

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ
ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ
Listeria monocytogenes
ΚΑΤΑ
FDA

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΗΜΕΡΑ: ΩΡΑ:

ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Υπό ασηπικές συνθήκες λαμβάνουμε αντιπροσωπευτικό δείγμα
25 g



ΗΜΕΡΑ: ΩΡΑ:

ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΣ

25 g δείγματος + 225 ml εμπλουτιστικού υγρού **LEB Broth Base**
Η ανάμιξη γίνεται σε stomacher bag και η ομογενοποίηση σε
Stomacher για 1 min



ΗΜΕΡΑ: ΩΡΑ:

1η ΕΠΩΑΣΗ

Οι σακκούλες Stomacher τοποθετούνται στον επωαστικό κλίβανο και παραμένουν για
30°C / 4h



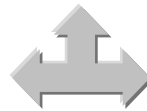
ΗΜΕΡΑ: ΩΡΑ:

ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ

0,5 ml του εκλεκτικού παράγοντα *Listeria Selective Enrichment Broth*
προσθέτονται στο προ- εμπλουτισμένο δείγμα

**2η ΕΠΩΑΣΗ**

Οι σακκούλες Stomacher τοποθετούνται στον επωαστικό κλίβανο και παραμένουν στους
30°C / 24 - 48 h

**2η ΕΠΩΑΣΗ**

Μετά από 24 h επώασης

2η ΕΠΩΑΣΗ

Μετά από 48 h επώασης

ΗΜΕΡΑ: ΩΡΑ:

ΗΜΕΡΑ: ΩΡΑ:

1ο ΠΕΡΑΣΜΑ ΣΤΑ ΤΡΥΒΑΙΑ**1a**

Με κρίκο εμβολιασμού μεταφέρουμε από τον
2ο προεμπλουτισμό και απλώνουμε σε:

- PALCAM agar
- OXFORD agar

**3η ΕΠΩΑΣΗ****1a****30°C για 24 - 48 h****1ο ΠΕΡΑΣΜΑ ΣΤΑ ΤΡΥΒΑΙΑ****1b**

Με κρίκο εμβολιασμού μεταφέρουμε από τον
2ο προεμπλουτισμό και απλώνουμε σε:

- PALCAM agar
- OXFORD agar

**3η ΕΠΩΑΣΗ****1b****30°C για 24 - 48 h****1η ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ**

- **OXFORD agar**: Οι πιθανές (presumptive) αποικίες *L. monocytogenes* παρουσιάζονται ως: μικρές, γκριζες, με μαύρο περίγραμμα . Στις 48 h οι αποικίες γίνονται πιο μαύρες, με ελαφρότητα πράσινη απόχρωση.
- **PALCAM agar**: Στις 24 h οι αποικίες *Listeria* spp. έχουν γκριζό ή γκριζοπράσινο χρώμα με μαύρο περίγραμμα. Στις 48 ώρες οι αποικίες έχουν αποκτήσει πράσινο χρώμα με μαύρο περίγραμμα.

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ

Στα υποστρώματα απομονώνονται αποικίες *Listeria* spp.
Από κάθε ένα από τα τρυβλία PALCAM, OXFORD απομονώνονται 5 αποικίες και κάθε μία από αυτές απλώνεται στο υπόστρωμα:

- TSAYE (Tryptone Soya Agar -Yeast Extract)

4η ΕΠΩΑΣΗ

Τα τρυβλία TSAYE επωάζονται
35-37°C / 18-24 h

ΒΑΣΙΚΑ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑΤΕΣΤ

- Δοκιμή καταλάσης: +
- Δοκιμή αναγωγής νιτρικών: -
- Δοκιμή παραγωγής υδροθείου: -
- Δοκιμή διάσπασης ουρίας: -
- Δοκιμή methyl-red (MR): +
- Δοκιμή Voges-Proskauer (VP): +
- Δοκιμή αποικοδόμησης δεξτρόζης: +
- Δοκιμή αποικοδόμησης εσκουλίνης: +
- Δοκιμή αποικοδόμησης μαλτόζης: +
- Δοκιμή αποικοδόμησης μανιτόλης: -
- Δοκιμή αποικοδόμησης ραμνόζης: +
- Δοκιμή αποικοδόμησης ξυλόζης: -

ΧΡΟΝΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ**ΗΜΕΡΕΣ**

1η	2η	3η	4η	5η	6η	7η
Δειγματοληψία			➔ Πέρασμα σε TSAYE	➔ Πέρασμα σε TSAYE	➔ Πέρασμα σε TSAYE	➔ Πέρασμα σε TSAYE
1ος εμπλουτισμός	1ο πέρασμα σε τρυβλία	1η απομόνωση από PALCAM OXFORD	2η απομόνωση από PALCAM OXFORD	1η απομόνωση από PALCAM OXFORD	2η απομόνωση από PALCAM OXFORD	
1η επώαση	1η απομόνωση απ					
2ος εμπλουτισμός			2ο πέρασμα σε τρυβλία			
2η επώαση						