

Listeriový agar PALCAM (základ)

LC1141

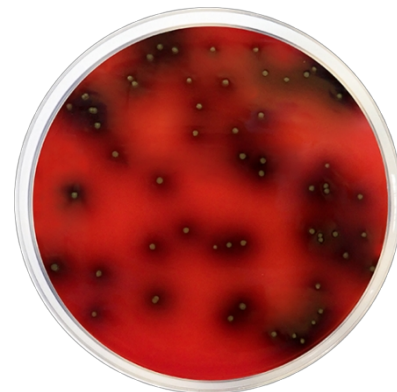
Selektivní a diferenciatní médium pro detekci *Listeria spp.*, zejména *Listeria monocytogenes*.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní izolace	Listerie

Odvětví aplikace: Klinická medicína / Potravinářský průmysl

Předpisy: ISO 11290



Principy a použití

Listeria Agar Base Palcam, používaný s doplňky, je selektivní a diferenciatní médium pro *Listeria spp.* Je doporučen ISO 11290 pro detekci a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* v potravinářských výrobcích a klinických vzorcích a lze jej použít i pro vzorky z životního prostředí.

Používá se po primární a sekundární fázi obohacování s použitím bujónu pro obohacování listerií (LC1120). Umožňuje snadnou diferenciatní diagnostiku *Listeria monocytogenes* pomocí dvousystémového indikátoru: Esculin/železo a Mannitol/Fenolová červeň. Všechny druhy listerií hydrolyzují eskulin na eskuletin, který reaguje s ionty železa a způsobuje zčernání média.

Chlorid lithný obsažený v médiu spolu s ceftazidimem, polymyxin B sulfátem a akryflavinem z doplňku inhibují růst doprovodných bakterií jiných než listerie přítomných v potravinách, které mohou hydrolyzovat eskulin. Peptony a kukuřičný škrob poskytují bohatou živinovou základnu pro růst. Kvasničný extrakt je zdrojem vitaminů, zejména skupiny B. Glukóza je kvasitelný sacharid. Citrát železito-amonný zlepšuje růst *L. monocytogenes*.

Rozlišovací systém mannitol/fenolová červeň se používá k rozlišení *Listeria spp.*, které mannitol nefermentují, od jiných druhů, které v médiu příležitostně rostou, jako jsou enterokoky nebo stafylokoky. Rozlišení se dosáhne zvýšením obsahu kyseliny v médiu, což způsobí změnu barvy indikátoru fenolové červeneš z červené na žlutou. Potvrzení listerií se provádí biochemickými a sérologickými identifikačními testy.

Složení v g/l

Glukóza	0,5	Bakteriologický agar	10
Esculin	0,8	Citrát železito-amonný	0,5
Kukuřičný škrob	1	Mannitol	10
Pepton	23	Fenolová červeň	0,08
Chlorid sodný	5	Kvasničný extrakt	3
Chlorid lithný	15		

Typické složení v g/l * Upravuje se a/nebo doplňuje podle potřeby, aby splňoval výkonnostní kritéria.

Příprava

Suspendujte 34,4 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 přípravku Palcam Listeria Selective Supplement (LC6004). Jemně homogenizujte a rozdělte do Petriho misek.

Návod k použití

Pro klinickou diagnózu je typem vzorku plodová voda.

- Naočkejte na povrch, přičemž rukojetí nebo tamponem vytvořte rovnoběžné pruhy.
- Inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 24-48 hodin.
- Odečet a interpretace výsledků.

Pro detekci a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* a *Listeria spp.* podle ISO 11290:

Primární obohacení:

- Odvažte 25 g (nebo 25 ml) vzorku a přidejte 225 ml bujónu Listeria 1/2 Fraser (LC1120+ LC6002). Homogenizujte a inkubujte při 30 °C po dobu 25 ± 1 h.

Sekundární obohacení:

- Naočkejte 0,1 ml kultury Listeria 1/2 Fraser Broth inkubované (bez ohledu na její barvu) do 10 ml Listeria Fraser Broth (LC1120+ LC6001).

Inkubujte při 37 °C po dobu 24 ± 2 hodin za aerobních podmínek.

Plaky a identifikace:

- Z primární obohacené kultury se naočkuje povrch Listeria Agar podle Ottavianiho a Agostiho (LC1345), aby se získaly dobře oddělené kolonie.

- Ze sekundární obohacené kultury se postup opakuje, naočkuje se povrch Listeria Agar podle Ottavianiho a Agostiho, Palcam Listeria Agar (LC1141) a dalšího média, jako je Oxford Agar (LC1133).

- Pro Listeria Agar podle Ottavianiho a Agostiho inkubujte celkem 48±2 h.

- Agar Listeria Palcam inkubujte při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 24-48 hodin.

- Pro oxfordský agar inkubujte při teplotě 35 ± 2 °C po dobu 24-48 hodin.

Potvrzení:

- 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)
beze zbytku	Jemný prášek	Běžová	Červená	7,2±0,2

Mikrobiologický test

Podle normy ISO 11133:

Inkubační podmínky: 35 ± 2 °C / 24-48 h.

Podmínky očkování: Kvantitativní produktivita: 100±20. Min. 50 CFU / Selektivita (10⁴-10⁶ CFU) / Specifičnost (10³-10⁴ CFU).

Referenční média: TSA (LC1068)

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b ATCC 13932	Dobrý růst (2)	Zelenošedé kolonie s černým středem a černými aureolami
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Celková inhibice (0)	
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Celková inhibice (0)	
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	Dobrý růst (2)	Zelenošedé kolonie s černým středem a černými aureolami

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

Normativa ISO 11290-2: Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda detekce a stanovení počtu listerií monocytogenes -- Část 2: Metoda stanovení počtu. Van Netten, P., I. Perales A. Van de Moosalijk G.D.W. Curtis a DAA Mossel 1989 Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* and other *Listeria spp.* Int. J. of Food Microbiol 8: 299-317.

Farber JMDW Warburton a T. Babiuk, 1994 Isolation of *Listeria monocytogenes* from all food and environmental samples.