *Int. J. Food. Microbiol.* 8(4), 299-316.
5. McBride, M.E. und Girard, K.F. (1960) *J. Lab. Clin. Med.* 55, 153-157.
6. Lovett, J., Francis, D.W. und Hunt, J.M. (1987) *J. Food Prot.* 50, 188-192.
7. Lee, W.H. und McClain, D. (1986) *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 1215-1217.
8. Martin, R.S., Sumarah, R.K. und MacDonald, M.A. (1984) *Clin. Invest. Med.* 7, 233-237.
9. Bannermann, E.S. und Bille, J. (1987) *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 165-167.
10. Dominguez-Rodriguez, L. et al. (1984) *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 1188-1190.
11. Buchanan, R.L., Stahl, H.G. und Archer, D.L. (1987) *Food Microbiol.* 4, 269-275.
12. Curtis, G.D.W. et al. (1989) *Let. Appl. Microbiol.* 8, 95-98.
13. Cassidy, R. und Brackett, R.E. (1986) *J. Food Protection* 52, 204-214.
14. Bortolossi, R., Schleck, W.F. und Albritton, W.L. (1986) "*Listeria monocytogenes*". In: Lenette, E.H. et al. (Hrsg.) "*Manual of clinical microbiology*". 4th Edn., ASM, Washington, D.C. S. 205-208.