

MICROLAB

LISTERIA

MONOCYTOGENES



1. INTRODUCTION AND SCOPE

Microlab *Listeria monocytogenes* is a qualitative test for the detection of *Listeria monocytogenes* in food and surfaces that integrates all the steps that would be carried out in a microbiological laboratory. ***L. innocua* or *L. marthii* could show positive results in foods at levels above 85 CFU/25 g.**

Microlab *Listeria monocytogenes* can be used in the food industry or in a laboratory. This test does not require qualified personnel or specific equipment.

Microlab *Listeria monocytogenes* allows to determine the absence of *Listeria monocytogenes* in 25 g of food, in accordance with the current legislation (Commission Regulation N° 2073/2005). Microlab *Listeria monocytogenes* integrates the steps of enrichment, detection and inactivation in a single device.

- » Enrichment step: *Listeria monocytogenes* grows to detectable levels in a specific culture medium (LOVETT media + selective supplements; ZE/MILIS/BROTH) .
- » Detection step: bacteria are detected by an immunochromatographic test with specific antibodies against *L. monocytogenes* (ZE/MILIS/STRIP).
- » Inactivation step: an inactivation solution eliminates any microorganism that may have grown in the culture medium (ZE/MILIS/INAC).

2. VALIDATION STATMENT

This method has been certified (AOAC-PTM 062502) for the use with cheddar cheese, ice cream, smoked salmon, deli ham and deli turkey using a 25 g test portion. Surface testing is not included in the AOAC-PTM certification claim.

3. KIT COMPONENTS

- » 6 Microlab Listeria monocytogenes devices.
- » Kit instructions.
- » Product certificate.

4. MATERIAL AND EQUIPMENT NOT INCLUDED

- » Incubator (37°C).
- » Weighing scale.

5. STABILITY AND STORAGE

The device should be stored at 4-10°C. kit shelf life is 12 months from production. See the kit expiry date on the package.

6. PRECAUTIONS

1. Storage conditions higher than 4-10°C may adversely affect performance of the test.
2. If a positive result is obtained, it should be confirmed. Sample extraction must be performed through the septum located at the bottom of the device, ALWAYS BEFORE THE INACTIVATION. Confirm positive results following ISO 11290-1 or other approved methods. Contact your distributor for more information.
3. Microlab Listeria monocytogenes is an in vitro diagnostic test. In analysis involving legal processes, the results should be re-evaluated with an official reference method. Zeulab does not assume any legal responsibility.

7. SAFETY INSTRUCTIONS

A safety data sheet is available from your local distributor or ZEULAB. Use this kit following good laboratory practices. Additional precautions and qualified personnel are not required.

8. TEST PROCEDURE

See point 9 (page 12) to identify the different parts of the device marked with letters. **Let the device reach 37°C prior to be used.**

1. Turn the green ring (F) anticlockwise holding the enrichment chamber (I) to open the device. Remove the protective band.

Sample preparation:

2.a. Food Analysis: Weigh 25 g of a representative and homogenised sample on the top of the enrichment chamber (I).

Surface analysis 2.b (not certified by AOAC-RI):

Cut the aluminum foil with a previously sterilized tool (scalpel, cutter...), hydrate the sponge with the culture medium, sample the surface and place the sponge in the enrichment chamber (I).

Surface sampling should be performed wearing gloves.

Surface analysis can be performed with premoistened sponges.

Enrichment:

3. Align the arrow (E) with the trigger (H) to assemble the device. While pressing the trigger (H), turn the ring (F) clockwise for two rounds.

4. Turn clockwise the upper cylinder while holding the enrichment chamber (I) until the aluminium foil tears.

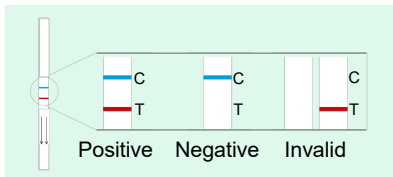
5. Continue turning the ring (F) clockwise, without pressing the trigger (H). After 1,5 turns, the ring block (G) should be at the left of the trigger (H), causing the final click of the rounds.

6. Shake the device for 5 seconds to obtain a homogeneous mixture between the sample and the enrichment media (included).

7. Incubate the device at 37 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) for 48 hours (± 1 hour).

Detection:

8. Shake the device for 5 seconds to homogenize its contents.
9. Remove the rotator's security seal (K).
10. Turn the rotator (A) anticlockwise until the rotator's green marker (L) reaches position 1 (J).
11. Turn the device slowly upside down and wait for 10 seconds until the chamber marked as 1 is filled. In case it is not properly filled, shake it gently for 3 seconds in a vertical position.
12. Turn the device to the upright position. Continue turning the rotator (A) anticlockwise until the rotator's marker (L) reaches position 2 (C).
13. Wait for 15 minutes and read the results. Readings after 20 minutes will not be valid.



Positive: Two lines, red and blue, are observed in the white central zone.

Negative: Only a blue line is observed in the white central zone of the strip test.

Invalid: When no blue line is shown.

Inactivation:

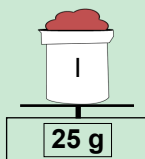
14. Continue turning the rotator (A) until the rotator's marker (L) reaches the end (B).
15. Shake the device to homogenize and turn it upside down several times. The inactivation solution should reach all the chambers.
16. Leave the device in upright position for 30 minutes.
17. Turn the device upside down and leave 30 more minutes to complete the inactivation.
18. Discard the device as a solid urban waste.

Sample preparation/ Preparación de las muestras:

Food analysis/ Análisis de alimentos:



1



2.a

Surface analysis/ Análisis de superficies:



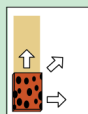
1



Cut the foil



Hydrate the sponge



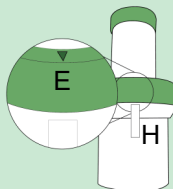
Surface sampling



2.b

Insert the sponge

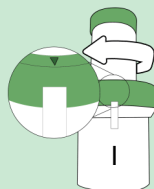
Enrichment/ Enriquecimiento:



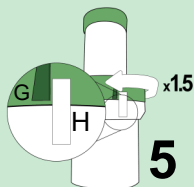
3



x2



4

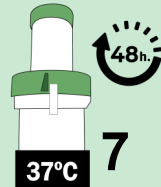


x15

5

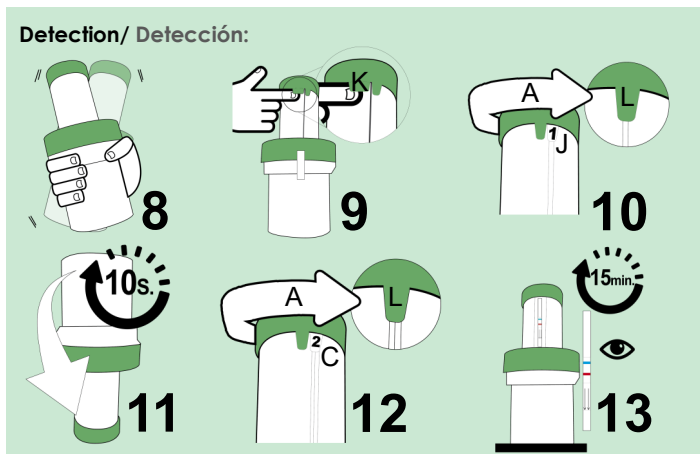


6

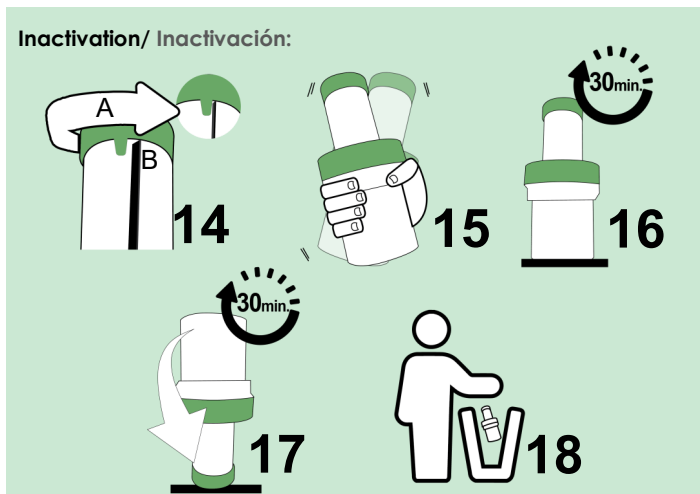


7

Detection/ Detección:



Inactivation/ Inactivación:



1. INTRODUCCIÓN Y ALCANCE

Microlab *Listeria monocytogenes* es un dispositivo de análisis cualitativo que integra todas las fases que se realizan en un laboratorio microbiológico para la detección de *Listeria monocytogenes* en alimentos y superficies. ***L. innocua* o *L. marthii* pueden dar resultados positivos a niveles superiores a 85 UFC/25 g.**

Microlab *Listeria monocytogenes* se puede realizar en la propia industria alimentaria o en un laboratorio. Este ensayo no requiere personal cualificado ni equipamiento específico de microbiología.

Microlab *Listeria monocytogenes* permite determinar la ausencia de *Listeria monocytogenes* en 25 g de alimento de acuerdo a la legislación aplicable (Reglamento (CE) N° 2073/2005).

Microlab *Listeria monocytogenes* integra las fases de enriquecimiento, detección e inactivación en un solo dispositivo.

- » Fase de enriquecimiento: *Listeria monocytogenes* crece hasta niveles de detección en un medio de cultivo específico (medio LOVETT + suplementos selectivos; ZE/MILIS/BROTH) .
- » Fase de detección: se realiza mediante un test de inmunocromatografía con anticuerpos específicos frente a *L. monocytogenes* (ZE/MILIS/STRIP).
- » Fase de inactivación: una solución inactivante elimina los microorganismos que pueden haber crecido en el medio de cultivo (ZE/MILIS/INAC).

2. DECLARACIÓN DE VALIDACIÓN

Este método ha sido certificado (AOAC-PTM 062602) para su utilización en muestras de 25 g de queso cheddar, salmón ahumado, pechuga de pavo cocida, helado de nata y jamón cocido. El análisis de superficies no está incluido en la certificación AOAC-PTM.

3. COMPONENTES DEL KIT

- » 6 dispositivos Microlab Listeria monocytogenes.
- » Instrucciones del Kit.
- » Certificado del producto.

4. MATERIAL Y EQUIPAMIENTO NO INCLUIDO

- » Incubador (37°C).
- » Balanza.

5. ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

El dispositivo debe ser almacenado en refrigeración (4-10°C). Utilizar el dispositivo antes de la fecha de caducidad.

6. PRECAUCIONES

1. El almacenamiento a temperaturas superiores a 4-10°C puede afectar al correcto funcionamiento del test.
2. En caso de obtener un resultado positivo, debe ser confirmado. La extracción de la muestra se realizará a través del septum situado en la parte inferior del dispositivo y SIEMPRE ANTES DE LA INACTIVACIÓN. La confirmación se debe realizar siguiendo la norma ISO 11290-1 u otros métodos aceptados. Para mayor información consulte a su distribuidor.
3. Microlab Listeria monocytogenes es una prueba de diagnóstico in vitro. Si los análisis están involucrados en procesos legales, los resultados deben ser reevaluados con el método de referencia oficial. Zeulab no asume ninguna responsabilidad legal.

7. MEDIDAS DE SEGURIDAD

Existe una hoja de seguridad disponible a través de su distribuidor habitual o ZEULAB. Se recomienda utilizar buenas prácticas de laboratorio. No se necesita personal cualificado ni medidas adicionales.

8. PROCEDIMIENTO DE USO

Revisar el apartado 9 (pág. 12) para identificar las diferentes partes del dispositivo marcadas con letras. **Atemperar el dispositivo a 37°C previamente a su uso.**

1. Abrir el dispositivo girando el anillo verde (F) en el sentido contrario de las agujas del reloj sujetando el dispositivo por la cámara de enriquecimiento (I). Retirar la banda protectora.

2. Preparación de muestras:

2.a. Análisis de alimentos: pesar 25 g de muestra representativa en la parte superior de la cámara de enriquecimiento (I).

2.b. Análisis de superficies (no está certificado por AOAC– RI):

Cortar la lámina de aluminio con un utensilio previamente esterilizado (bisturí, cúter...), hidratar la esponja con el medio de cultivo, muestrear la superficie con la esponja hidratada y depositarla en la cámara de enriquecimiento (I).

Realizar el muestreo con guantes. El análisis de superficies puede ser realizado con esponjas hidratadas.

Enriquecimiento:

3. Ensamblar el dispositivo haciendo coincidir la flecha (E) con el gatillo (H). Presionando el gatillo (H), girar el anillo (F) dos vueltas en el sentido de las agujas del reloj.

4. Sujetando el dispositivo por la cámara de enriquecimiento (I) girar el cilindro superior en el sentido de las agujas del reloj, hasta que se rasgue la lámina.

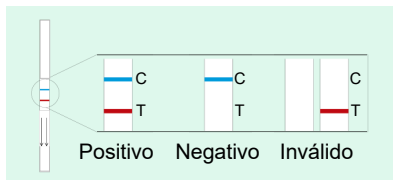
5. Continuar girando el anillo (F) en el sentido de las agujas del reloj, sin presionar el gatillo (H). Tras 1,5 vueltas, el tope del anillo (F) debe quedar a la izquierda del gatillo (H), provocando el clic de final del recorrido.

6. Agitar durante 5 segundos para optimizar la homogeneización de la muestra con el medio de cultivo (incluido en el dispositivo).

7. Incubar a una temperatura de 37°C (±1°C) durante 48h (± 1h).

DetECCIÓN:

8. Agitar el dispositivo durante 5 segundos para homogeneizarlo.
9. Retirar el precinto de seguridad del rotador (K).
10. Girar el rotador (A) en el sentido contrario de las agujas del reloj hasta que la pestaña verde del rotador (L) coincida con la posición 1 (J).
11. Invertir el dispositivo lentamente y esperar 10 segundos hasta que se llene la cámara marcada como 1. En caso de no llenarse, realizar una leve agitación durante 3 segundos en sentido vertical.
12. Invertir de nuevo el dispositivo, apoyarlo en una superficie plana y continuar el giro hasta que la pestaña del rotador (K) coincida con la posición 2 (C).
13. Leer los resultados transcurridos 15 minutos. Lecturas transcurridos 20 minutos no se considerarán fiables.



Positivo: Se observan dos líneas en la zona central blanca de la tira, una roja y otra azul.

Negativo: Solo se observa la línea azul en la zona central de la tira.

Inválido: Cuando no se observa la línea azul.

INACTIVACIÓN:

14. Continuar con el giro del rotador (A) hasta que la pestaña del rotador (L) llegue al tope de final de recorrido (B).
15. Agitar el dispositivo para homogeneizar su contenido, volteándolo repetidas veces para que la disolución alcance todas las cámaras del dispositivo.
16. Dejar reposar el dispositivo durante 30 minutos.
17. Invertir el dispositivo y dejar reposar en esta posición 30 minutos más.
18. Desechar el dispositivo como residuo sólido urbano.

9. MICROLAB DEVICE DIAGRAM / ESQUEMA DEL DISPOSITIVO MICROLAB

