

UVM-Anreicherungsbouillon (UVM I und II)

Zur selektiven Anreicherung von *Listeria* spp. aus Fleisch und anderen Lebensmitteln sowie aus klinischem Material.

Listeria-Anreicherungsbouillon-Basis (UVM)

Art.-Nr. CM 863

| Typische Zusammensetzung | (g/l) |
|----------------------------|-------|
| Proteose-Pepton | 5,0 |
| Caseinpepton | 5,0 |
| Fleischextrakt 'Lab-Lemco' | 5,0 |
| Hefeextrakt | 5,0 |
| Natriumchlorid | 20,0 |
| Dinatriumhydrogenphosphat | 12,0 |
| Kaliumdihydrogenphosphat | 1,35 |
| Äsculin | 1,0 |
| pH 7,4 ± 0,2 | |

Listeria-Primär-Anreicherungs- Selektiv-Supplement (UVM I)

Art.-Nr. SR 142

| Zusammensetzung je Röhrchen (1 Röhrchen je 500 ml) | |
|---|---------|
| Nalidixinsäure | 10,0 mg |
| Acriflavin | 6,0 mg |

Listeria-Sekundär-Anreicherungs- Selektiv-Supplement (UVM II)

Art.-Nr. SR 143

| Zusammensetzung je Röhrchen (1 Röhrchen je 500 ml) | |
|---|---------|
| Nalidixinsäure | 10,0 mg |
| Acriflavin | 12,5 mg |

Zubereitung

27,2 g Listeria-Anreicherungsbouillon-Basis in 500 ml Aqua dest. lösen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen.

Listeria-Primär-Anreicherungsbouillon (UVM I)

Zu einem Röhrchen Listeria-Primär-Anreicherungs-Selektiv-Supplement (OXOID, Art.-Nr. SR 142) aseptisch 2 ml steriles Aqua dest. hinzufügen und den Inhalt durch vorsichtiges Schütteln lösen. Den gelösten Inhalt eines Röhrchens zu 500 ml, auf 50°C abgekühlter Listeria-Anreicherungsbouillon-Basis geben. Gut mischen und in Endgefäße füllen.

Listeria-Sekundär-Anreicherungsbouillon (UVM II)

Zu einem Röhrchen Listeria-Sekundär-Anreicherungs-Selektiv-Supplement (OXOID, Art.-Nr. SR 143) aseptisch 2 ml steriles Aqua dest. hinzufügen und den Inhalt durch vorsichtiges Schütteln lösen. Den gelösten Inhalt eines Röhrchens zu 500 ml, auf 50°C abgekühlter Listeria-Anreicherungsbouillon-Basis geben. Gut mischen und in Endgefäße füllen.

Beschreibung

Die Listeria-Anreicherungs-Bouillons UVM I und II entsprechen den Originalrezepturen, die von Donnelly und Baigent¹ zuerst beschrieben wurden, und der anschließenden Modifikation von McLain und Lee², in der die Nalidixinsäure-Konzentration sowohl in der primären als auch in der sekundären Anreicherung reduziert und die Acriflavin-Konzentration in der sekundären Anreicherung erhöht wurde.

Der Anreicherung in einer Bouillon geringerer Selektivität folgt hier eine Anreicherung in einer mit höherer Selektivität. Deshalb eignet sich die zweistufige Anreicherung besonders für Untersuchungsmaterial, bei dem eine hohe Begleitflora zu erwarten ist. Durch den Einsatz der Listeria-Anreicherungen UVM I und UVM II (USDA-FSIS-Methode) werden hohe Isolierungsraten von *Listeria monocytogenes* aus Fleischprodukten erzielt. Außerdem hat diese Methode den Vorteil, daß schon nach 3-4 Tagen ein Ergebnis vorliegt.

Kulturverfahren

Primäre Anreicherung

1. 25 g oder 25 ml Untersuchungsmaterial zu 225 ml Listeria-Primär-Anreicherungsbouillon (UVM I) geben. Mit einem Stomacher 2 Minuten homogenisieren.
2. Vorbereitete Probe im Stomacher-Beutel bei 30°C bebrüten.
3. Mit dem Material aus dem Beutel folgende Beimpfungen durchführen:
Nach 4 Stunden Bebrütung 0,2 ml auf einem Listeria-Selektivnährboden ausstreichen.
Nach 24 Stunden Bebrütung
 - a) 0,1 ml in 10 ml Listeria-Sekundär-Anreicherungsbouillon (UVM II) geben.
 - b) 1 ml zu 4,5 ml KOH-Lösung geben, kräftig auf dem Vortex mischen und innerhalb einer Minute auf einem Listeria-Selektivnährboden ausstreichen.

Sekundäre Anreicherung

4. Beimpfung siehe Punkt 3 a).
Die beimpfte Listeria-Sekundär-Anreicherungsbouillon (UVM II) bei 30°C bebrüten.
5. Nach 24 Stunden Bebrütung der Listeria-Sekundär-Anreicherungsbouillon (UVM II)
 - a) 0,2 ml auf einem Listeria-Selektivnährboden ausstreichen.
 - b) 1 ml zu 4,5 ml KOH-Lösung geben, kräftig auf dem Vortex mischen und innerhalb einer Minute auf einem Listeria-Selektivnährboden ausstreichen.

Zubereitung der KOH-Lösung

2,5 g KOH und 20 g NaCl in 1 l Aqua dest. lösen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Auf 18-25°C abkühlen lassen und den pH-Wert vor Gebrauch überprüfen. Er sollte über pH 12 liegen.

Geeignete Listeria-Selektivnährböden

siehe Listeria-Anreicherungslösung

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.

Literatur

1. Donnelly, C.W. und Baigent, G.J. (1986) Appl. Environ. Microbiol. 52, 689-695.
2. McClain, D. und Lee, W.H. (1988) J. Assoc. Off. Anal. Chem. 71, 660-664.
3. Lee, W.K. und McClain, D. (1986) Appl. Environ. Microbiol. 52, 1215-1217.
4. Sawhney, D. und Dodds, L. (1988) Internal project report, OXOID R&D Laboratory.
5. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 00.00-22: "Nachweis und Bestimmung von *Listeria monocytogenes* in Lebensmitteln".