

Demi Fraser Broth

Selective liquid medium for detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp, according to ISO 11290 (both Part 1 and Part 2).

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Enzymatic Digest of Animal Tissues	5.0
Enzymatic Digest of Casein	5.0
Meat Extract	5.0
Yeast Extract	5.0
Sodium Chloride	20.0
Disodium Hydrogen Phosphate Dihydrate	12.0
Potassium Dihydrogen Phosphate	1.35
Aesculin	1.0
Lithium Chloride	3.0
Nalidixic Acid	0.01
Acriflavine Hydrochloride	0.0125
Ammonium Iron(III) Citrate	0.5
Final pH 7.2 ± 0.2	

DESCRIPTION

Demi Fraser Broth is a selective liquid medium used for the primary enrichment of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp from food, animal feeding and environmental samples in the area of food production and food handling, according to ISO 11290-1.

This medium may be used as a diluent for the enumeration method, according to ISO 11290-2.

PRINCIPLE

Enzymatic digest of animal tissues, enzymatic digest of casein and meat extract provide nitrogen, vitamins, minerals and amino acids essential for growth. Yeast extract is the source of vitamins, particularly of group B. Sodium chloride in a so high concentration inhibits enterococci. Potassium and sodium phosphates act as a buffer system. All *Listeria* species hydrolyze aesculin to aesculetin, which in turn reacts with ferric ions producing a blackening of the medium. Lithium chloride, nalidixic acid and acriflavine inhibit the accompanying flora.

TECHNIQUE

Detection method (ISO 11290-1)

Primary enrichment

Prepare the test sample (25 g or 25 ml test portion) in Demi Fraser Broth (225 ml).

Incubate at 30 ± 1°C for 25 ± 1 h.

Secondary enrichment

Transfer 0.1 ml of the primary enrichment culture into 10 ml of Listeria Fraser Broth (ref. 24131).

Incubate at 37 ± 1°C for 24 ± 2 h.

Isolation

Streak from both primary and secondary enrichments onto O.A. Listeria Agar (ref. 10620) to obtain well-isolated colonies.

Incubate at 37 ± 1°C for 24 ± 2 h and for an additional 24 ± 2 h.

Use the enrichment cultures to inoculate a second selective plating-out medium of choice, e.g. Listeria Palcam Agar (ref. 10041), Listeria Oxford Agar (ref. 610167). Refer to the relevant technical sheet for further details.

NOTE: enrichment cultures can be refrigerated at 5°C for a maximum of 72 h before proceeding to the next step.

Enumeration method (ISO 11290-2)

Initial suspension

Make a 1 to 9 dilution of the test sample in Demi Fraser Broth or other appropriate diluents, e.g. Buffered Peptone Water (ref. 414030).

Isolation

Spread 0.1 ml of the initial suspension and 0.1 ml of further decimal dilutions onto O.A. Listeria Agar (ref. 10620).

Incubate at 37 ± 1°C for 24 ± 2 h and for an additional 24 ± 2 h.

INTERPRETATION OF RESULTS

A blackening of Demi Fraser Broth can be observed after incubation.

Blue-green colonies with or without halo on O.A. Listeria Agar are considered presumptive *Listeria* spp. Typical colonies of *L. monocytogenes* display an opaque halo.

For confirmation, subculture onto appropriate non-selective agar, e.g. Blood Agar, Nutrient Agar, TSYEA (ref. 10432). Then, carry out confirmation tests including a positive and negative control.

STORAGE

10-25°C away from light, until the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is designed for professional use only and must be used by properly trained operators.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to the national and local regulations in force.

REFERENCES

1. ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Part 1: Detection Method.
2. ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Part 2: Enumeration Method.
3. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
4. Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti.
5. Normalisation Francaise, AFNOR (1993) V08-55.
6. Fraser. J.A and Sperber W.H (1988) J. Food Prot , 51, 762-765.



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Demi Fraser Broth

PRESENTATION

Glass bottles containing liquid medium

STORAGE

10-25°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
414000	6 x 225 ml bottles	6 bottles in cardboard box
424010	6 x 90 ml bottles	6 bottles in cardboard box
451400	25 x 225 ml bottles	25 bottles in cardboard box
452401	25 x 90 ml bottles	25 bottles in cardboard box

pH OF THE MEDIUM

7.2 ± 0.2

USE

Demi Fraser Broth is a selective liquid medium used for the detection and enumeration of *L. monocytogenes* e *Listeria* spp from food and environmental samples, according to ISO 11290-1 and ISO 11290-2

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Amber, clear

SHELF LIFE

1 year

QUALITY CONTROL

- Control of general characteristics, label and print
- Sterility control
7 days at 22 ± 2°C, in aerobiosis
7 days at 35 ± 2°C, in aerobiosis
- Microbiological control
Incubation Conditions: 30 ± 1°C / 25 ± 1 h










Inoculum for productivity: ≤100 CFU

Microorganism	WDCM	Specification
<i>Listeria monocytogenes</i> 4b	WDCM 00021	Blackening of the medium, >10 colonies on O.A. Listeria Agar
+ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	
+ <i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	

Inoculum for selectivity: >10³ CFU

Microorganism	WDCM	Specification
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Total inhibition on TSA
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	<100 colonies on TSA

TABLE OF SYMBOLS

 Batch code	 Do not reuse	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
 Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult instruction for use	



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

Demi Fraser Broth

Terreno liquido selettivo per la ricerca ed il conteggio di *Listeria monocytogenes* e *Listeria* spp, secondo a ISO 11290 (Parte 1 & 2).

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Enzimatico di Tessuti Animali	5.0
Digerito Enzimatico di Caseina	5.0
Estratto di Manzo	5.0
Estratto di Lievito	5.0
Sodio Cloruro	20.0
Sodio Fosfato Dibasico Diidrato	12.0
Potassio Fosfato Monobasico	1.35
Esculina	1.0
Litio Cloruro	3.0
Acido Nalidissico	0.01
Acriflavina Idrocloruro	0.0125
Ammonio Ferro Citrato	0.5
pH Finale 7.2 ± 0.2	

DESCRIZIONE

Demi Fraser Broth è un terreno selettivo liquido utilizzato per l'arricchimento primario di *Listeria monocytogenes* e *Listeria* spp da alimenti, mangimi e campioni ambientali nelle aree deputate alla produzione e manipolazione degli alimenti, secondo ISO 11290-1.

Questo terreno può essere anche utilizzato come diluente come descritto nella ISO 11290-2 per il conteggio di *Listeria monocytogenes* e *Listeria* spp.

PRINCIPIO

Digerito enzimatico di tessuti animali, digerito enzimatico di caseina ed estratto di manzo forniscono azoto, vitamine, minerali ed aminoacidi essenziali per la crescita. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo B. Il sodio cloruro presente con un'alta concentrazione inibisce gli enterococchi. Fosfato di sodio e di potassio svolgono un'azione tamponante. Tutte le specie di *Listeria* idrolizzano l'esculina ad esculetina, che a sua volta reagisce con gli ioni ferrici producendo un annerimento del terreno. Litio cloruro, acido nalidissico ed acriflavina inibiscono la flora microbica contaminante.

TECNICA

Metodo di ricerca (ISO 11290-1)

Arricchimento primario

Preparare il campione (porzione da 25 g o 25 ml) in Demi Fraser Broth (225 ml)

Incubare a 30 ± 1°C per 25 ore ± 1 ora.

Arricchimento secondario

Trasferire 0.1 ml dell'arricchimento primari in 10 ml di Listeria Fraser Broth (ref. 24231).

Incubare a 37 ± 1°C per 24 ± 2 ore.

Isolamento

Prelevare dalle colture di arricchimento primario e secondario per seminare su O.A. Listeria Agar (ref. 10620) in modo da ottenere colonie ben isolate. Incubare a 37 ± 1°C per 24 ± 2 ore e per ulteriori 24 ± 2 ore.

Utilizzare le colture di arricchimento per inoculare un secondo terreno selettivo a scelta, come Listeria Palcam Agar (ref. 10041), Listeria Oxford Agar (ref. 610167). Far riferimento alle schede tecniche specifiche per maggiori dettagli

NOTA: le colture di arricchimento possono essere conservate a 5°C per un massimo di 72 ore prima di procedere alla fase successiva del test.

Metodo di conta (ISO 11290-2)

Sospensione iniziale

Preparare una diluizione 1 a 9 del campione in Demi Fraser Broth o altro diluente appropriato, es. Buffered Peptone Water (ref. 414030).

Isolamento

Strisciare 0.1 ml della sospensione iniziale e 0.1 ml delle diluizioni decimali successive su O.A. Listeria Agar (ref. 10620).

Incubare a 37 ± 1°C per 24 ± 2 ore e per ulteriori 24 ± 2 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione è possibile osservare un annerimento del Demi Fraser Broth.

Listeria spp forma colonie blu-verdi con o senza alone su O.A. Listeria Agar. Le colonie tipiche di *L. monocytogenes* mostrano un alone opaco.

Per la conferma, trasferire su agra non selettivi appropriati come Blood Agar, Nutrient Agar, TSYEA (ref. 10432). Quindi, procedere con i test di conferma includendo un controllo positivo ed un controllo negativo.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Il prodotto può essere conservato a 10-25°C al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento o contaminazione.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente, perciò non è classificato come pericoloso; per il suo impiego si consiglia comunque di consultare la scheda di sicurezza. Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso professionale e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Part 1: Detection Method.
2. ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. – Part 2: Enumeration Method.
3. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
4. Rapporto ISTISAN 96/35. ISSN 1123-3117. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti.
5. Normalisation Francaise, AFNOR (1993) V08-55.
6. Fraser. J.A and Sperber W.H (1988) J. Food Prot , 51, 762-765.



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

Demi Fraser Broth

PRESENTAZIONE

Flaconi in vetro contenenti terreno liquido

CONSERVAZIONE

10-25°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Confezionamento
414000	Flaconi 6 x 225 ml	6 flaconi in scatola di cartone
424010	Flaconi 6 x 90 ml	6 flaconi in scatola di cartone
451400	Flaconi 25 x 225 ml	25 flaconi in scatola di cartone
452401	Flaconi 25 x 90 ml	25 flaconi in scatola di cartone

pH DEL TERRENO

7.2 ± 0.2

IMPIEGO

Demi Fraser Broth è un terreno selettivo liquido utilizzato per la ricerca ed il conteggio di *L. monocytogenes* e *Listeria* spp da alimenti e campioni ambientali, secondo ISO 11290-1 ed ISO 11290-2

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto

ASPETTO DEL TERRENO

Ambra, chiaro

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE

1 anno

CONTROLLO DI QUALITÀ

- Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa
- Controllo microbiologico
Condizioni di incubazione: 30 ± 1°C / 25 ± 1 h










Dimensione dell'inoculo per produttività: ≤100 UFC

Microrganismo	Specifiche
<i>Listeria monocytogenes</i> serovar 4b + <i>Escherichia coli</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00021 WDCM 00013 WDCM 00009 Annerimento del terreno >10 colonie su O.A. Agar Listeria

Dimensione dell'inoculo per selettività: >10³ UFC

Microrganismo	Specifiche
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 Inibizione totale su TSA
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009 <100 colonie su TSA

TABELLA DEI SIMBOLI

 Numero di lotto	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Data di scadenza	 Fragile, maneggiare con cura
 Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso	



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com