

# LISTERIA FRASER BROTH

## PREPARAZIONE

Sospendere 49.5 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata. Scaldare fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 115°C per 15 minuti. Raffreddare a 50°C ed aggiungere il contenuto di 2 fiale di Listeria Supplement FRASER (concentrazione finale di 500 mg/l). Miscelare bene e distribuire in provette sterili.

## IMPIEGO

LISTERIA FRASER BROTH è un terreno raccomandato dal metodo USDA-FSIS per il secondo arricchimento di *Listeria* in alimenti e campioni di origine ambientale e dall'ordinanza del Ministero della Sanità Italiano del 07/12/1993. Il terreno contiene quali agenti selettivi l'acriflavina, un derivato acridinico con proprietà batteriostatiche nei confronti dei batteri Gram-positivi e l'acido nalidixico, un inibitore dei batteri Gram-negativi. La presenza di *Listeria* nel LISTERIA FRASER BROTH è indicata dall'annerimento della brodocoltura dovuto alla reazione dell'esuletina, prodotta dall'idrolisi dell'esulina, con gli ioni ferro. Il metodo raccomandato dall'ordinanza ministeriale del 07/12/1993 per gli alimenti sfusi o preconfezionati destinati per la loro natura ad essere consumati previa cottura o che rechino sulla confezione la dizione "da consumarsi previa cottura (esclusi il latte e suoi derivati)" è la seguente:

- 1) prelevare da ciascuna unità campione 10 g di prodotto, aggiungere 90 ml di Buffered Peptone Water ed omogeneizzare per 2-3 minuti;
- 2) allestire diluizioni scalari fino alla  $10^{-3}$  e seminare in triplo 1 ml di ciascuna diluizione (1/10, 1/100, 1/1000) in 9 ml di FRASER BROTH. Per gli alimenti surgelati o sottoposti ad un trattamento termico effettuare un prearricchimento seminando in triplo 1 ml di ciascuna diluizione in 9 ml di Tryptic Soy Broth + 0.6% di Yeast Extract e dopo incubazione a 32°C per 18-20 ore, trasferire 1 ml di ciascuna provetta in 9 ml di LISTERIA FRASER BROTH;
- 3) incubare le provette di LISTERIA FRASER BROTH a 32°C per 24-48 ore;
- 4) dalle brodoculture positive prelevare un'ansata e seminare su Listeria Esculin Agar (Oxford) ed incubare a 37°C per 24-48 ore;
- 5) selezionare almeno 5 colonie caratteristiche per piastra ed eseguire:
  - colorazione di Gram
  - test della catalasi
  - test di emolisi su Columbia Agar + 5% Sheep Blood
  - Camp test S e Camp test R
  - Prove biochimiche di fermentazione e utilizzazione dei substrati (Listeria System 18R)

## CARATTERISTICHE COLTURALI DOPO 24-48 ORE DI INCUBAZIONE A 37°C

### Microrganismo

*Listeria monocytogenes*  
*Staphylococcus aureus*  
*Escherichia coli*

### Crescita

buona o eccellente  
buona o eccellente  
inibita

## PREPARATION

Suspend 49.5 gr of powder in 1 litre of distilled or deionized water. Heat until completely dissolved. Sterilize in the autoclave at 115°C for 15 minutes. Cool to 50°C and add contents of 2 vials of Listeria Supplement Fraser (final concentration of 500 mg/l). Mix well and dispense in sterile tubes.

## USE

LISTERIA FRASER BROTH is a medium recommended by the USDA-FSIS for the second enrichment of *Listeria* in food and environment specimens and by a decree of the Italian Ministry of Health dated 7-12-93. The selective agents in the medium are acriflavine, an acridinic derivative with bacteriostatic characteristics towards Gram-positive bacteria and nalidixic acid which inhibits Gram-negative bacteria. The presence of *Listeria* in the LISTERIA FRASER BROTH is indicated by the blackening of the broth culture. This is caused by a reaction of the esculetin, produced by the aesculin hydrolysis, with the ferric ions. The method recommended by the Ministerial decree regarding unpackaged or prepackaged foods to be consumed following cooking (except dairy products) is as follows:

- 1) Take 10 gr of product from each specimen, add 90 ml of Buffered Peptone Water and homogenize for 2-3 minutes.
- 2) Prepare decreasing dilutions down to  $10^{-3}$  and inoculate by tripling 1 ml of each dilution (1/10, 1/100, 1/1000) in 9 ml of LISTERIA FRASER BROTH. For frozen foods or foods treated thermally do a pre-enrichment, inoculating in triplicate 1 ml of each dilution in 9 ml of Tryptic Soy Broth + 0.6% of Yeast Extract. Incubate at 32°C for 18-20 hours. Transfer 1 ml from each tube in 9 ml of LISTERIA FRASER BROTH.
- 3) Incubate the LISTERIA FRASER BROTH tubes at 32°C for 24-48 hours.
- 4) Take 1 drop from the positive broth culture and inoculate Listeria Esculin Agar (Oxford). Incubate at 37°C for 24-48 hours.
- 5) Select at least 5 typical colonies per sterile Petri dish and carry out the following:
  - Gram colouring
  - Catalase test
  - Haemolysis test on Columbia Agar + 5% Sheep Blood
  - Camp test S and Camp test R
  - Biochemical tests of fermentation and utilization of the substrate (Listeria System 18R).

## CULTURAL CHARACTERISTICS AFTER 24-48 HOURS OF INCUBATION AT 37°C

### Microorganism

*Listeria monocytogenes*  
*Staphylococcus aureus*  
*Escherichia coli*

### Growth

good to excellent  
good to excellent  
inhibited

FORMULA (grammi per litro)

FORMULA (grams per litre)

Estratto di Carne.....	5	<i>Beef Extract</i> .....	5
Tryptone.....	7.5	<i>Tryptone</i> .....	7.5
Peptomeat.....	2.5	<i>Peptomeat</i> .....	2.5
Estratto di Lievito.....	5	<i>Yeast Extract</i> .....	5
Sodio Cloruro.....	20	<i>Sodium Chloride</i> .....	20
Potassio Fosfato dibasico.....	5.5	<i>Dipotassium Phosphate</i> .....	5.5
Esculina.....	1	<i>Esculin</i> .....	1
Litio Cloruro.....	3	<i>Lithium Chloride</i> .....	3
Acido Nalidissico.....	0.02	<i>Nalidixic Acid</i> .....	0.02
Acriflavina.....	0.025	<i>Acriflavine</i> .....	0.025
pH 7.2 ± 0.2		pH 7.2 ± 0.2	

<b>PRODOTTO PRODUCT</b>	<b>CODICE CODE</b>	<b>CONFEZIONE PACKAGING</b>
LISTERIA FRASER BROTH	610166	500 g. DCM
LISTERIA FRASER BROTH	620166	100 g. DCM
LISTERIA FRASER BROTH	20131	10 PV
LISTERIA FRASER BROTH	413980**	6 FL x 225ml

DCM = TERRENI DI COLTURA PS = PIASTRE PETRI / *PETRI* PV = PROVETTE / *TUBES* FL = FLACONI / *BOTTLES*  
 DISIDRATATI / *DEHYDRATED* DISHES  
 COLTURE MEDIA

#### **BIBLIOGRAPHY**

1. Fraser J.A., Sperber W.H. (1988). *J. Food Protect*, 51, 10, 762-765.
2. Ordinanza ministero della Sanità del 07-12-93: Limiti di *Listeria monocytogenes* in alcuni prodotti alimentari. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* n.291 del 13-12-93.