

Питательная среда Мерк, Германия (Merck KGaA)

Хромогенный агар на *Listeria monocytogenes* по Оттавиани-Агости -

Chromocult® *Listeria Selective Agar, Base acc. Ottaviani and Agosti*

Каталожный номер 1004270500, упаковка – 500 г

Селективная добавка - *Listeria Selective Supplement*

Каталожный номер 1004320010, упаковка - 10 флаконов

Обогащительная добавка - *Listeria Selective Agar Enrichment Supplement*

Каталожный номер 1004390010, упаковка – 10 флаконов

Chromocult® *Listeria Selective Agar* - хромогенный селективный агар по Ottaviani и Agosti для выделения и подсчета *Listeria monocytogenes* в продуктах.

Среда полностью соответствует рекомендациям ИСО 11290 (2004) и FDA/BAM (2003).

Принцип действия

Богатая основа среды обеспечивает оптимальные условия для роста листерий. Включение в среду ингибиторов подавляет рост сопутствующих грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также дрожжей и грибов. Рост *L.monocytogenes* *L.innocua* не подавляется, тогда как рост других листерий задерживается (*L.ivanovii*) или полностью ингибируется (*L.seeligeri*). Все листерии обладают активностью фермента β-D-глюкозидазы и образуют при взаимодействии с хромогенным субстратом сине-зеленые колонии. *L.monocytogenes* выявляется по наличию вирулентного фактора – фермента фосфатидилинозит-фосфолипазы С (PI-PLC). Фосфолипазная активность выявляется по наличию зоны просветления вокруг колоний *L.monocytogenes*. Кроме *L.monocytogenes* только *L.ivanovii* проявляет фосфолипазную активность.

Состав (г/л)

Пептон из мяса 18,0; пептон из казеина 6,0; дрожжевой экстракт 10,0; пируват натрия 2,0; глюкоза 2,0; глицерофосфат магния 1,0; сульфат натрия 0,5; хлорид натрия 5,0; хлорид лития 10,0; гидрофосфат натрия натрия 2,5; хромогенный субстрат - 5-бromo-4-хлоро-3-индолил-β-D-глюкопиранозид 0,05; L-α-фосфатидилинозит 2,0; налидиксовая кислота 0,02; цефтазидим 0,02; полимиксин 76700 IU; амфотерицин 0,01; агар-агар 13,0.

Приготовление

1. Растворить **35 г основы** питательной среды *Listeria Selective Agar Base* (Кат.№1.00427.0500) в **476 мл** дистиллированной воды, следующим образом. Вначале, растворить сухую среду в 300 мл дистиллированной воды при постоянном перемешивании. Затем добавить 176 мл, тщательно перемешать и нагревать на кипящей водяной бане до полного растворения при периодическом перемешивании среды в течение 20-35 мин. **Не автоклавировать! Не перегревать!**

2. После полного растворения среды охладить до 48-50°C на водяной бане.

3. В асептических условиях добавить 4 мл смеси стерильной дистиллированной **воды с этанолом** (соотношение 1:1) к флакону с **селективной добавкой *Listeria Selective Supplement***. (Кат.№1.00432.0010). Добавить содержимое флакона (суспензия желтого цвета) селективной добавки к основе среды и тщательно перемешать.

4. Нагреть флакон с обогащительной добавкой ***Listeria Selective Agar Enrichment Supplement*** (Кат.№1.00439.0010) (20 мл) до 48-50°C и добавить к основе среды, аккуратно перемешивая. **Внимание!!! Раствор антибиотиков термолабилен, т.е. чувствителен к нагреванию.** Следует немедленно разлить чашки со средой после добавления селективной добавки с раствором антибиотиков к основе среды (16-18 мл на чашку Петри). рН среды 7,2±0,2 при 25°C. Готовая среда слегка мутная желтоватого цвета. Готовые чашки можно хранить 4 недели при 2-8°C в герметичных пакетах в холодильнике (защищены от высыхания и от света).

Проведение анализа

Нагреть чашки до комнатной температуры. При наличии конденсата чашки с агаром следует подсушить при 55°C 20 мин.

Определение наличия/отсутствия *L.monocytogenes*

Засеять поверхность хромогенной среды **Chromocult Listeria Selective Agar** петлей со среды Фразера. В соответствии с международным стандартом ИСО 11290-1 посев на поверхность хромогенной среды **Chromocult Listeria Selective Agar** проводится как после первого этапа селективного обогащения на среде Фразера 1/2 концентрации (30°C при 24ч), так и после второго этапа селективного обогащения на среде Фразера (37°C при 48ч). Для получения изолированных колоний поверхность хромогенного **Chromocult Listeria Selective Agar** засеивается петлей.

Количественный метод определения *L.monocytogenes*

Приготовить серийные разведения образца (1:10) на забуференной пептонной воде. Засеять поверхность хромогенной среды **Chromocult Listeria Selective Agar** 0,1 мл из соответствующих разведений образца.

Инкубация

Инкубировать 24 ч при 37°C. При отрицательном результате продлить инкубацию еще на 24ч. Все сине-зеленые колонии с зоной просветления среды вокруг колоний рассматриваются и учитываются предположительно как колонии *Listeria monocytogenes*. Результаты должны быть подтверждены. Подтверждение колоний можно проводить с использованием экспресс-теста Singlepath L.моно.

Контроль качества

Тест-штаммы	Рост, %	Цвет колоний
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	≥ 50	сине-зеленые с зоной просветления
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111	≥ 50	сине-зеленые с зоной просветления
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090	≥ 50	сине-зеленые
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	≤ 0,001	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	≤ 0,001	-
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	≤ 0,001	-