

CHROMagar™ **Listeria**

Instructions For Use

Available in several languages

NT-EXT-009

Version 5

ENGLISH

English Version

FRANCAIS

Version Française

ESPAÑOL

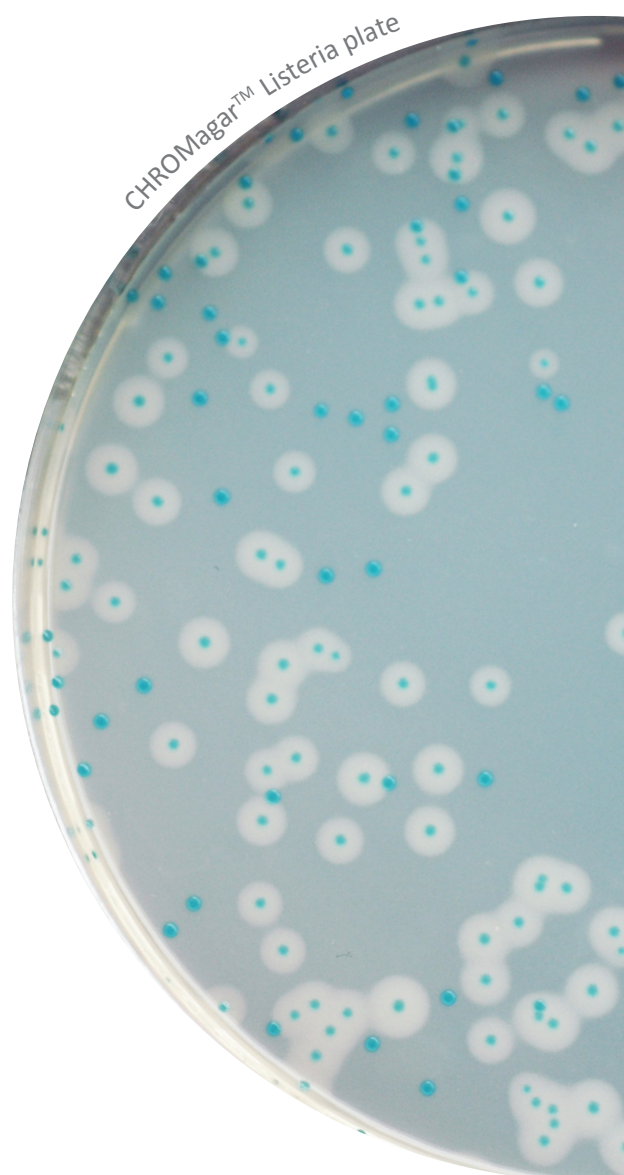
Version Español

DEUTSCH

Deutsch Version

日本

日本版



MEDIUM PURPOSE

Chromogenic medium for detection, isolation and enumeration of *L.monocytogenes*

Listeria monocytogenes is a widespread bacteria, present in the soil, sewage or faecal matter. Its ability to form listerial biofilms on contact surfaces makes it difficult to eliminate. This pathogen can cause serious food poisoning and is therefore frequently a microbial Q.C. target in food processing facilities to avoid food contamination. Contamination can occur at all steps of the food manufacturing chain from raw materials to place of consumption.

COMPOSITION

The product is composed of a powder base (B) and a supplement (S).

Product	=	Base (B)	+	Supplement (S)
Total g/L		51.5 g/L		9.0 g/L
Composition g/L		Agar 15.0 Peptone and yeast extract 23.0 NaCl 5.0 Chromogenic mix 8.5		Selective and enrichment mix 9.0
Aspect		Powder Form		Powder Form
STORAGE		2/30°C		2/8°C
FINAL MEDIA pH		7.0 +/- 0.5		

APPLICATIONS

• In the food field:

For use with all human food products and environmental samples:

CHROMagar Listeria method (presence / absence):

→ Certified NF VALIDATION CHR-21/1-12/01.

Validity Date: 14-Dec-2017

CHROMagar Listeria enumeration method:

→ Certified NF VALIDATION CHR-21/2-12/06.

Validity Date: 14-Dec-2017

• In the clinical field:

For clinical field, allowing isolation of *L.monocytogenes* in samples of human origin eg. blood cultures, vaginal swabs, or CSF.

PREPARATION (Calculation for 1L)

Step 1

Preparation of the base
CHROMagar
Listeria base (B)

- Disperse slowly 51.5g of powder base in 1L of purified water.
- Stir until agar is well thickened.
- Heat to 121°C +/- 1°C for 15 minutes.
- Cool in a water bath to 47°C +/- 2°C.

Step 2

Preparation of the
CHROMagar
Listeria supplement (S)

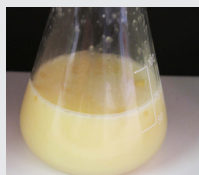
- Add 9g to 40ml of STERILE purified water.
- Add a magnetic bar and stir at high speed (700-1000 rpm) at least 30 minutes WITHOUT HEATING until getting a creamy homogeneous suspension as below:

Final Media HELPING CALCULATION

1 L --> Add 9g of supplement in 40 ml of sterile water

5 L --> Add 45g of supplement in 200 ml of sterile water

STAGE 1:
Possible Presence of grains on the surface of the vial and in the mix



Aspect at this step:
• Liquid with undissolved grains



STAGE 2: Formation of white dense foam on the surface and rise of foam



Aspect at this step:
• Dense/Compact foam (SURFACE)
• Foamy Mix



STAGE 3: Less dense/compact Foam, more creamy mix



Aspect at this step:
• No Rise of Foam
• More ventilated foam
• Liquid



STAGE 4:
VERY GOOD MIX



Aspect at this step:
• Homogeneous
• Fluid (liquid)
• Without grains No Foam
GOOD PREPARATION

Step 3

Mixing of the prepared base (B) and the prepared supplement (S)

- Place the melted 47°C cooled CHROMagar Listeria base under gentle stirring.
- Add the homogeneous reconstituted supplement, keeping the gentle stirring during 1 or 2 minutes until complete homogenisation.
- Pour IMMEDIATELY into sterile Petri dishes.

Warning: DO NOT STACK THE PETRI DISHES

- Let them cool down. Let dry.

Storage

- Store in the dark before use.
- Prepared media plates can be kept for one day at room temperature.
- Plates can be stored for up to two weeks under refrigeration (2/8°C) if properly prepared and protected from light and dehydration.

CHROMagar™ Listeria

INOCULATION

Please refer to Part **Procedures**

- If the agar plate has been refrigerated, allow to warm to room temperature before inoculation.

Collection and transport of the samples should be well handled and adapted to the particular specimen according to good laboratory practices.

PROCEDURES

CHROMagar Listeria Method

• **For the Detection of Presence / Absence of *L.monocytogenes* in all human food products and environmental samples. (Refer to Illustration 1)**

- 1 Perform an enrichment step of the sample, mixing \underline{x} g or \underline{x} ml in $9\underline{x}$ Fraser 1/2 broth
→ 24h +/- 2h at 30°C +/- 1°C
- 2 Spread 0,1ml on a well dried CHROMagar Listeria plate, by streaking on 1/3 of the plate until liquid is adsorbed. Isolate on the rest of the plate and incubate.
→ 24h +/- 2h at 37°C +/- 1°C
- 3 Typical colonies:
NO → Absence of *L.monocytogenes*
YES → In the context of NF Validation, all samples identified as positive by the alternative method must be confirmed in one of the following ways:
- 4 1/ using the conventional tests described in the standardized methods by CEN or ISO (including the purification step).
2/ with the CHROMagar Identification Listeria directly from the suspect colony without step purification.

In the event of discordant results (positive presumptive by the alternative method, non-confirmed by one of the means described above) the laboratory must follow the necessary steps to ensure validity of the result obtained.

Test portions weighing more than 25 g have not been tested.

For environmental samples, typical colonies should be absent after 24h, incubate for additional 24h +/- 2h.

CHROMagar Listeria enumeration Method

• **For Enumeration of *L.monocytogenes* in all human food products and environmental samples. (Refer to Illustration 2)**

- 1 Perform a revivication step to the sample and mix \underline{x} g or \underline{x} ml in $9\underline{x}$ BPW or non selective half Fraser broth
→ 1h +/- 5 min at 20°C +/- 1°C
- 2 Spread 0,1 ml on one well dried CHROMagar Listeria plate (in case of estimation of small numbers spread 1ml on 3 plates) and incubate.
→ 48h +/- 2h at 37°C +/- 1°C
A first reading at 24h allows a more rapid detection of heavily contaminated samples. However the final result count is reached after 48 h +/- 2h. Refer to ISO 7218 standard for calculation and interpretation of results. The spread of a single dilution may present a risk of gap counts compared to the reference method.
- 3 Typical colonies:
NO → Absence of *L.monocytogenes*
YES → Enumerate and confirm a colony directly from CHROMagar Listeria. If you do not confirm 5 colonies counting, it can create a risk of making a overestimated result because of the possible presence of typical colonies that would not be *L. monocytogenes*. In the context of NF Validation: If confirmation has already been done during the detection phase with the CHROMagar Listeria method, a new confirmation is not necessary after the CHROMagar Listeria enumeration method. Otherwise, all samples identified as positive by the alternative method must be confirmed in one of the following ways:
- 4 1/ using the conventional tests described in the standardized methods by CEN or ISO (including the purification step).
2/ with the CHROMagar Identification Listeria directly from the suspect colony without step purification.

In the event of discordant results (positive presumptive by the alternative method, non-confirmed by one of the means described above) the laboratory must follow the necessary steps to ensure validity of the result obtained.

Illustration 2: Enumeration Method

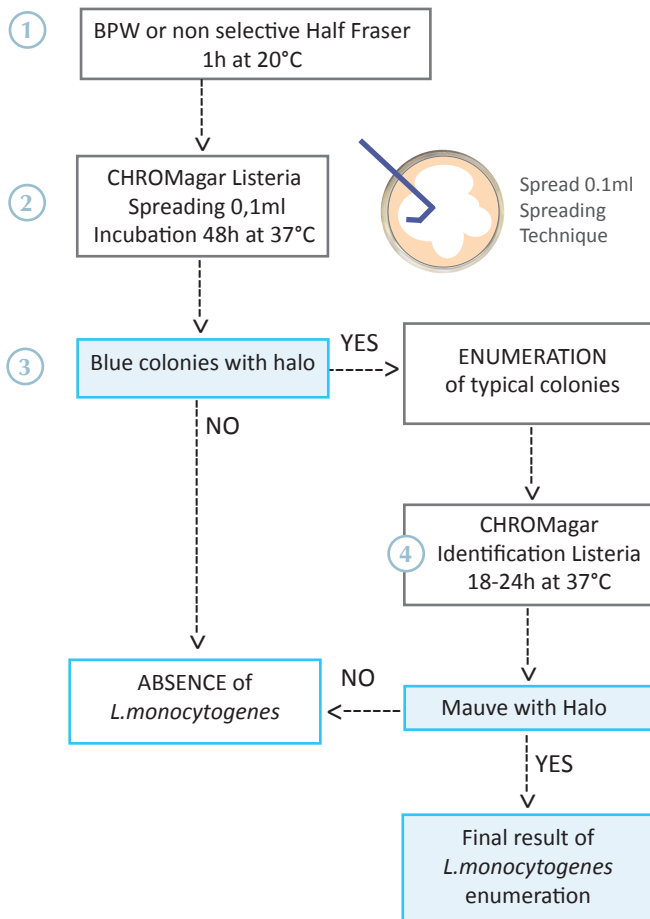
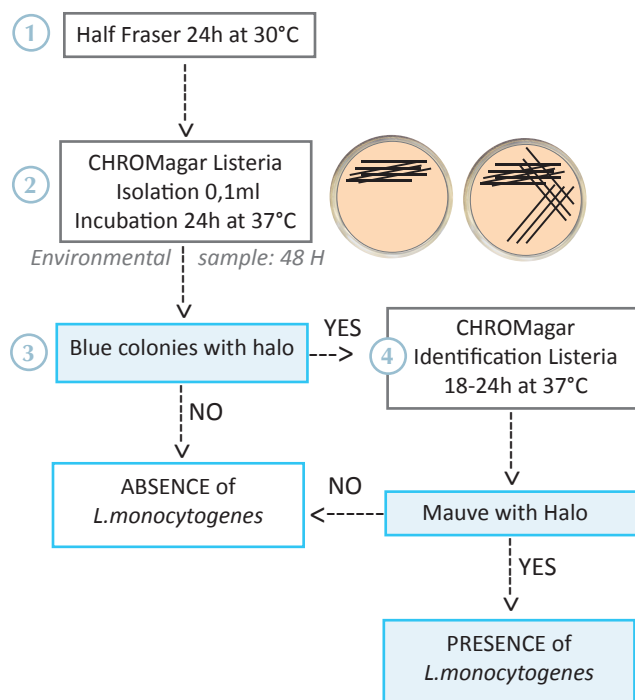


Illustration 1: Detection Method

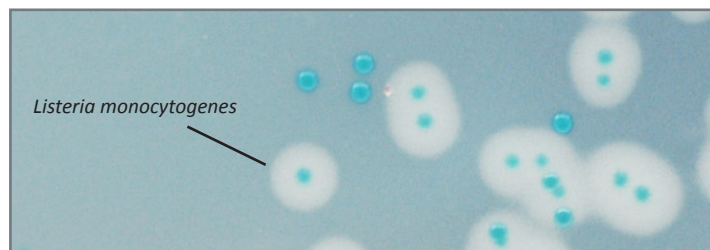


CHROMagar™ Listeria

INTERPRETATION

Microorganism	Typical colony appearance
<i>L.monocytogenes</i>	→ blue, diameter less than 3mm, regular and white halo
Other microorganisms	→ blue, colourless, other colour, inhibited

Typical colony appearance on CHROMagar Listeria



The pictures shown are not contractual.

PERFORMANCE & LIMITATIONS

• Some strains of *L.ivanovii* may also give blue colonies with white halo distinguished during identification. The species *L.ivanovii* is rarely found in food. Some strains of *B.cereus* can also grow as blue colonies. They can easily be distinguished from colonies of *L.monocytogenes* as they are much larger with an irregular edge to the colony and very large white halo.

QUALITY CONTROL

Please perform Quality Control according to the use of the medium and the local QC regulations and norms. Good preparation of the medium can be tested, isolating the ATCC strains below:

Microorganism	Typical colony appearance
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 19115*	→ blue with halo
<i>L. innocua</i> CIP 8012 = ATCC® 33091*	→ blue without halo
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ inhibited
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ inhibited

WDCM : World Data Center for Microorganism World Federation for Culture Collection

* Corresponding strains on www.straininfo.net

WARNINGS

- Do not use plates if they show any evidence of contamination or any sign of deterioration.
- Do not use the product beyond its expiry date or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.
- For *in vitro* diagnostic use. This laboratory product should be used only by trained personnel in compliance with good laboratory practices.
- Any change or modification in the procedure may affect the results.
- Any change or modification of the required storage temperature may affect the performance of the product.
- Unappropriate storage may affect the shelf life of the product.
- Recap the bottles/vials tightly after each preparation and keep them in a low humidity environment, protected from moisture and light.
- For a good microbial detection: collection and transport of specimen should be well handled and adapted to the particular specimen according to good laboratory practices.

DISPOSAL OF WASTE

After use, all plates and any other contaminated materials must be sterilized or disposed of by appropriate internal procedures and in accordance with local legislations. Plates can be destroyed by autoclaving at 121°C for at least 20 minutes.

REFERENCES

Please refer to our website page «Publications» for scientific publications about this particular product.

Web link: <http://www.chromagar.com/publication.php>

IFU/LABEL INDEX

- Quantity of powder sufficient for X liters of media
- Expiry date
- Required storage temperature
- Store away from humidity

Need some Technical Documents?

Available for download on www.CHROMagar.com

- Certificate of Analysis (CoA) --> One per Lot
- Material Safety Data Sheet (MSDS)

Pack Size

Ordering References

Base (B)

Supplement (S)



1000 ml

50 Tests of 20ml

=

LM851

=

LM851(B)
Weight: 51.5gr

+

LM851(S)
Weight: 9gr



5000 ml

250 Tests of 20ml

=

LM852

=

LM852(B)
Weight: 257.5gr

+

LM852(S)
Weight: 45gr

NT-EXT-009 V5 / 18-Oct-13

CHROMagar is a trademark created by Dr A. Rambach

ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection .



OBJECTIF DU MILIEU

Milieu chromogénique pour la détection, l'isolation et le dénombrement de *L.monocytogenes*

Listeria monocytogenes est une bactérie largement répandue, présente dans la terre, les eaux usées ou les matières fécales. Sa capacité à former des biofilms listériels sur les surfaces de contact la rend difficile à éliminer. Ce pathogène peut causer de sérieux empoisonnements alimentaires et c'est pour cela qu'il est fréquemment une cible des contrôles qualité microbiens dans les process alimentaires pour éviter les contaminations alimentaires. La contamination peut arriver à toutes étapes de la chaîne alimentaire, des matières premières au lieu de consommation des aliments.

COMPOSITION

Le produit est composé d'une base poudre (B) et d'un supplément (S).

Produit	=	Base (B)	+	Supplément (S)
Total g/L		51.5 g/L		9.0 g/L
Composition g/L		Agar 15.0 Peptone et extraits de levure 23.0 NaCl 5.0 Mix Chromogénique 8.5		Mix sélectif et enrichissement 9.0
Aspect		En Poudre		En Poudre
STOCKAGE		2/30°C		2/8°C
pH DU MILIEU FINAL		7.0 +/- 0.5		

APPLICATIONS

• Dans l'industrie agro alimentaire:

Pour usage avec des échantillons de produits alimentaires humains et environnementaux:

Méthode CHROMagar Listeria (présence / absence):

→ Certifié NF VALIDATION CHR-21/1-12/01.

Date de fin de validité: 14-Dec-2017

Méthode CHROMagar Listeria numération:

→ Certifié NF VALIDATION CHR-21/2-12/06.

Date de fin de validité 14-Dec-2017

• Dans le domaine clinique:

Pour usage avec les échantillons cliniques, permettant l'isolation des *L.monocytogenes* dans les échantillons d'origine humaine eg. cultures de sangs, échantillons vaginaux, ou CSF.

PRÉPARATION (Calcul pour préparer 1L)

Étape 1

Préparation de la base CHROMagar Listeria (B)

- Ajouter 51.5g de base dans 1L d'eau purifiée.
- Disperser la poudre doucement dans l'eau en effectuant des rotations pour bien gonfler le milieu
- Chauffer à 121°C +/- 1°C pour 15 minutes.
- Refroidir dans un bain d'eau à 47°C +/- 2°C.

Étape 2

Préparation du supplément CHROMagar Listeria (S)

- Ajouter 9g aux 40ml d'eau purifiée stérile.
- Ajouter une barre magnétique et remuer à haute vitesse (700-1000 rpm) au moins 30 minutes SANS CHAUFFER jusqu'à obtenir une suspension crémeuse et homogène, voir ci-dessous:

Milieu Final

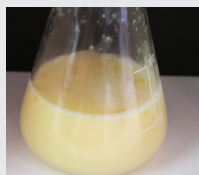
AIDE AUX CALCULS

1 L --> Ajouter 9g de supplément dans 40 ml d'eau stérile

5 L --> Ajouter 45g de supplément dans 200 ml d'eau stérile

ÉTAPE 1:

Présence possible de grains sur la surface du mélange et sur la fiole



Aspect à cette étape:
• Liquide avec des grains non dissous

-->

ÉTAPE 2: Formation d'une mousse sur la surface et montée de mousse



Aspect à cette étape:
• Mousse Dense/Compacte (SURFACE)
• Mélange mousseux

-->

ÉTAPE 3: Mousse Moins dense-compacte, plus crémeux



Aspect à cette étape:
• Pas de montée de mousse
• Mousse plus ventilée
• Liquide

-->

ÉTAPE 4: Très bon mélange



Aspect à cette étape:
• Homogène
• Fluide (liquide)
• Mousse sans grains

Bonne préparation

Étape 3

Mélange de la base préparée (B) avec le supplément préparé (S)

- Mettre le CHROMagar Listeria base, fondu et ramené à 47°C, en agitation douce.
 - Y ajouter le supplément homogène reconstitué, en continuant l'agitation 1-2 min jusqu'à homogénéisation complète.
 - Couler IMMEDIATEMENT dans des boîtes de Petri stériles.
- Attention: NE PAS SUPERPOSER LES BOITES.**
- Laissez-les se refroidir et sécher.

Stockage

- Conserver à l'obscurité.
- Les boîtes préparées peuvent être conservées une journée à température ambiante.
- Les boîtes préparées peuvent être conservées jusqu'à 2 semaines à 2/8°C si elles ont été bien préparées et protégées de la lumière et de la déshydratation.

INOCULATION

Merci de référer à la partie **Procédures**

- Si la boîte préparée a été réfrigérée, la réchauffer à température ambiante avant inoculation.

PROCÉDURES

Méthode CHROMagar Listeria

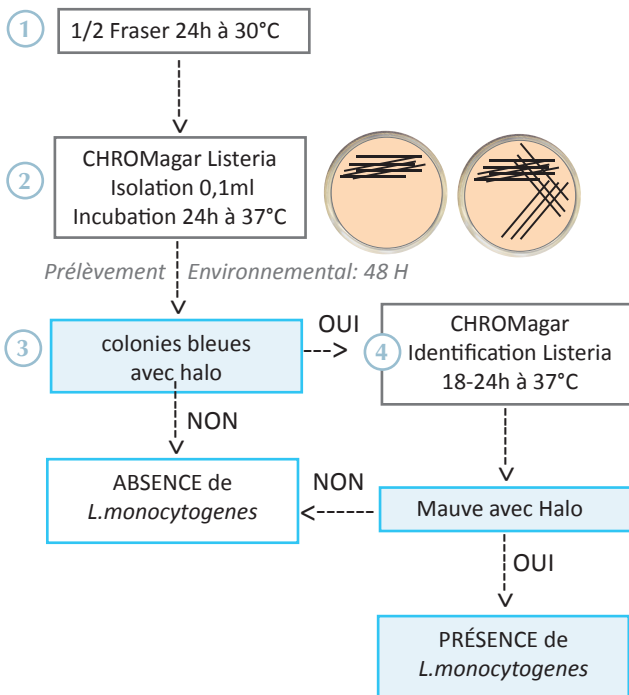
• Pour la Recherche des *L.monocytogenes* dans tous produits d'alimentation humaine et échantillons d'environnement. (Shéma 1)

- 1 Faire une étape d' enrichissement de l'échantillon, mixant \underline{x} g ou \underline{x} ml dans $9\underline{x}$ 1/2 bouillon Fraser
→ 24h +/- 2h à 30°C +/- 1°C
- 2 Isoler 0,1ml sur des boîtes bien sèches de CHROMagar Listeria, par va et vient sur 1/3 de la boîte jusqu'à absorption du liquide, puis isoler sur le reste de la boîte et incuber.
→ 24h +/- 2h à 37°C +/- 1°C
- 3 Colonies typiques:
NON → Absence de *L.monocytogenes*
OUI → Dans le cadre de la marque NF Validation, tous les résultats positifs doivent être confirmés de l'une des manières suivantes :
1/ mise en œuvre des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN, l'ISO (en incluant l'étape de purification)
2/ avec le CHROMagar Identification Listeria directement à partir de la colonie suspecte sans passer par l'étape de purification.
- 4

En cas de résultats discordants (positifs présomptifs par la méthode alternative, non confirmé au moyen d'une des deux options décrites), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.

Les prises d'essais supérieures à 25 g n'ont pas été testées. Pour les prélèvements d'environnement, si il y a absence de colonies suspectes à 24h, incubé 24h +/- 2h supplémentaires.

Shéma 1: Méthode de détection

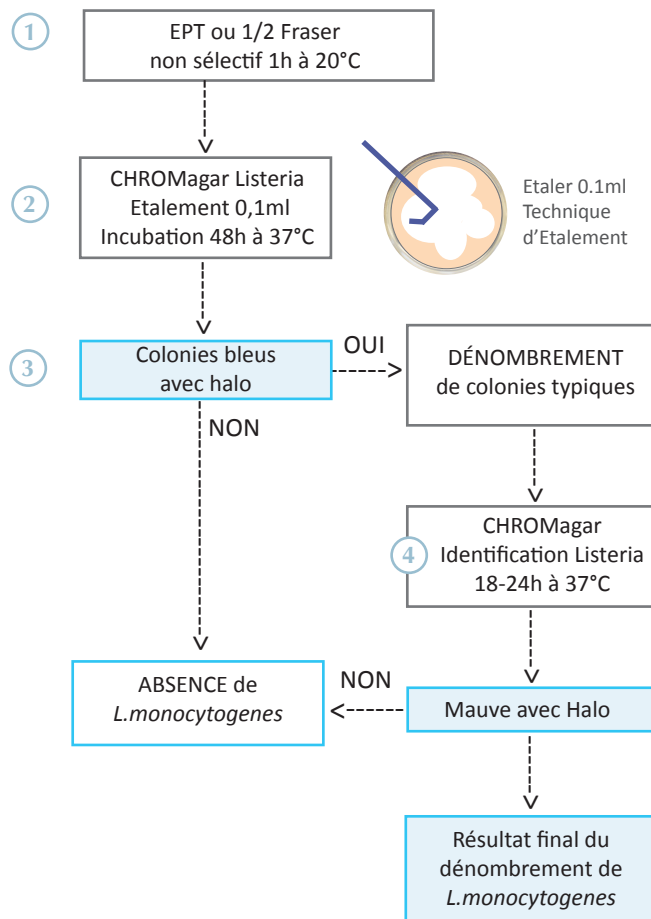


Méthode de numération CHROMagar Listeria

• Pour le dénombrement des *L.monocytogenes* dans tous produits d'alimentation humaine et échantillons d'environnement. (Référer au shéma 2)

- 1 Faire une étape de revivication de l'échantillon, mixer \underline{x} g ou \underline{x} ml dans $9\underline{x}$ BPW ou 1/2 bouillon Fraser non sélectif
→ 1h +/- 5 min à 20°C +/- 1°C
- 2 Étaler 0,1ml sur une boîte bien sèche de CHROMagar Listeria (en cas d'estimations de petits nombres étaler 1ml sur 3 boîtes) et incubé :
→ 48h +/- 2h à 37°C +/- 1°C
Une première lecture à 24h permet de détecter plus rapidement les échantillons fortement contaminés. Cependant le résultat final du dénombrement est obtenu après 48h +/- 2h. Se reporter aux normes ISO 7218 pour calculs et expression des résultats. L'étalement d'une seule dilution peut présenter un risque d'écart sur le dénombrement par rapport à la méthode de référence.
- 3 Colonies typiques:
NON → Absence de *L.monocytogenes*
OUI → Dénombrer et confirmer sur une colonie directement à partir de CHROMagar Listeria. Le fait de ne pas confirmer 5 colonies en dénombrement implique un risque de rendre un résultat surestimé du fait de la présence éventuelle de colonies caractéristiques qui ne seraient pas des *L.monocytogenes*. Dans le cadre de la marque NF Validation: Si la confirmation a déjà été réalisée lors de la phase de détection avec la méthode CHROMagar Listeria, une nouvelle confirmation n'est pas nécessaire à l'issue de la méthode CHROMagar Listeria énumération. Sinon tous les résultats positifs doivent être confirmés de l'une des manières suivantes :
- 4 1/ mise en œuvre des tests classiques décrits dans les méthodes normalisées par le CEN ou l'ISO (en incluant l'étape de purification)
2/ avec le CHROMagar Identification Listeria directement à partir d'au moins une colonie suspecte sans passer par l'étape de purification.
En cas de résultats discordants (positifs présomptifs par la méthode alternative, non confirmé au moyen d'une des deux options décrites), le laboratoire devra mettre en œuvre les moyens suffisants pour s'assurer de la validité du résultat rendu.

Shéma 2: Méthode de dénombrement



CHROMagar™ Listeria

INTERPRÉTATION

Microorganismee	Apparence d'une colonie typique
<i>L.monocytogenes</i>	→ bleu, diamètre inférieur à 3mm, halo blanc et régulier
Autres Microorganismees	→ bleu, incolore, autres couleurs, inhibé

Apparence d'une colonie typique sur CHROMagar Listeria

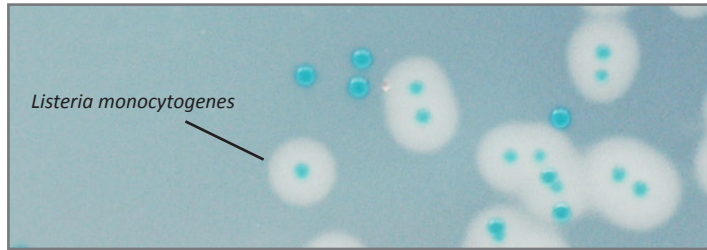


Photo non contractuelle

PERFORMANCE & LIMITATIONS

• Certaines souches de *L.ivanovii* donnant aussi des colonies bleues avec halo blanc qui sont distinguées lors de l'identification. L'espèce *L.ivanovii* est rarement rencontrée en agro-alimentaire. Certaines souches de *B.cereus* peuvent donner des colonies bleues, mais à bords irréguliers et de diamètre généralement important, avec un halo souvent très large, se distinguant de *L.monocytogenes*.

CONTRÔLE QUALITÉ

Merci d'effectuer un contrôle qualité en accord avec l'usage du milieu et les normes locales de contrôle qualité. La bonne préparation du milieu peut être testée en isolant les souches ATCC suivantes:

Microorganismee	Apparence d'une colonie typique
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 19115*	→ bleu avec halo
<i>L. innocua</i> CIP 8012 = ATCC® 33091*	→ bleu sans halo
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ inhibé
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ inhibé

WDCM : World Data Center for Microorganism World Federation for Culture Collection

*Correspondance de souches sur www.straininfo.net

ATTENTION

- Ne pas utiliser les boites si elles montrent un signe évident de contamination ou de détérioration.
- Ne pas utiliser notre produit au delà de la date d'expiration ou si le produit montre un signe évident de contamination ou de détérioration.
- Dispositif médical de diagnostic *in vitro*. Ceci est un produit de laboratoire qui doit être utilisé par du personnel spécialisé et formé aux bonnes pratiques de laboratoire.
- Tout changement ou modification dans la procédure peut affecter les résultats.
- Tout changement ou modification de la température de stockage requise peut affecter la performance du produit.
- Une conservation inappropriée peut affecter la durée de vie du produit.
- Bien refermer les pots/fioles après chaque préparation et les conserver à l'abri de l'humidité, protégés des moisissures et de la lumière.
- Pour une bonne détection microbienne, la collecte et le transport des échantillons doivent être bien gérés et adaptés à l'échantillon en accord avec les bonnes pratiques de laboratoire.

ÉLIMINATION DES DÉCHETS

Après utilisation, toutes les boites et autres matériels contaminés doivent être stérilisés et jetés selon des procédures internes appropriés ou en accord avec les réglementations locales. Les boîtes doivent être autoclavés à 121°C pendant au moins 20 minutes.

RÉFÉRENCES

Merci de référer à notre page internet «Publications» pour consulter les publications scientifiques concernant ce produit.
Lien internet: <http://www.chromagar.com/publication.php>

LEXIQUE ÉTIQUETTE

- Quantité de poudre suffisante pour X litres de milieu final
- Date d'expiration
- Température requise de stockage
- Stocker à l'abri de l'humidité

Où puis-je trouver les documents techniques?

Disponible en téléchargement sur www.CHROMagar.com

- Certificat d'analyse (CoA) --> Un par Lot
- Fiche de Sécurité (MSDS)

Format	Références de commande	Base (B)	Supplément (S)
1000 ml 50 Tests de 20ml	LM851	LM851(B) Poids: 51.5gr	LM851(S) Poids: 9gr
5000 ml 250 Tests de 20ml	LM852	LM852(B) Poids: 257.5gr	LM852(S) Poids: 45gr

NT-EXT-009 VS / FR 18-Oct-13

CHROMagar est une marque créée par Dr A. Rambach

ATCC® est une marque enregistrée par American Type Culture Collection



FINALIDAD DEL MEDIO

Medio cromogénico para la detección, aislamiento y recuento de *L.monocytogenes*

Listeria monocytogenes es una bacteria ampliamente distribuida, presente en el suelo, aguas residuales o materias fecales. Su capacidad para formar biopelículas de listerias en superficies de contacto dificulta su eliminación. Este patógeno puede causar intoxicaciones alimentarias graves, por lo que, con frecuencia, es objeto de controles de calidad microbiológicos en las instalaciones de procesamiento de alimentos para evitar contaminaciones alimentarias. La contaminación puede ocurrir en todas las etapas de la cadena de producción alimentaria, desde la materia prima hasta el lugar de consumo.

COMPOSICIÓN

El producto está compuesto de una base de polvo (B) y un suplemento (S).

Producto	=	Base (B)	+	Suplemento (S)
Total g/l		51,5 g/l		9,0 g/l
Composición g/l		Agar 15,0 Peptona y extractos de levaduras 23,0 NaCl 5,0 Mezcla cromogénica 8,5		Mezcla selectiva y para enriquecimiento 9,0
Aspecto		Forma en polvo		Forma en polvo
ALMACENAMIENTO		2/30°C		2/8 °C
pH FINAL DEL MEDIO		7,0 +/- 0,5		

APLICACIONES

• En el campo alimentario:

Para usar con cualquier producto alimenticio y con muestras ambientales:

Método CHROMagar Listeria (presencia/ausencia):
→ con el Certificado NF VALIDATION CHR-21/1-12/01.

Fecha de validez 14-Dic-2017

Método de recuento con CHROMagar Listeria:

→ con el Certificado NF VALIDATION CHR-21/2-12/06.

Fecha de validez 14-Dic-2017

• En el campo clínico:

En el campo clínico, permite aislar *L.monocytogenes* en muestras de origen humano, p. ej.. cultivos de sangre, hisopos vaginales o LCR.

PREPARACIÓN (Cálculo para 1l)

Paso 1

Preparación de la base CHROMagar Listeria base (B)

- Suspender lentamente 51,5g de base de polvo en 1 l de agua purificada.
- Remover hasta que el agar haya espesado bien.
- Calentar a 121 ° C +/- 1 ° C durante 15 minutos.
- Enfriar en una cubeta térmica a 47 ° C +/- 2 ° C.

Paso 2

Preparación del CHROMagar Listeria suplemento (S)

- Añadir 9 g a 40 ml de agua purificada ESTÉRIL.
- Añadir una barra magnética y agitar a alta velocidad (700-1000 rpm) al menos durante 30 minutos SIN CALENTAR hasta obtener una suspensión cremosa y homogénea como se muestra a continuación:

Medio Final AYUDA PARA EL CÁLCULO

1 l -->	Añadir 9 g de suplemento en 40 ml de agua estéril
5 l -->	Añadir 45 g de suplemento en 200 ml de agua estéril

FASE 1:
Posible presencia de granos en la superficie del vial y en la mezcla



Aspecto en esta fase:
• Líquido con granos no disueltos



FASE 2: Formación de una densa espuma blanca en la superficie y aumento del tamaño de la misma



Aspecto en esta fase:
• Espuma densa/compacta (SUPERFICIE)
• Mezcla espumosa



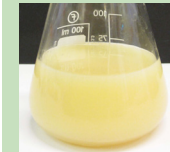
FASE 3: Espuma **menos** densa/compacta, mezcla más cremosa



Aspecto en esta fase:
• La espuma **no** aumenta de tamaño
• Espuma más ventilada
• Líquido



FASE 4:
MEZCLA MUY BUENA



Aspecto en esta fase:

- Homogéneo
- Fluido (líquido)
- Sin granos ni espuma

PREPARACIÓN CORRECTA

Paso 3

Mezcla de la base preparada (B) y del suplemento preparado (S)

- Poner la base de CHROMagar Listeria fundida y enfriada a a 47 ° C bajo agitación suave.
 - Añadir el suplemento homogéneo reconstituido, manteniendo la agitación suave durante 1 o 2 minutos hasta la homogeneización completa.
 - Verter INMEDIATAMENTE en placas de Petri estériles.
- Advertencia: NO APILAR LAS PLACAS DE PETRI.**
- Dejar que se enfríen. Dejar secar.

Almacenamiento

- Almacenar en la oscuridad antes de usar.
- Las placas preparadas con medio pueden conservarse durante un día a temperatura ambiente.
- Las placas pueden almacenarse hasta dos semanas refrigeradas (2/8 ° C) si se han preparado correctamente y se protegen de la luz y la deshidratación.

INOCULACIÓN

Consulte la sección de **Procedimientos**

- Si la placa de agar ha sido refrigerada, dejar que caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.
- La recogida y transporte de las muestras deberán realizarse y adaptarse a cada muestra concreta de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.

PROCEDIMIENTOS

Método con CHROMagar Listeria

• Para la detección de presencia/ausencia de *L.monocytogenes* en cualquier producto alimenticio para el hombre y en muestras ambientales. (Consulte la imagen 1)

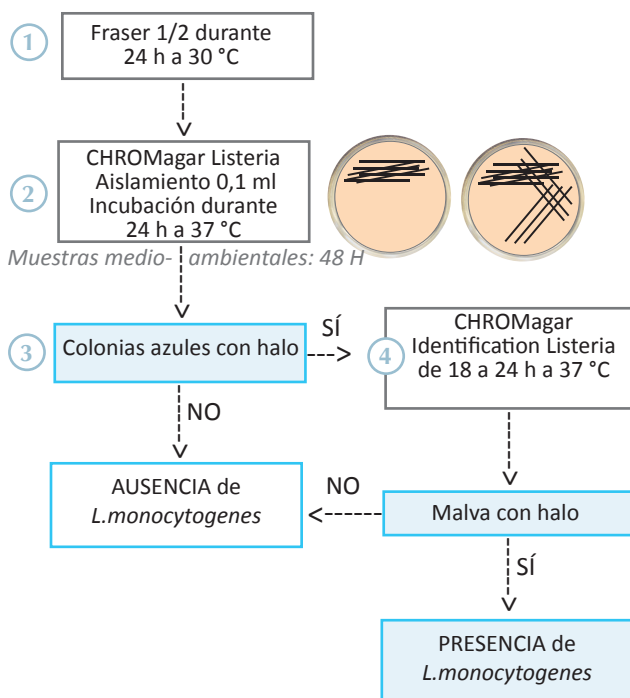
- 1 Realizar un paso de enriquecimiento de la muestra, mezclando x g o x ml en $9x$ de caldo Fraser 1/2
→ 24h +/- 2h a 30 °C +/-1 °C
- 2 Extender por estrías 0,1 ml en una placa bien seca con CHROMagar Listeria, en 1/3 de la placa hasta que se adsorba el líquido. Aislar del resto de la placa e incubar.
→ 24h +/- 2h a 37°C +/-1 °C
- 3 Colonias típicas:
NO → Ausencia de *L.monocytogenes*
SÍ → En el contexto de NF Validation, todas las muestras identificadas como positivas mediante el método alternativo deben ser confirmados de alguna de las siguientes maneras:
- 4 1 / usando las pruebas convencionales descritas en los métodos normalizados por CEN o ISO (incluido el paso de purificación).
2 / con CHROMagar Identification Listeria directamente de la colonia sospechosa sin paso de purificación.

En el caso de resultados discordantes (positivos presuntivos por el método alternativo, no confirmados por uno de los medios antes descritos) el laboratorio deberá seguir los pasos necesarios para garantizar la validez del resultado obtenido.

No se han analizado porciones que pesen más de 25 g.

En las muestras ambientales, si las colonias típicas están ausentes tras 24 h, incubar durante 24 h adicionales +/- 2 h.

Ilustración 1: Método de detección



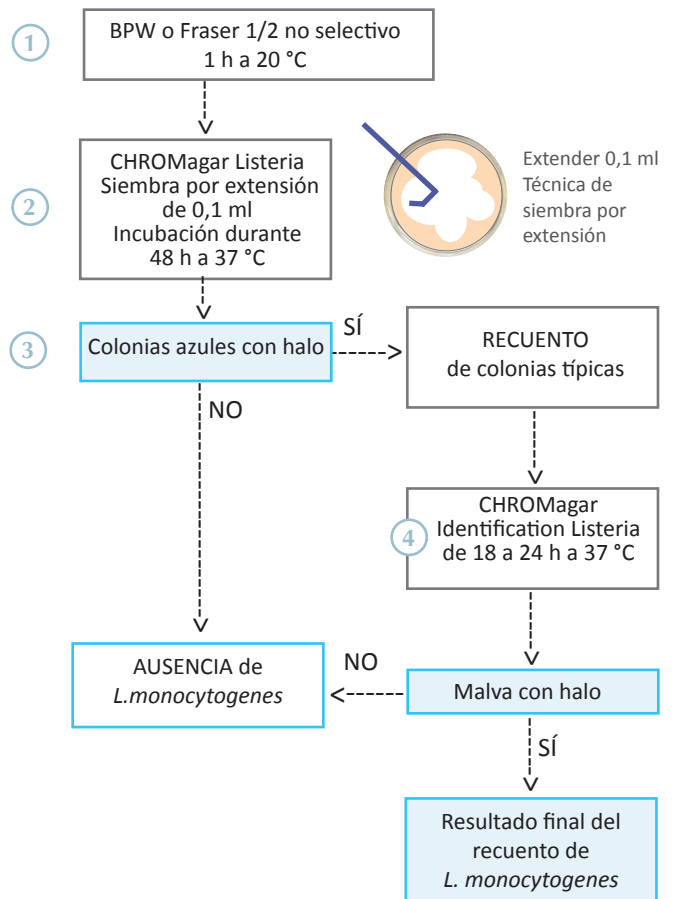
Método de recuento con CHROMagar Listeria:

• Para el recuento de *L.monocytogenes* en cualquier producto alimenticio para el hombre y en muestras ambientales. (Consulte la imagen 2)

- 1 Realizar un paso reactivación de la muestra y mezclar x g o x ml en $9x$ de BPW caldo Fraser 1/2 no selectivo
→ 1 h +/- 5 min. a 20 °C +/-1 °C
- 2 Extender 0,1 ml en una placa bien seca con CHROMagar Listeria (para el cálculo de cifras pequeñas, extender 1 ml en 3 placas) e incubar.
→ 48h +/- 2 h a 37 °C +/-1 °C
Una primera lectura a las 24 h permite una detección más rápida de las muestras muy contaminadas. Sin embargo, el resultado del recuento definitivo se obtiene tras 48 h +/-2 h. Consultar la norma ISO 7218 para el cálculo y la interpretación de los resultados. La siembra de una sola dilución puede presentar un riesgo de desviación en el recuento en comparación con el método de referencia.
- 3 Colonias típicas:
NO → Ausencia de *L.monocytogenes*
SÍ → Contar y confirmar una colonia directamente de CHROMagar Listeria. Confirmar 5 colonias en el recuento evita el riesgo de sobreestimar el resultado debido a la presencia de colonias típicas que no sean *L. monocytogenes*. En el contexto de la NF VALIDATION: Si ya se ha hecho la confirmación durante la fase de detección con el método CHROMagar Listeria, no será necesaria una nueva confirmación después del método de enumeración CHROMagar Listeria. De lo contrario, todas las muestras identificadas como positivas mediante el método alternativo deben ser confirmados de alguna de las siguientes maneras:
- 4 1 / usando las pruebas convencionales descritas en los métodos normalizados por CEN o ISO (incluido el paso de purificación).
2 / con CHROMagar Identification Listeria directamente de la colonia sospechosa sin paso de purificación.

En el caso de resultados discordantes (positivos presuntivos por el método alternativo, no confirmados por uno de los medios antes descritos) el laboratorio deberá seguir los pasos necesarios para garantizar la validez del resultado obtenido.

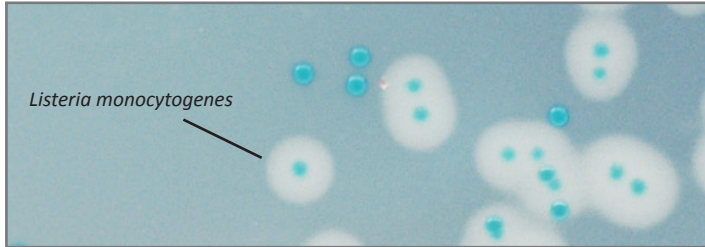
Ilustración 2: Método de recuento



INTERPRETACIÓN

Microorganismo	Aspecto típico de las colonias
<i>L.monocytogenes</i>	→ azul, diámetro inferior a 3 mm, halo uniforme y blanco
Otros microorganismos	→ azul, incoloras, otro color, inhibidas

Aspecto típico de las colonias en CHROMagar Listeria



Las imágenes mostradas no son contractuales.

RENDIMIENTO Y LIMITACIONES

• Algunas cepas de *L.ivanovii* también pueden dar colonias azules con halo blanco que se distinguen durante la identificación. La especie *L.ivanovii* se encuentra rara vez en los alimentos. Algunas cepas de *B.cereus* también pueden crecer como colonias azules. Estas pueden distinguirse fácilmente de las colonias de *L.monocytogenes* ya que son mucho mayores y poseen un borde irregular y un halo blanco de gran tamaño.

CONTROL DE CALIDAD

Realizar el control de calidad de acuerdo con la utilización del medio y los reglamentos y normas locales para QC. La correcta preparación del medio puede analizarse aislando las cepas ATCC que se enumeran más abajo:

Microorganismo	Aspecto típico de las colonias
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 19115*	→ azul con halo
<i>L. innocua</i> CIP 8012 = ATCC® 33091*	→ azul sin halo
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ inhibidas
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ inhibidas

WDCM : World Data Center for Microorganism World Federation for Culture Collection
* Correspondencia de cepas en www.straininfo.net

PRECAUCIONES

- No utilice placas que muestren cualquier evidencia de contaminación o cualquier otro signo de deterioro.
- No utilizar el producto más allá de su fecha de caducidad o si el producto muestra cualquier evidencia de contaminación o cualquier otro signo de deterioro.
- Uso previsto para diagnóstico *in vitro*. Este producto de laboratorio debe ser utilizado exclusivamente por personal cualificado conforme a las buenas prácticas de laboratorio.
- Cualquier cambio o modificación en el procedimiento puede afectar a los resultados.
- Cualquier cambio o modificación de la temperatura de almacenamiento requerida puede afectar al rendimiento del producto.
- Un almacenamiento inadecuado puede afectar la vida útil del producto.
- Volver a tapar herméticamente los frascos / viales después de cada preparación y mantenerlos en un ambiente de baja humedad, protegido de la condensación y la luz.
- Para una buena detección microbiana: la recogida y transporte de las muestras deberán realizarse y adaptarse a cada muestra concreta de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.

ELIMINACIÓN DE DESECHOS

Después de su uso, todas las placas y el resto de material contaminado deben esterilizarse o eliminarse mediante procedimientos internos apropiados y de acuerdo con las normativas locales. Las placas pueden destruirse mediante autoclavado a 121 °C durante al menos 20 minutos.

REFERENCIAS

Consulte nuestra página web "Publicaciones" para acceder a las publicaciones científicas sobre este producto en particular.
Enlace web: <http://www.chromagar.com/publication.php>

ÍNDICE DE LAS INSTRUCCIONES / ETIQUETA

- Cantidad de polvo suficiente para X litros de medio
- Fecha de caducidad
- Temperatura de almacenamiento requerida
- Guardar protegido de la humedad

¿Necesita algún documento técnico?

Disponible para su descarga en www.CHROMagar.com

- Certificado de análisis (CoA) --> Uno por lote
- Hoja de datos de seguridad de materiales (MSDS)

Tamaño del envase	Referencias para pedidos	Base (B)	Suplemento (S)
Σ 1000 ml 50 pruebas de 20 ml	LM851	LM851(B) Peso: 51,5 gr	LM851(S) Peso: 9 gr
Σ 5000 ml 250 pruebas de 20 ml	LM852	LM852(B) Peso: 257,5 gr	LM852(S) Peso: 45 gr

NT-EXT-009 V5 / SPA 30-Jan-14

CHROMagar es una marca comercial creada por el Dr A. Rambach
ATCC® es una marca registrada de la American Type Culture Collection

CHROMagar™ Listeria

VERWENDUNGSZWECK

Chromogenes Medium zum Nachweis und zur Isolierung und Zählung von *L. monocytogenes*.

Listeria monocytogenes ist ein weit verbreitetes Bakterium, das im Boden, im Abwasser und in Fäkalien vorkommt. Es ist schwer zu eliminieren, weil es auf Kontaktoberflächen Biofilme bildet. Dieser Erreger kann ernste Lebensmittelvergiftungen hervorrufen und ist daher oft ein Zielorganismus der mikrobiologischen Qualitätskontrolle in lebensmittelverarbeitenden Betrieben, um eine Lebensmittelkontamination zu verhindern. Die Kontamination kann bei allen Schritten der Lebensmittelverarbeitungskette auftreten, von den Rohstoffen bis zum Ort des Verzehrs.

ZUSAMMENSETZUNG

Das Produkt besteht aus einer Base (B) und einem Supplement (S).

Produkt	=	Base (B)	+	Supplement (S)
Gesamt g/L		51,5 g/L		9,0 g/L
Zusammensetzung g/l		Agar 15,0 Pepton und Hefeextrakt 23,0 NaCl 5,0 Chromogenmischung 8,5		Selektive Anreicherungs- mischung 9,0
Aussehen		Pulver		Pulver
AUFBEWAHRUNG		2-30 °C		2-8 °C
pH DES ENDMEDIUMS		7,0 +/- 0,5		

ANWENDUNGSGEBIETE

• Im Lebensmittelbereich:

Für die Verwendung mit allen Lebensmittel- und Umgebungsproben:

→ CHROMagar Listeria Methode (Anwesenheit/ Abwesenheit): Zertifikat NF VALIDATION CHR-21/1-12/01.

Gültig bis: 14-Dez-2017

CHROMagar Listeria Zählmethode:

→ Zertifikat NF VALIDATION CHR-21/2-12/06.

Gültig bis: 14-Dez-2017

• Im klinischen Bereich:

Isolierung von *L. monocytogenes* in Proben menschlichen Ursprungs, z. B. Blutkulturen, Vaginalabstriche oder CSF.

ZUBEREITUNG (Berechnung für einen Liter)

Schritt 1

Zubereitung der Base
CHROMagar
Listeria Base (B)

- 51,5 g der Base langsam in 1 L destilliertem Wasser resuspendieren.
- Rühren, bis der Agar aufgequollen ist.
- 15 Minuten lang auf 121 °C +/- 1 °C erhitzen.
- Im Wasserbad auf 47 °C +/- 2 °C abkühlen.

Schritt 2

Zubereitung des
CHROMagar
Listeria Supplements (S)

- 9 g in 40 ml STERILES destilliertes Wasser geben.
- Magnetfisch zugeben und bei hoher Geschwindigkeit (700-1000 UpM) mindestens 30 Minuten OHNE HEIZUNG rühren, bis eine cremige, homogene Suspension wie nachstehend abgebildet entsteht:

End-
medium

RECHENBEISPIEL

9 g Supplement
in 40 ml steriles Wasser

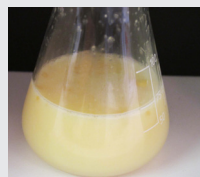
1 L -->

45 g Supplement
in 200 ml steriles Wasser

5 L -->

PHASE 1:

Mögliche Anwesenheit von Körnern auf der Oberfläche des Kolbens und in der Mischung



Aussehen nach diesem Schritt:

- Flüssigkeit mit nicht aufgelösten Körnern

-->

PHASE 2: Bildung von dichtem weißem Schaum an der Oberfläche und Aufsteigen von Schaum



Aussehen nach diesem Schritt:

- Dichter/kompakter Schaum (OBERFLÄCHE)
- Schaumige Mischung

-->

PHASE 3: Weniger dichter/kompakter Schaum, cremigere Mischung



Aussehen nach diesem Schritt:

- Kein Aufsteigen von Schaum
- Luftigerer Schaum
- Flüssigkeit

-->

PHASE 4: SEHR GUTE MISCHUNG



Aussehen nach diesem Schritt:

- Homogen
- Flüssig (Flüssigkeit)
- Ohne Körner, kein Schaum

GUTE ZUBEREITUNG

Schritt 3

Mixen der zubereiteten Base (B) und des zubereiteten Supplements (S)

- Die geschmolzene, auf 47 °C abgekühlte CHROMagar Listeria Base vorsichtig rühren.
 - Das homogene, rekonstituierte Supplement zufügen und 1-2 Minuten bis zur vollständigen Homogenisierung weiterrühren.
 - SOFORT in sterile Petrischalen gießen.
- Warnung: PETRISCHALEN NICHT STAPELN.**
- Abkühlen lassen. Trocknen lassen.

Aufbewahrung

- Vor dem Gebrauch dunkel lagern.
- Fertige Platten können einen Tag bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.
- Die Platten können bis zu zwei Wochen im Kühlschrank (2-8 °C) aufbewahrt werden, wenn sie sachgerecht zubereitet wurden und vor Licht und Austrocknung geschützt sind.

BEIMPFFEN

Siehe Abschnitt Verfahren

- Kühl gelagerte Agarplatten vor dem Beimpfen auf Raumtemperatur bringen.

Probenahme und -transport sollten unter Einhaltung guter Laborpraktiken sorgfältig und an die jeweilige Probenart angepasst durchgeführt werden.

VERFAHREN

CHROMagar Listeria Methode

- **Zum Nachweis der Anwesenheit/Abwesenheit von *L. monocytogenes* in Lebensmittel- und Umgebungsproben.** (Siehe Abbildung 1)

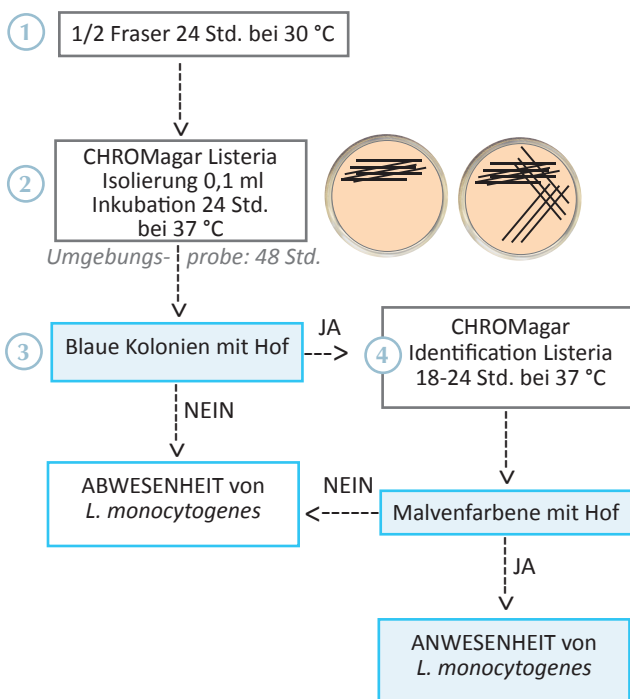
- 1 Probe anreichern: x g oder x ml mit 9 x 1/2 Fraser Bouillon mischen
→ 24 Std. +/- 2 Std. bei 30 °C +/- 1 °C
- 2 0,1 ml auf 1/3 einer gut getrockneten CHROMagar Listeria Platte ausstreichen, bis die Flüssigkeit absorbiert ist. Auf dem Rest der Platte verteilen, um isolierte Einzelkolonien zu erhalten, und inkubieren.
→ 24 Std. +/- 2 Std. bei 37 °C +/- 1 °C
- 3 Typische Kolonien:
NEIN → Abwesenheit von *L. monocytogenes*
JA → Im Rahmen der NF Validation müssen alle durch eine alternative Methode als positiv bestimmten Proben nach einer der folgenden Methoden bestätigt werden:
- 4 1/ Verwendung der konventionellen Tests nach standardisierten Methoden gemäß CEN oder ISO (einschließlich Aufreinigung).
2/ Mit CHROMagar Identification Listeria direkt von der verdächtigen Kolonie ohne Aufreinigung.

Bei unterschiedlichen Ergebnissen (präsumtiven positiv bei der alternativen Methode, nicht bestätigt durch eins der oben beschriebenen Verfahren) muss das Labor die notwendigen Maßnahmen ergreifen, um die Gültigkeit der erhaltenen Ergebnisse sicherzustellen.

Testportionen von mehr als 25 g wurden nicht getestet.

Bei Umgebungsproben sind die Kolonien nach 24 Std. in der Regel noch nicht vorhanden. In diesem Fall weitere 24 Std. +/- 2 Std. inkubieren.

Abbildung 1: Nachweismethode



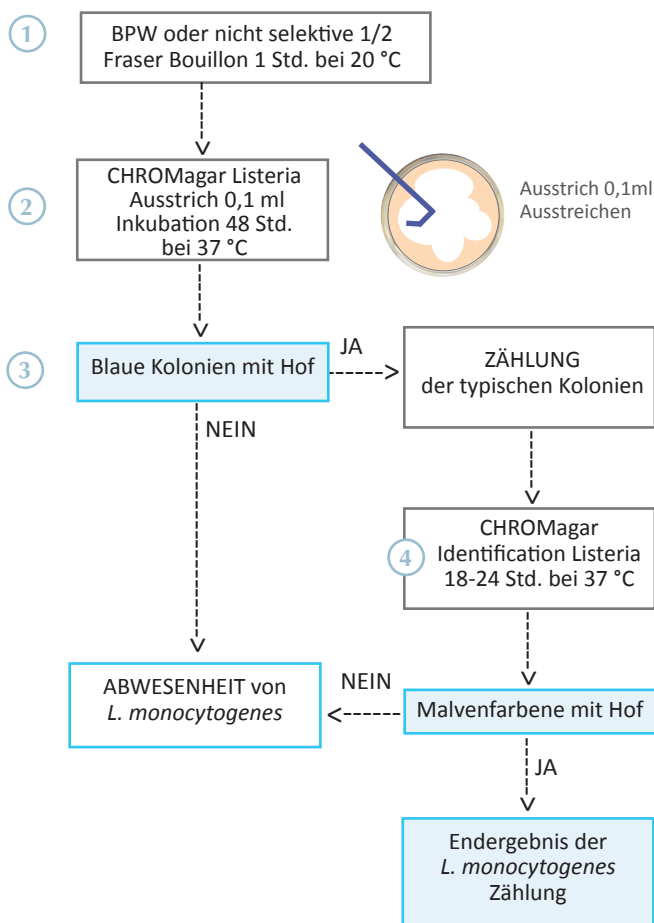
CHROMagar Listeria Zählmethode

- **Für die Zählung von *L. monocytogenes* in allen Lebensmittel- und Umgebungsproben.** (Siehe Abbildung 2)

- 1 Probe wiederbeleben und x g oder x ml mit 9 x BPW oder nicht selektiver 1/2 Fraser Bouillon mischen
→ 1 Std. +/- 5 Min. bei 20 °C +/- 1 °C
- 2 0,1 ml auf einer gut getrockneten CHROMagar Listeria Platte ausstreichen (im Fall einer Schätzung kleiner Zahlen 1 ml auf 3 Platten ausstreichen) und inkubieren.
→ 48 Std. +/- 2 Std. bei 37 °C +/- 1 °C
Ein erstes Ablesen nach 24 Stunden erlaubt den schnellen Nachweis von stark kontaminierten Proben. Die endgültige Zählung wird jedoch nach 48 Std. +/- 2 Std. durchgeführt. Die Berechnung und Interpretation der Ergebnisse erfolgt gemäß ISO 7218.
- 3 Typische Kolonien:
NEIN → Abwesenheit von *L. monocytogenes*
JA → Zählen und eine Kolonie direkt vom CHROMagar Listeria bestätigen. Im Rahmen der NF Validation Wenn die Bestätigung bereits während der Untersuchungsphase durchgeführt wurde, ist keine neue Bestätigung erforderlich. Anderenfalls müssen alle durch eine alternative Methode als positiv bestimmten Proben nach einer der folgenden Methoden bestätigt werden:
- 4 1/ Verwendung der konventionellen Tests nach standardisierten Methoden gemäß CEN oder ISO (einschließlich Aufreinigung).
2/ Mit CHROMagar Identification Listeria direkt von der verdächtigen Kolonie ohne Aufreinigung.

Bei unterschiedlichen Ergebnissen (präsumtiven positiv bei der alternativen Methode, nicht bestätigt durch eins der oben beschriebenen Verfahren) muss das Labor die notwendigen Maßnahmen ergreifen, um die Gültigkeit der erhaltenen Ergebnisse sicherzustellen.

Abbildung 2: Zählmethode

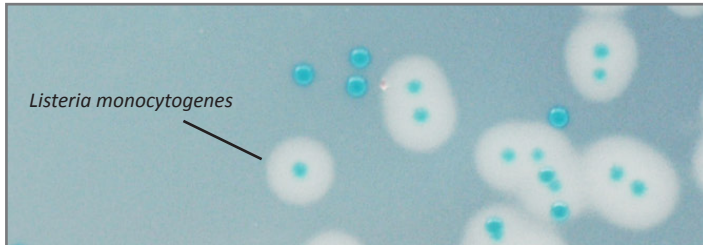


CHROMagar™ Listeria

INTERPRETATION

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
<i>L. monocytogenes</i>	→ blau, Durchmesser kleiner als 3 mm, regelmäßig mit weißem Hof
Andere Mikroorganismen	→ blau, farblos, andere Farbe, inhibiert

Typisches Erscheinungsbild der Kolonien auf CHROMagar Listeria



Die gezeigten Fotos sind unverbindlich.

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

• Einige Stämme von *L. ivanovii* können auch blaue Kolonien mit weißem Hof ergeben, die während der Identifizierung unterschieden werden. Die Art *L. ivanovii* wird in Lebensmitteln selten gefunden. Einige Stämme von *B. cereus* können auch als blaue Kolonien wachsen. Sie sind leicht von *L. monocytogenes* Kolonien zu unterscheiden, weil sie viel größer sind und einen unregelmäßigen Rand und einen sehr breiten weißen Hof haben.

QUALITÄTSKONTROLLE

Bitte führen Sie die Qualitätskontrolle je nach Gebrauch des Mediums und gemäß nationaler Qualitätskontrollvorschriften und -normen durch.

Ob das Medium richtig hergestellt wurde, kann durch Isolierung der folgenden ATCC-Stämme getestet werden:

Mikroorganismus	Typisches Erscheinungsbild der Kolonien
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 19115	→ blau mit Hof
<i>L. innocua</i> CIP 8012 = ATCC® 33091	→ blau ohne Hof
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ inhibiert
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ inhibiert

WARNHINWEISE

- Platten nicht verwenden, wenn diese Anzeichen von Kontamination oder Beschädigung zeigen.
- Produkt nicht verwenden, wenn das Haltbarkeitsdatum überschritten ist oder Anzeichen von Kontamination oder Beschädigung beobachtet werden.
- Nur zur *In-vitro*-Diagnostik. Dieses Produkt darf nur von geschultem Laborpersonal und unter Einhaltung guter Laborpraktiken verwendet werden.
- Jede Abweichung von dem beschriebenen Verfahren kann die Ergebnisse beeinflussen.
- Jede Abweichung von der erforderlichen Lagertemperatur kann die Leistung des Produkts beeinträchtigen.
- Unsachgemäße Lagerung kann sich auf die Haltbarkeitsdauer auswirken.
- Die Flaschen/Ampullen müssen nach jeder Präparation wieder fest verschlossen und an einem trockenen, lichtgeschützten Ort aufbewahrt werden.
- Um einen guten Nachweis von Mikroorganismen zu gewährleisten, ist es wichtig, dass Probenahme und -transport sorgfältig und entsprechend der jeweiligen Probenart unter Einhaltung guter Laborpraktiken durchgeführt werden.

ABFALLENTSORGUNG





Alle Platten und sonstige kontaminierte Materialien müssen nach dem Gebrauch sterilisiert oder durch geeignete interne Verfahren und in Übereinstimmung mit den lokalen Vorschriften entsorgt werden. Die Platten können durch mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121 °C unschädlich gemacht werden.

LITERATUR

Wissenschaftliche Artikel über dieses spezielle Produkt finden Sie im Bereich „Publications“ auf unserer Website.

Web link: <http://www.chromagar.com/publication.php>

ZEICHENERKLÄRUNG GEBRAUCHSANWEISUNG/ ETIKETT

-  Die Basemenge reicht für X Liter Medium
-  Haltbar bis
-  Erforderliche Lagertemperatur
-  Vor Feuchtigkeit schützen

Technische Dokumente:

Als Download erhältlich auf: www.CHROMagar.com



- Analysezertifikat (CoA) -> Eins pro Charge
- Sicherheitsdatenblatt (SDB)

Packungsgröße

Artikelnummern

Base (B)

Supplement (S)

 1000 ml	=	LM851	=	LM851(B) Gewicht: 51,5 g	+	LM851(S) Gewicht: 9 g
 5000 ml	=	LM852	=	LM852(B) Gewicht: 257,5 g	+	LM852(S) Gewicht: 45 g

NT-EXT-009 VS / GER 31-Okt-2013

CHROMagar ist eine von Dr. A. Rambach geschaffene Marke

ATCC® ist eine eingetragene Marke der American Type Culture Collection

CHROMagar
The Chromogenic Media Pioneer

CHROMagar 4 place du 18 juin 1940
75006 Paris - Frankreich
E-Mail: CHROMagar@CHROMagar.com
Tel. +33 (0)1.45.48.05.05. Website: www.CHROMagar.com

IVD

CE

CHROMagar™ Listeria

培地の目的

本品は、*L.monocytogenes*を検出、分離し列挙するための発色酵素基質培地です。
*Listeria monocytogenes*は、土壌、下水汚物、糞便に見られる、広範囲にはびこった細菌です。接触面にリステリアバイオフィルムを形成するため、除去することが難しい細菌です。この病原体は重度の食中毒を引き起こし得るので、食品加工施設では食品コンタミネーションを避けるために、微生物対策としての品質管理を頻繁に行う必要があります。コンタミネーションは、食品製造の流れの中において、原材料段階から消費段階までのどの段階においても起こり得ます。

組成

本品は、粉末Base (B) と1種のサブプリメント (S) から成ります。

本品	=	Base (B)	+	サブプリメント (S)
合計 g/L		51.5 g/L		9.0 g/L
組成 g/L		寒天 15.0 ペプトン 酵母エキス 23.0 塩化ナトリウム 5.0 発光物質混合物 8.5		選択剤とエンリッチメント 混合物 9.0
形態		粉末		粉末
保存法		2~30°C		2~8°C
培地の最終pH		7.0 +/- 0.5		

適応法

食品領域:

人用食品検体と環境検体を使用する場合:
 CHROMagar Listeriaメソッド (存在/不在): → →
 Certified NF VALIDATION CHR-21/1-12/01.
 有効期間:14-Dec-2017
 CHROMagar Listeria列挙メソッド:
 → Certified NF VALIDATION CHR-21/2-12/06.
 有効期間:14-Dec-2017

臨床領域:

臨床領域で使用する場合、臨床検体内の
*L.monocytogenes*を分離します。
 例: 血液培養、膣スワブあるいはCSF。

調整方法 (1Lあたりの計量)

ステップ 1

Baseの調整
 CHROMagar
 Listeria Base (B)

- 粉末Base51.5g を1Lの精製水によく分散させる。
- 寒天が十分膨潤するまで攪拌する。
- 121°C +/- 1°Cで15分間加熱する。
- 水浴にて47°C +/- 2°Cに冷却する。

ステップ 2

CHROMagar Listeria サ
 プリメント(S)
 の調整

- 9gを40mlの滅菌精製水に添加する。
- 溶液が下記のようなクリーミーで均質な懸濁液になるまで、高速度(700~1000 rpm)で最低30分間攪拌棒で攪拌する。このとき加熱しないこと。

最終培地

役立つ計算

1 L -->	サブプリメント9gを 40 mlの滅菌水に添加
5 L -->	サブプリメント45gを 200 mlの滅菌水に添加

ステージ1:

バイアル瓶表面と混合物中に粒子が見られる場合がある



このステップで見られる形状:
 • 液体と溶けていない粒子

ステージ2: 表面上に密度の濃い泡を形成、泡が上昇



このステップで見られる形状:
 • 密度の濃い/細かい泡(表面)
 • 泡だけの混合物

ステージ3: 泡の密度が下がり、よりクリーミーな混合物

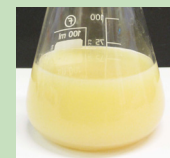


このステップで見られる形状:

- 泡の上昇がない
- より空気を含んだ泡
- 液体

ステージ4:

非常に優良な混合物



このステップで見られる形状:

- 均質流動性(液体)
- 粒子、泡ともになし

優良な調整

ステップ 3

調整した混合物(B)と調整したサブプリメント(S)を混ぜる

- 47°C に冷却した溶けた状態のCHROMagar Listeria Baseを、静かに攪拌する。
- 均質化した再構成サブプリメントを加え、1~2分間静かに攪拌しながら完全に均質化する。
- 直ちに滅菌ペトリ皿に培地を分注する。
注意:ペトリ皿を積み重ねないこと。
- 冷却させる。乾燥させる。

保存法

- 使用前は暗所で保存すること。
- 調整した培地は室温でも1日は保存できます。
- 遮光して乾燥を避け、冷蔵(2~8°C)すれば、正しく調整された培地は2週間まで保存できます。

CHROMagar™ Listeria

接種法

手順の箇所を参照してください

- 寒天培地が冷蔵保存されていた場合は、接種前に室温に戻します。
- 優良実験室規範に従って、検体を適切に収集、輸送すること。

手順

CHROMagar Listeriaメソッド:

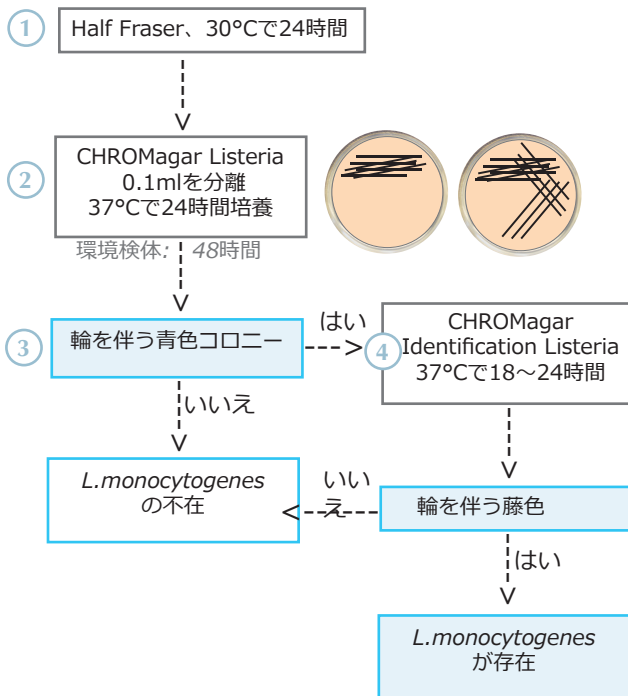
• **すべての人用食品検体と環境検体中のL.monocytogenesの存在 / 不在を検出します。**

(図解1を参照)

- ① 9x half Fraserプラスにxgあるいはxmlを加え、検体のエンリッチメントステップを行う
→30°C +/- 1°Cで24時間 +/- 2時間
- ② よく乾燥させたCHROMagar Listeria培地の1/3に液体が吸収されるまで塗抹し、培地に0.1mlを広げる。培地の残り部分で分離し、培養する。
→37°C +/- 1°Cで24時間 +/- 2時間
- ③ 典型的なコロニー:
いいえ→*L.monocytogenes* が不在
はい→NF Validationに基づき、このメソッドで陽性を示したすべての検体は、以下のいずれかの方法で確認を行うこと:
1/ CENあるいはISOの標準化法に記載された従来の試験を行う(精製ステップを含む)。
- ④ 2/ 精製ステップなしで、CHROMagar Identification Listeria培地を使用し、疑わしいコロニーに直接行う。

結果が一致しない場合(最初のメソッドでは陽性、上記の二次試験では不確定)、研究室は確実な結果を得るために必要とされる工程に従うこと。
25g以上の試験ポーションは、テストされていません。
環境検体の場合、典型的なコロニーは24時間では現れないため、さらに24時間 +/- 2時間培養する。

図解1: 検出メソッド

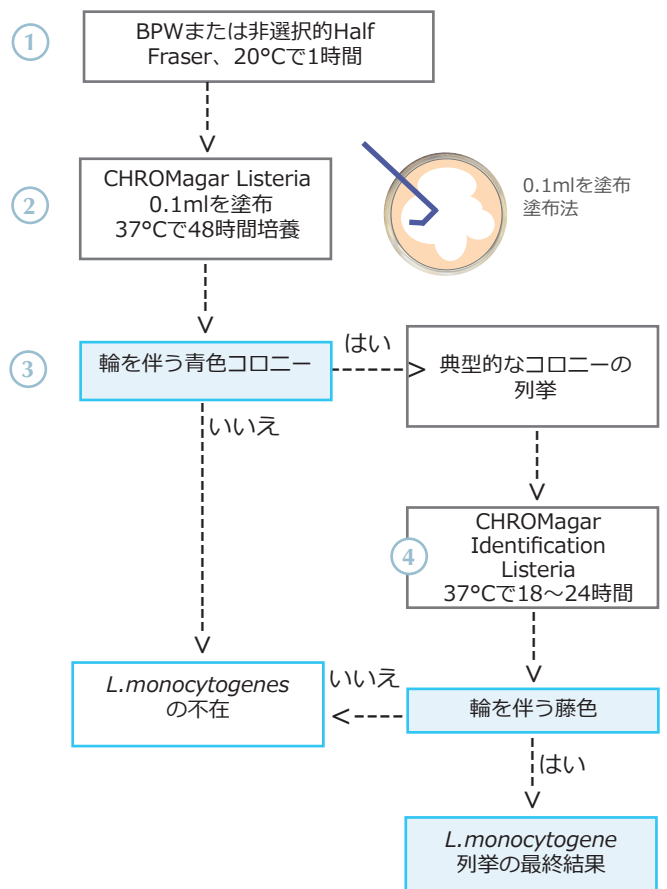


CHROMagar Listeria列挙メソッド:

• **すべての人用食品検体と環境検体中のL.monocytogenesを列挙するために使用。(図解2を参照)**

- ① 検体に再蘇生ステップを行い、9x BPWあるいは非選択的 half Fraserプラスにxgまたはxmlを混ぜる。
→20°C +/- 1°Cで1時間 +/- 5分間
 - ② よく乾燥させたCHROMagar Listeria培地に0.1mlを広げる(小数の推定の場合は、3培地に1mlを広げる)。そして培養する。
→37°C +/- 1°Cで48時間 +/- 2時間
24時間で第一測定を行うため、重度にコンタミネーションが認められる検体の場合は急速検出が可能です。しかし、最終数値結果は48時間 +/- 2時間後に出来ます。結果の計算と判定には、ISO 7218基準を参照すること。
 - ③ 典型的なコロニー:
いいえ→*L.monocytogenes* が不在
はい→ CHROMagar Listeriaから直接コロニーを列挙、確認。NF Validationに基づき、リサーチ行程中にすでに確認が行われている場合は、新たに確認をする必要はありません。そうでない場合、このメソッドで陽性を示したすべての検体は、以下のいずれかの方法で確認を行うこと:
1/ CENあるいはISOの標準化法に記載された従来の試験を行う(精製ステップを含む)。
2/ 精製ステップなしで、CHROMagar Identification Listeria培地を使用し、疑わしいコロニーに直接行う。
- 結果が一致しない場合(最初のメソッドでは陽性、上記の二次試験では不確定)、研究室は確実な結果を得るために必要とされる工程に従うこと。

図解2: 列挙メソッド

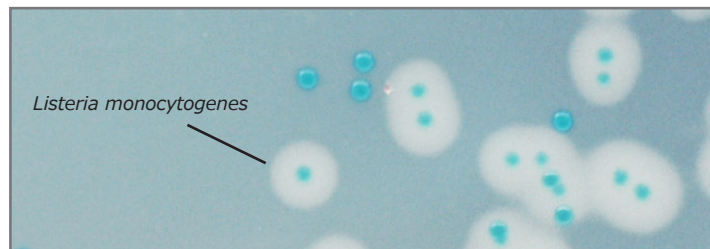


CHROMagar™ Listeria

結果の判定

微生物の種類	典型的なコロニーの形状
<i>L.monocytogenes</i>	→ 青色、直径3mm以下、通常体、白い輪
その他の微生物	→ 青色、無色、その他の色、あるいは形成が抑制された

典型的なCHROMagar Listeria上のコロニーの形状



写真はあくまでイメージです。

性能と限界

• *L.ivanovii* の一部の菌株はまた、確認の間に識別された白い輪を持つ青色コロニーを形成する場合があります。*L.ivanovii* 属は、食品中に見つかることはほとんどありません。*B.cereus* の一部の菌株は、青色コロニーになる場合があります。それらのコロニーははるかに大きく、不規則な周縁と大きな白い輪を伴うため、*L.monocytogenes* のコロニーと簡単に識別することができます。

品質管理

培地の使用方法と地域の品質管理条例および規範に従って、品質管理を行ってください。適当な培地の調整は、以下のATCC菌株を分離することで検査できます：

微生物の種類	典型的なコロニーの形状
<i>L. monocytogenes</i> ATCC® 19115	→ 青色と輪
<i>L. innocua</i> CIP 8012 = ATCC® 33091	→ 青色、輪なし
<i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 = WDCM 00087	→ 形成が抑制された
<i>E. coli</i> ATCC® 25922 = WDCM 00013	→ 形成が抑制された

注意

- 培地にコンタミネーションや品質低下が認められる場合は、使用しないでください。
- 本品の有効期限が切れている場合や、本品にコンタミネーションや品質低下が認められる場合は使用しないでください。
- 本品は体外検査用です。本品は研究用製品であり、優良実験室規範に則った専門家のみによって取り扱い可能です。
- 異なった使用方法で本品が使用された場合、結果に影響を及ぼす可能性があります。
- 定められた保存温度と異なる温度で保存された場合、本品の性能に影響を及ぼす可能性があります。
- 保存方法が不適切な場合、本品の有効期限に影響を及ぼす可能性があります。
- 調整に使用したボトル及び瓶のふたは使用後しっかりと閉め、湿気と光を避けて低湿度環境下で保管してください。
- 微生物検出の良い結果を得るために：優良実験室規範に従って検体を適切に収集、輸送すること。





廃棄物処分

試験終了後、使用した培地とコンタミネーションが認められた器具はすべて滅菌するか、適切な内部手続き及び地域の条例に従って処分すること。培地は、オートクレーブを121°Cで最低20分間かけることで滅菌できます。

参照

本品に関する科学的発行物については、弊社ウェブサイトの「Publications」を参照してください。
ウェブリンク: <http://www.chromagar.com/publication.php>

取扱説明書/ラベル・インデックス

-  X リットルの培地に対して必要な粉末量
-  有効期限
-  指定された保存温度
-  湿気を避けて保存すること

テクニカルドキュメントが必要ですか？

下記のウェブサイトからダウンロード可能です
www.CHROMagar.com

- Certificate of Analysis (CoA) --> One per Lot
- Material Safety Data Sheet (MSDS)

パックサイズ

注文番号

Base (B)

サプリメント (S)

 1000 ml	試験50回分 / 1個20ml	=	LM851	=	LM851(B) 重量:51.5gr	+	LM851(S) 重量:9gr
 5000 ml	試験250回分 / 1個20ml	=	LM852	=	LM852(B) 重量:257.5gr	+	LM852(S) 重量:45gr

NT-EXT-009 V5 / JAP 25-Nov-13

CHROMagarは、Dr A. Rambachの商標です。

ATCC®は、American Type Culture Collectionの登録商標です。

CHROMagar
The Chromogenic Media Pioneer



CHROMagar 4 place du 18 juin 1940
75006 Paris - France

Eメール: CHROMagar@CHROMagar.com

電話番号 +33 (0)1.45.48.05.05. ウェブサイト: www.CHROMagar.com

