

## TÀI LIỆU KỸ THUẬT

### FRASER BROTH

#### TĂNG SINH THỨ CẤP *LISTERIA*

## 1 MỤC ĐÍCH

Fraser Broth thường được sử dụng là môi trường tăng sinh thứ cấp của *Listeria monocytogenes* và *Listeria* trong thực phẩm theo tiêu chuẩn NF EN ISO 11290-1

## 2 LỊCH SỬ

Môi trường nghiên cứu bởi Fraser và các cộng sự vào năm 198 được biến đổi từ công thức của Donnelly và Baigent. Các thành phần cơ bản giống với UVM Broth và có sửa đổi bằng cách bổ sung lithium chloride như tác nhân chọn lọc và ferric ammonium citrate để phát hiện thủy phân esculin bằng cách hóa đen của môi trường.

## 3 NGUYÊN TẮC

Sự phục hồi rất tốt của *Listeria monocytogenes* được đảm bảo bởi sự khác biệt nồng độ acid nalidixic và acriflavine giữa Half-Fraser và Fraser, cũng như hai bước tăng sinh cho *Listeria monocytogenes*. Half Fraser là bước tăng sinh sơ cấp, Fraser Broth là bước tăng sinh thứ cấp.

Polypeptone, chiết xuất nấm men và chiết xuất từ thịt cung cấp các chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển của *Listeria*.

Hàm lượng sodium chloride cao làm tăng tính chọn lọc của môi trường.

Phosphates hoạt động như đệm và duy trì pH của môi trường.

Esculin được thủy phân bởi *Listeria* thành glucose và esculetin, các hợp chất sau này tạo thành phức hợp màu đen với các ion sắt từ ferric citrate được thêm vào ngay trước khi sử dụng hỗ trợ cho sự phát triển của *Listeria*

Lithium chloride ức chế sự phát triển của hầu hết các vi khuẩn enterococci thủy phân esculin.

Acid nalidixic ngăn cản sự sao chép DNA của vi khuẩn nhạy cảm với chất kháng khuẩn này.

Vi khuẩn Gram dương đi kèm cùng bị ức chế bởi acriflavine.

## 4 THÀNH PHẦN

Có thể được điều chỉnh để có được hiệu suất tối ưu

Trong 1 lit môi trường:

- Enzymatic digest of animal tissues ..... 5,0 g
- Enzymatic digest of casein..... 5,0 g
- Yeast extract ..... 5,0 g

- Meat extract.....	5,0 g
- Sodium chloride .....	20,0 g
- Disodium phosphate, anhydrous* .....	9,6 g
- Monopotassium phosphate.....	1,35 g
- Esculin.....	1,0 g
- Lithium chloride .....	3,0 g
- Nalidixic acid .....	20 mg
- Acriflavin (chlorhydrate) .....	25 mg
- Ferric ammonium citrate .....	0,50 g

pH môi trường hoàn chỉnh ở 25 °C :  $7,2 \pm 0,2$

Lưu ý: Tương đương với 12 g Disodium hydrogen phosphate dehydrate

## 5 CHUẨN BỊ

### Sử dụng môi trường bột khô BK115HA

- Hòa tan 55,0 g môi trường bột khô (BK115) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion.
- Khuấy từ từ cho đến khi tan hoàn toàn.
- Phân phối 10 ml vào mỗi ống.
- Tiệt trùng trong nồi hấp ở 121°C trong 15 phút
- Làm nguội đến nhiệt độ phòng
- Thêm 0.1ml dung dịch ferric ammonium citrate 5% (BS059 hoặc BS062) tiệt trùng vào mỗi ống

### Sử dụng môi trường bột khô BK133HA

- Hòa tan 55,0 g môi trường bột khô (BK133) trong 1 lít nước cất hoặc nước khử ion.
- Khuấy từ từ cho đến khi hòa tan hoàn toàn.
- Phân phối 10 ml vào mỗi ống
- Tiệt trùng trong nồi hấp ở 121°C trong 15 phút
- Làm nguội đến nhiệt độ phòng
- Hoàn nguyên chất bổ sung chọn lọc đông khô cho Fraser (BS031) với 5 mL tỉ lệ 1:1 dung dịch ethanol/nước tiệt trùng
- Lắc đều, tránh tạo bọt.
- Thêm 0,1 mL chất bổ sung hoàn nguyên (BS031) vào mỗi ống

## 6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Sử dụng ống chuẩn bị như trên, hoặc các ống chuẩn bị sẵn (BM013), chuyển 0,1 ml dịch nuôi cấy thu được từ môi trường tăng sinh sơ cấp (Half-Fraser).

Lắc đều.

Ủ các ống từ  $24 \pm 2h$  ở  $37 \pm 1^\circ C$ .

## 7 KẾT QUẢ

Cấy lại tất cả các ống (có màu đen hoặc không) lên COMPASS *Listeria* Agar (BM123) và lên môi trường chọn

lọc thứ hai (PALCAM hoặc Oxford)

**Lưu ý:**

Màu đen của môi trường thể hiện sự hiện diện của *Listeria*.

Tuy nhiên, một số chủng vi khuẩn nhất định cũng sẽ làm thủy phân esculin (đặc biệt là enterococci) có thể dẫn đến sự đen hóa của môi trường.

**8 KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG**

Môi trường bột khô: bột màu vàng, chảy tự do và đồng nhất.

Môi trường hoàn chỉnh: dung dịch màu vàng hồ phách ánh xanh nhạt.

Phản ứng nuôi cấy đặc trưng sau 48 giờ ủ ở 37°C, sau đó cấy lại trên COMPASS *Listeria* Agar:

VI SINH VẬT		ĐẶC ĐIỂM
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b + <i>Enterococcus faecalis</i> + <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00021 WDCM 00087 WDCM 00013	> 10 khuẩn lạc đặc trưng
<i>Listeria monocytogenes</i> ½ a + <i>Enterococcus faecalis</i> + <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00109 WDCM 00087 WDCM 00013	> 10 khuẩn lạc đặc trưng
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	< 100 khuẩn lạc
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	ức chế, score 0

**9 BẢO QUẢN**

Môi trường bột khô (BH115): 2-30°C

Môi trường bột khô (BK133): 2-30°C

Sterile 5% solution of ferric ammonium citrate : 2-25 °C

Chất bổ sung chọn lọc cho Fraser broth : 2-8 °C

Môi trường hoàn chỉnh (ready-to-use) trong ống: 2-8 °C, tránh ánh sáng

Hạn sử dụng được ghi trên bao bì.

Môi trường pha sẵn BK115 (\*): 180 ngày ngày ở 2-8°C, tránh ánh sáng

Môi trường pha sẵn BK133 (\*): 180 ngày ngày ở 2-8°C

Môi trường đã chuẩn bị hoàn chỉnh trong ống (\*): 1 tháng ở 2-8°C, tránh ánh sáng

Hoàn nguyên chất bổ sung chọn lọc BS031 (\*): 30 ngày ngày ở 2-8°C, tránh ánh sáng

(\*) Giá trị chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

**10 ĐÓNG GÓI**

Môi trường bột khô FRASER broth (không chứa ferric ammonium citrate) :

Chai 500g.....BK115HA

Sterile solution of 5% ferric ammonium citrate :

10 ống x 90 mL .....BS05908

7 ống x 10 mL.....BS06208

Môi trường bột khô FRASER broth II (không chứa ferric ammonium citrate hoặc nalidixic acid hoặc

**acriflavin) :**

Chai 500 g .....BK133HA

Bình 5 kg .....BK133GC

**Chất bổ sung chọn lọc đông khô (có ferric ammonium citrate, nalidixic acid và acriflavin) :**

10 ống cho 500mL.....BS03108

**Môi trường sẵn sàng sử dụng trong ống :**

50 ống x 10mL.....BM01308

**11 THAM KHẢO**

---

Donnelly, C.W., and Baigent, G.J.. 1986. Method for flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 52 : 689-695.

Fraser, J.A., and Sperber, W.H.. 1988. Rapid detection of *Listeria* spp. in food and environmental samples by esculin hydrolysis. *Journal of Food Protection*, 51 : 762-765.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture (Tirage 2 (2016-01-01)).

NF EN ISO 11290-1. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* et *Listeria* spp. - Partie 1 : méthode de recherche.

**12 THÔNG TIN BỔ SUNG**

---

COMPASS® là nhãn hiệu đã đăng ký của SOLABIA S.A.S

Thông tin được cung cấp trên nhãn được ưu tiên hơn các công thức hoặc hướng dẫn mô tả trong tài liệu này và có thể sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần cảnh báo.

Mã tài liệu: FRASER BROTH\_ENv11

Ngày tạo: 04-2003

Cập nhật: 05-2018

Nguồn gốc của sửa đổi: Sửa chữa thành phần BS062 / BS059.