

Bujón pro obohacení Listerií (základ)

LC1120

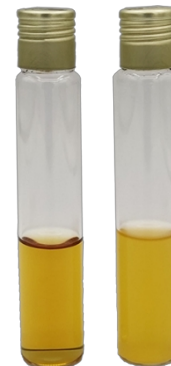
Obohacovací médium pro detekci a stanovení počtu listerií ve vzorcích potravin a životního prostředí.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní obohacování	Listerie

Odvětví aplikace: Klinická medicína / potravinářský průmysl

Předpisy: ISO 11133 / ISO 11290



Principy a použití

Bujón pro obohacení listerií (Listeria Enrichment Broth Base) je vhodné médium pro selektivní obohacování listerií dvoustupňovou metodou podle ISO 11290, pro přípravu Fraserova nebo polovičního Fraserova bujónu přidáním příslušných doplňků.

Doporučuje se pro detekci *Listeria spp.* v potravinářských výrobcích a ve vzorcích z životního prostředí. Všechny druhy listerií hydrolyzují eskulin na eskuletin, který reaguje s ionty železa a způsobuje zčernání média. Další výhodou tohoto média je, že přídavek citrátu amonného železa (III) zlepšuje růst *L. monocytogenes*. Chlorid lithný obsažený v médiu spolu s kyselinou nalidixovou a akryflavinem z doplňku inhibují růst doprovodné flóry, která může hydrolyzovat eskulin. Vysoké množství chloridu sodného inhibuje růst enterokoků. Enzymatický rozklad kaseinu, enzymatický rozklad živočišných tkání a masový extrakt dodávají dusík, vitaminy, minerální látky a aminokyseliny nezbytné pro růst. Kvasničný extrakt je zdrojem vitaminů, zejména skupiny B. Fosforečnanové soli působí jako pufrční systém.

Složení v g/l

Enzymatický digestát kaseinu	5	Esculin	1
Hovězí extrakt	5	Chlorid sodný	20
Kvasničný extrakt	5	Enzymatický digestát živočišných tkání	5
Hydrogenfosforečnan draselný	1,35	Chlorid lithný	3
Hydrogenfosforečnan disodný dihydrát	12		

Příprava

Suspendujte 28,7 g média v 500 ml destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Ochlaďte na 45-50 °C a asepticky přidejte jednu lahvičku selektivního doplňku Fraser Listeria (LC6001) pro přípravu Fraserova bujónu nebo jednu lahvičku selektivního doplňku Half Fraser Listeria (LC6002) pro přípravu polovičního Fraserova bujónu. Jemně homogenizujte a dávkujte do sterilních nádob.

Návod k použití

" Pro klinickou diagnózu je typem vzorku plodová voda.

- Naočkejte 0,1 ml kultury z polovičního Fraserova bujónu inkubované (bez ohledu na její barvu) do 10 ml Fraserova bujónu. Inkubujte při 37 °C po dobu 24 ± 2 hodin za aerobních podmínek.

" Pro jiná použití, na která se nevztahuje označení CE:

Odběr *Listeria monocytogenes* a *Listeria spp.* podle ISO 11290:

- Primární obohacení: Obohacovací bujón Fraser Base (LC1120) s přidaným, selektivním doplňkem Half Fraser Listeria (LC6002): Odvažte 25 g nebo 25 ml vzorku a přidejte 225 ml bujónu Fraser Base (LC1120) s přidaným selektivním doplňkem Half Fraser Listeria (LC6002). Homogenizujte a inkubujte při 30 °C po dobu 25 ± 1 hodiny.

- Sekundární obohacení: Inokulujte 0,1 ml předchozího inkubovaného média (bez ohledu na jeho barvu) do 10 ml bujónu Listeria Enrichment Base Fraser s přidaným selektivním doplňkem pro Listeria Fraser (LC6001). Inkubujte při 37 °C po dobu 24 ± 2 hodin za aerobních podmínek.
- Izolace a identifikace: Z primární obohacené kultury naočkujte Listeria Agar podle Ottavianiho a Agostiho (LC1345) a další laboratorní selektivní médium, abyste získali dobře oddělené kolonie.
- Ze sekundární obohacené kultury opakujte postup, naočkujte povrch Listeria Agar podle Ottavianiho a Agostiho a další selektivní médium.
- Pro Listeria Agar podle Ottavianiho a Agostiho inkubujte celkem 48±2 h.
- Potvrzení: *L. monocytogenes* nebo *Listeria spp.*: Vyberte předpokládané kolonie a proveďte konfirmační testy na *L. monocytogenes* nebo *Listeria spp.*

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytku	Jemný prášek	Běžová	Jantarová	7,2±0,2

Mikrobiologický test

Podle normy ISO 11133:

Poloviční vývar Fraser:

- Inkubační podmínky: 30 ± 1 °C / 24 ± 2 h.

- Podmínky očkování: Cílové mikroorganismy (<100 CFU) / necílové mikroorganismy (>1000 CFU) / selektivita (10⁴-10⁶ CFU).

Fraserův vývar:

- Inkubační podmínky: 37 ± 1 °C / 48 ± 2 h.

- Podmínky očkování: Cílové mikroorganismy (<100 CFU) / necílové mikroorganismy (>1000 CFU) / selektivita (10⁴-10⁶ CFU).

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Celková inhibice (0)	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<100 kolonií v TSA	
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932+ <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 + <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	> 10 kolonií v listeriovém agaru podle Ottavianiho a Agostiho	Modrozelené kolonie s neprůhledným halo
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 35152+ <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 + <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	> 10 kolonií v listeriovém agaru podle Ottavianiho a Agostiho	Modrozelené kolonie s neprůhledným halo

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

Norma ISO 11290-1 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda detekce a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* -- Část 1: Metoda detekce.
Fraser J.A. a Sperber W.H (1988) McClain D. a Lee W.H(1988)