

Основа хромогенного агара для листерий по Оттавиани и Агости (ALOA)

Кат. № 1345

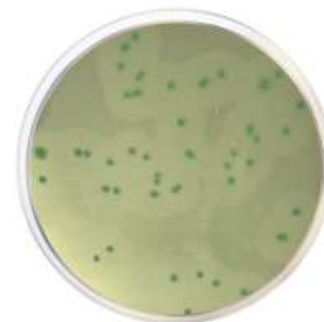
Listeria Chromogenic Agar Base (ISO 11290) Acc. to Ottaviani
and Agosti (ALOA)

(Фасовка 500 г)
Хранить при 2-25°C

Среда для селективного выделения и подсчета *Listeria monocytogenes*

ФОРМУЛА В ГРАММАХ НА ЛИТР

Ферментативный гидролизат казеина	6,0
Бактериологический агар	13,5
Хлорид натрия	5,0
Пируват натрия	2,0
Ферментативный гидролизат животной ткани	18,0
Глицерофосфат магния	1,0
Глюкоза	2,0
Сульфат магния	0,5
Гидрофосфат натрия	2,5
Дрожжевой экстракт	10,0
Хлорид лития	10,0
5-Бром-4-хлор-3-индолил-β-D-глюкопиранозид	0,05



Конечная величина pH 7,2±0,2 при 25°C

ПРАКТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Селективный подсчет – *Listeria spp.*

Выделение – *Listeria spp.*

Область применения: медицина, пищевая промышленность

Нормативы: ISO 11133 / ISO 11290 / BAM

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Развести 35,275 г среды в 470 мл дистиллированной воды. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Стерилизовать 15 минут при 121°C. Для приготовления большего количества среды, чем 500 мл, рекомендуется стерилизовать при 115°C в течение 10 минут. Охладить до 47-50°C и добавить в стерильных условиях 1 флакон *Добавки хромогенной липазной для листерий (кат. № 6031)* и 1 флакон *Добавки хромогенной селективной для листерий (кат. № 6040)*. Тщательно перемешать и разлить в чашки Петри.

Приготовленную среду, при условии соблюдения правил приготовления, необходимо хранить при температуре от +2 °C до +14 °C в затемненном, защищенном от испарения месте. Срок хранения от 1 месяца.

ОПИСАНИЕ

Основа хромогенного агара для листерий является селективной средой для предварительного выделения и идентификации *Listeria monocytogenes* и *Listeria spp.* из пищевых продуктов и клинических образцов. Используется для подтверждения результатов

выделения *листерий* после культивирования в **Основе бульона Fraser для обогащения листерий (кат. № 1120)**. Данная среда рекомендована стандартом ISO 11290-1 для выделения и подсчета *Listeria monocytogenes*.

Ферментативный гидролизат животной ткани и ферментативный гидролизат казеина являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Дрожжевой экстракт также служит источником витаминов, в особенности группы В. Хлорид натрия обеспечивает электролиты, необходимые для поддержания транспортного и осмотического баланса. Пируват натрия является источником энергии для метаболизма бактерий и способствует восстановлению поврежденных организмов. Глюкоза – ферментируемый углевод, источник углерода и энергии. Глицерофосфат магния является буферным агентом. Сульфат магния – источник ионов магния для широкого спектра ферментативных реакций, в том числе репликации ДНК. Селективность среды достигается за счет присутствия хлорида лития, антимикробных добавок (цефтазидима, полимиксина В, налидиксовой кислоты, циклогексимида) и селективной добавки для листерий. Бактериологический агар является отвердителем.

Дифференциальная активность среды обусловлена двумя факторами. С одной стороны, наличием хромогенного компонента X-глюкозида, субстрата для определения фермента β-глюкозидазы, характерного для всех видов листерий, окрашивающего колонии в синий цвет. Другие организмы, имеющие этот фермент, например, энтерококки, ингибируются селективными агентами в составе среды. С другой стороны, дифференциальная активность достигается с помощью субстрата липазы С, на который воздействует фермент, специфичный для *Listeria monocytogenes*. Липаза обуславливает наличие матово-белого ареола вокруг колоний *Listeria monocytogenes*.

Таким образом, комбинация двух субстратов позволяет дифференцировать колонии *Listeria monocytogenes* от остальных видов *Listeria spp.*, хотя все они – синего цвета.

Согласно наблюдениям, некоторые штаммы *Listeria ivanovii*, в основном патогенные для животных (хотя некоторые из них были причиной инфекций у людей), также обладают липазной активностью.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Выделение и подсчет *Listeria monocytogenes* и *Listeria spp.* согласно ISO 11290:

Выделение:

Для выделения и подсчета *Listeria monocytogenes* и *Listeria spp.* согласно ISO 11290:

- Взять 25 г (или 25 мл) образца и добавить к 225 мл **бульона полу-Фразер (кат. № 1183)**. Гомогенизировать и инкубировать при 30°C в течение 25±1 часов.
- Инокулировать 0,1 мл культуры из **бульона полу-Фразер** (вне зависимости от цвета) к 10 мл **Бульона Фразер (кат. № 1182)**. Инкубировать при 37°C в течение 24±2 часов в аэробных условиях.
- Первично обогащенную культуру пересеять на **Основу хромогенного агара для листерий (ALOA) (кат. № 1345)** и другую селективную среду по выбору лаборатории, чтобы получить хорошо разделенные колонии.
- Для вторично обогащенной культуры повторить процедуру, инокулировать поверхность **Основы хромогенного агара для листерий (ALOA) (кат. № 1345)** и другой селективной среды по выбору лаборатории. Инкубировать 48±2 часа.
- Наличие листерий подтверждается с помощью биохимических и серологических идентификационных тестов.

Подсчет:

- Приготовить исходную суспензию 1:10 образца и Воды пептонной забуференной. **Бульон для листерий полу- Fraser (кат. № 1183)** может использоваться как разбавитель в случае, если выделение и подсчет выполняются одновременно.
- Инокулировать 0,1 мл на поверхность **Основы хромогенного агара для листерий (ALOA) (кат. № 1345)**.
- Инкубировать при 37°C в течение 24±2 часов. Инкубировать дополнительно в течение 24 часов в случае, если микробиологический рост не обнаружен.
- Выбрать колонии, предположительно являющиеся *L. monocytogenes* или *Listeria spp.*, и провести подтверждающие тесты.
- Подсчитать количество колоний *L. monocytogenes* или *Listeria spp.*

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Растворимость	Без осадка
Внешний вид	Тонкодисперсный порошок
Цвет сухой среды	Бежевый
Цвет готовой среды	Янтарный, слегка опалесцирует
Конечный pH (при 25°C)	7,2±0,2

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ТЕСТ

Согласно ISO 11133:

Инкубирование: 37±1°C / 48±4 часов.

Инокулирование: 100±20. Мин.50 (продуктивность количества); КОЕ10³-10⁴ КОЕ (продуктивность качества) / 10⁴-10⁶ КОЕ (селективность) / 10³-10⁴ КОЕ (специфичность).

Референсная среда: TSA.

Микроорганизмы	Рост	Цвет колонии
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b ATCC 13932	Хороший (2) >50%	Сине-зеленые колонии с непрозрачным гало
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Полное ингибирование (0)	—
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090		Сине-зеленые колонии без непрозрачного гало
<i>Listeria monocytogenes</i> 1/2a ATCC 35152	Хороший (2) >50%	Сине-зеленые колонии с непрозрачным гало
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Полное ингибирование (0)	—