

LISTERIA FRASER BROTH

Provette pronte per l'uso

IMPIEGO PREVISTO: terreno pronto per l'uso in provetta, per l'arricchimento secondario di *Listeria* spp.

FORMULE TIPICHE

LISTERIA FRASER BROTH (g/l)

Proteose Peptone	5.000
Triptone	5.000
Estratto di carne	5.000
Estratto di lievito	5.000
Sodio cloruro	20.000
Sodio fosfato bibasico anidro	9.500 *
Potassio fosfato monobasico	1.350
Esculina	1.000
Litio cloruro	3.000
Acido nalidissico	0.020
Acriflavina	0.025
Ferro Ammonio Citrato	0.50

*equivalenti a 12 g Sodio fosfato bibasico biidrato

pH finale 7.2 ± 0.2

DESCRIZIONE

Listeria Fraser Broth preparato in accordo alla formulazione descritta da Fraser, è una modificazione del brodo di arricchimento UVM1 e, rispetto a quest'ultimo, contengono in più il ferro ammonio citrato. La presenza di *Listeria* nel brodo è indicata dall'annerimento della coltura, dovuta alla reazione della esculetina, prodotta dall'idrolisi dell'esculina, con gli ioni ferro.

Fraser Broth è raccomandato da ISO 11290 per l'arricchimento secondario di *Listeria* nei prodotti alimentari ed è indicato dal Rapporto ISTISAN 96/35 per la determinazione di *Listeria* negli alimenti (eccetto latte e derivati). Fraser Broth è raccomandato da USDA-FSIS per il secondo arricchimento di *Listeria* negli alimenti e in campioni di origine ambientale ed inoltre dall'Ordinanza del Ministero della Sanità del 7.2.93 per la determinazione di *Listeria* spp con metodo MPN.

METODO ED INTERPRETAZIONE DEL RISULTATI

Il metodo ISO 11290-1 (Draft, May 2002) (ricerca di *L.monocytogenes*) raccomanda la seguente procedura:

- 1 Inoculare il campione con le cautele dell'asepsi in Listeria Fraser Broth Half Concentration in rapporto 1:9. Incubare a 30°C per 18-24 ore.
- Inoculare con 0,1 ml di brodocoltura una piastra di terreno ALOA ed una piastra di un altro terreno a scelta. Esaminare dopo incubazione a 37°C per 24 ± 2 ore e, se non vi fossero colonie tipiche, reincubare per altre 24 ± 2 ore
- Eseguire una subcultura di 0,1 ml dal brodo Fraser Half in una provetta contenente 10 ml di Fraser Broth. Incubare a 37°C per 24 ore e per altre 24 ore in caso di risultati negativi.
- Inoculare con 0,1 ml di brodocoltura una piastra di terreno ALOA ed una piastra di un altro terreno a scelta. Esaminare dopo incubazione a 37°C per 24 ± 2 ore e, se non vi fossero colonie tipiche, reincubare per altre 24 ± 2 ore. Confermare le colonie con i test raccomandati dalla norma.

Il metodo ISO 11290-2 (Draft, May 2002 - conteggio di *L.monocytogenes*) raccomanda la seguente procedura:

- Preparare una sospensione del campione in Buffered Peptone Water o in Fraser Broth Half Concentration. Incubare a temperatura ambiente per 1 ora.
- Inoculare con 0,1 ml di brodocoltura una piastra di terreno ALOA. Esaminare dopo incubazione a 37°C per 24 ± 2 ore e, se non vi fossero colonie tipiche, reincubare per altre 24 ± 2 ore.
- Contare come *L.monocytogenes* le colonie tipiche confermate con i test descritti dalla norma.

Il metodo "semplificato" da noi raccomandato e che ha ottenuto, in Francia, la validazione AFNOR (1) è il seguente:

- Eseguire l'arricchimento del campione in Fraser Broth Half Concentration, secondo le metodiche usuali con un rapporto campione/terreno liquido 1:10 (es. 25 g di campione + 225 ml di Fraser Broth Half Concentration – cod. 401594) ed incubando a 30°C per 24 ore.
- Inoculare con 0,1 ml di brodocoltura una piastra di terreno ALOA. Esaminare dopo incubazione a 37°C per 24 ± 2 ore.

- Considerare come *L. monocytogenes* le colonie verde-blue circondate da un alone opaco. Eseguire le prove di conferma appropriate in accordo a ISO 11290 oppure con il test rapido Biolife Monocytogenes ID Disc - REF.193005 . In caso di assenza di colonie tipiche reincubare per ulteriori 24 ± 2 ore. Se non si sviluppano colonie tipiche riportare i risultati come "assenza di *L.monocytogenes*". In caso di sviluppo di colonie tipiche nelle ulteriori 24 ore di incubazione confermare le colonie come riportato sopra.

CONSERVAZIONE E VALIDITA'

Conservare a 2-8°C al buio, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento. Validità del prodotto dalla data di fabbricazione: 5 mesi.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni ≥1%. Il prodotto qui descritto è solo per uso diagnostico *in vitro* e deve essere usato in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le provette dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- Fraser, J.A., Sperber, W.H. (1988) J. Food Protect. 51, 10, 762-765.
- Normalisation Francaise, AFNOR (1993) V08-55
- Progetto del comitato CD 11290: Ricerca di *Listeria monocytogenes*, ISO/TC 34/SC 9
- Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. Raccolta a cura di D.De Medici, L.Fenicia, L.Orefice e A.Stacchini.
- ISO 11290 (Draft, May 2002) Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*.

CONFEZIONE

551596 LISTERIA FRASER BROTH

20 provette di vetro, 18x145 mm, fondo piano, tappo a vite, con 10 ml di terreno e tubo Durham