

HOLOGIC®

AccuProbe®

LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR IDENTIFIKATIONS TEST

(bioMérieux ref. 39500 / Hologic Cat. No. 102920)

ANVENDELSE

AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR IDENTIFIKATIONS TEST er en hurtig DNA probe test, som udnytter nucleinsyre hybridisering til identifikation af *Listeria monocytogenes*, som er isoleret fra kultur.

Der er også foreslået en detektionsmetode, som har modtaget AFNOR validering under reference no BIO 12/4_02/95 (refererer til sektionen om MIKROBIOLOGISK KONTROL paragraf C)

OPSUMMERING OG FORKLARING AF TESTEN

Listeria monocytogenes er oprindeligt en mikroorganisme som stammer fra jord, som er spredt udover omgivelserne. Den er blevet fundet i bl.a. vand, landbrugsprodukter og i dyr. Anderkendt som et menneskeligt patogen i mere end 50 år. *Listeria monocytogenes* er blevet identificeret som den etiologiske agent for listeriosis, som har medført meningitis, hjernebetændelse, sepsis, endocarditis, aborter, abscesser og lokale materiefyldte læsioner i mennesker (2.). Mange større udbrud af listeriosis, indenfor det sidste århundrede, er blevet sat i forbindelse med indtagelse af konserveret mad. Gravide kvinder, nyfødte, patienter med nedsat immunforsvar og ældre har den største risiko for at blive ramt af listeriosis.(5)

Nuværende identifikations metoder bygger på traditionelle fysiologiske og biokemiske metoder. Disse inkluderer Gram farvnings morfologi, katalase, dødelighed, beta hæmolyse og blod agar og sukker fermentation (8).

AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES TEST er en hurtig og objektiv metode til detektion af *Listeria monocytogenes*, som detekterer en specifik ribosom RNA sekvens i løbet af 35 minutters prøve præparation.

PRINCIP

Nucleinsyre hybridiserings test er baseret på komplementær nucleinsyre strenges mulighed for at danne stabile dobbelt strengede komplekser (6). AccuProbe metoden anvender en enkelt streng DNA probe, som er luminescence mærket og som er komplementær til den ribosomale RNA i mål organismen. Efter den ribosomale RNA er frigjort fra mål organismen, kombineres den mærkede DNA probe med mål organismens ribosomale RNA og danner en stabil DNA:RNA hybrid. Selektions reagentet gør det muligt at differentiere mellem ikke hybridiserede prober og hybridiserede prober. Lyssignalet som udsendes fra DNA:RNA hybridisererne måles i et Hologic luminometer. Et positivt resultat er en luminometer aflæsning, som er lig med eller større end cut-off værdien. En værdi lavere end denne cut-off er et negativt resultat.

REAGENSER

Bemærk: For oplysninger om enhver fare og sikkerhedserklæringer, der kan være tilknyttet reagenser, henvises til Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på www.hologic.com/sds.

Reagenserne som anvendes til AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR IDENTIFIKATIONS TEST leveres i tre adskilte kits:

AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KIT (bioMérieux ref. 39500 / Hologic Cat. No. 102920)

Probe Reagens (P) (4 x 5 tubes)
Listeria monocytogenes.

AccuProbe CULTURE IDENTIFICATION REAGENT KIT (bioMérieux ref. 39305 / Hologic Cat. No. 102800)

Reagens 1 (Lysis Reagens) (1) 1 x 10 mL
Bufferopløsning som indeholder 0,04% natrium acid

Reagens 2 (Hybridization Buffer) (2) 1 x 10 mL
Bufferopløsning.

Reagens 3 (Selection Reagent) (3) 1 x 60 mL
Buffer opløsning

HOLOGIC DETECTION REAGENT KIT (bioMérieux ref. 39300 / Hologic Cat. No. 201791)

Detection Reagens I (RI) 1 x 240 mL
0.1% hydrogen peroxide in 0.001 N nitric acid.

Detection Reagens II (RII) 1 x 240 mL
1 N natrium hydroxid.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- A. Må kun anvendes til invitro diagnostisk eller industriel mikrobiologi
- B. Anvend almindelige sikkerhedsregler når assayet udføres (3).
- C. Må kun anvendes til identifikation af *Listeria monocytogenes* isoleret fra kultur
- D. Anvend kun den medfølgende eller specifik engangs laboratorie varer
- E. Nogle af reagenser indeholder natrium acid, som kan reagere med bly eller kobber plumbingringer og danne potentielle eksplosive metal acider. Når disse reagenser bortskaffes skal de altid fortyndes med store mængder vand for at forhindre ophobning af metal acider i afløbet.
- F. Undlad at Detektions reagens I og II kommer i kontakt med hud, øjne og slimhinder. Hvis disse reagenser kommer i kontakt med huden, vask med vand. Hvis reagenserne spildes, vask med vand inden det tørres op.
- G. For at sikre optimal virkning anbefaler vi at rørene inspekteres for spredt materiale inden brug, hvis der er spredt materiale, slå røret mod bordet for at få rystet indholdet ned i bunden af røret.

OPBEVARING

Probe reagens rørene skal opbevares i den folie poser som de ligger i ved 2 til 8°C. De er stabile i den uåbnede poser indtil udløbsdatoen trykt på posen. Når posen er åbnet, skal rørene anvendes inden to måneder eller inden udløbsdatoen, posen skal altid være ordentligt lukket til.

De andre reagenser, som anvendes i AccuProbe MONOCYTOGENES CULTURE IDENTIFICATION TEST kan opbevares mellem 2° og 25°C og er stabile til udløbsdatoen.

FRYS IKKE REAGENSERNE

PRØVE FORBEREDELSE

AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES TEST er designet til at detektere tilstedeværelsen af *Listeria monocytogenes*, som er isoleret fra kultur. Detektionen af *L. Monocytogenes* i madvarer udføres efter et præ-berigelses trin.

KLINISK IN VITRO DIAGNOSTISK ANVENDELSE

- A. **Fast medie metode.** Vækstkolonier som er isoleret fra et passende fast medie, som f.eks. 5% fåre blod, hjerne hjerte infusion eller chokolade agar kan testes. Tilmed kan vækstkolonier fra selektive medier, som f.eks. McBride Agar og LPM Agar (Remel) også anvendes. Prøveren kan testes så snart vækkolonierne er synlige, men skal ikke være mindre end 72 timer gamle.
1. Kolonierne kan fejrnnes med en 1 µL engangs plastik loop, en wire loop, en engangs plastik nål eller en applikator pind. Swabs skal ikke anvendes, p.gr.a. den lille smule væske, som cellene bliver opløst i.
 2. Hvis en enkelt koloni skal testes, skal den være mindst 1 mm i diameter. En 1 µL fuld loop af celler eller flere (3 eller 4) mindre kolonier kan testes.
 3. Forsøg at undgå at få noget af det faste medie med cellerne.
 4. Anvenderen kan vælge at indpode en anden kultur plade på dette tidspunkt, for at teste renheden af det isolerede.
- B. **Bouillon kultur metoden .** Vækst i bouillon, så som trypticase soja, hjerne infusion, eller *Listeria* berigelses bouillon med en turbiditet lig med eller større end en McFarland I Neflometer standard, kan testes med AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR IDENTIFIKATIONS TEST. Afpipeter 50 µL prøve fra den velblandede bouillon opløsning til probe reagens røret som beskrevet nedenfor.

MIKROBIOLOGISK KONTROL

Poceduren beskrevet i paragraf C i denn sektion er valideret af AFNOR, den Franske Standardiserings Sammenslutning.

- A. **Fast medie metode til identifikation eller detektion.** Vækstkolonier isolerede fra passende fast medie (5% fåre blod, PALCAM, Oxford, McBride agar) kan anvendes. Prøverne kan testes så snart kolonierne er synlige, men skal være mindre end 72 timer gamle.
1. Vækstkolonierne kan fjernes med en 1 µL engangs plastik loop, en wire loop, en forsegleet Pasteur pipette eller en engangs plastik nål. . Swabs skal ikke anvendes, p.gr.a. den lille smule væske, som cellene bliver opløst i.
 2. Det er muligt at teste enten flere små kolonier (3 eller 4), eller en enkelt koloni, som er mindst 1 mm i diameter (en koloni indeholder 1011-1012 bakterier), eller at fjerne vækst fra siden af podningen (1 µL loop).
 3. Undgå at medtage noget af det faste medium med cellerne.

4. Afhængig af væksten, opsamles enten alle kolonierne som findes, eller dem i podnings zonen.

5. Anvenderen kan vælge at pode en anden kultur plade på dette tidspunkt, for at teste renheden af det isolerede.

B. Bouillon kultur metode. Testen kan udføres direkte på en passende kultur bouillon. I henhold til studier udført på et udvalg af medier (1,7), kan kun visse bouilloner anvendes direkte. Ikke selektive bouilloner så som Brain Heart Infusion, Trypticase Soja, Listeria Berigelses Bouillon, Todd-Hewitt Bouillon, giver gode resultater, hvorimod visse andre mere selektive bouilloner (L.PALCAMY, UVM, Fraser) reducerer testens følsomhed, som kan føre til falske negative resultater. Inkubationen skal være på 48 timer ved 30 °C. **Hvis man anvender Fraser, UVM eller PALCAMY bouillon kræves der sub kultivering på et fast medium.**

Afpippeter 50 µL prøve fra den velblandede bouillon opløsning til probe reagens røret som beskrevet i paragraf C i TEST PROCEDURE sektionen.

C. AFNOR VALIDERET PROCEDURE N° BIO 12/4-02/95 (gældende indtil 7. februar 2011) FOR ALLE FØDEVARE PRODUKTER OG MILIØ PRØVER

- D0 1. Bland Xg prøve i 9X mL Half Fraser Broth, inkuber i 18 til 24 timer ved 30° ± 1°C.
NB: indenfor afgænsningerne i AFNOR valideringen, har vægt over 25g ikke været testet
- D0+24 t 2. Efter inkubering i berigelses bouillon, overpodning til selektiv agar (Oxford agar for mejeri produkter eller PALCAM agar for alle madvarer og miljø prøver). Påsæt prøven i brede striber med en swab. Inkuber i 18 til 24 timer ved 37° ± 1°C (selektiv plade No 1)
3. Inkubation med Half Fraser Broth skal udvides til 18 til 24 ved 30° ± 1°C.
- D0 +48 t 4. Efter 18-24 timers inkubation ved 37°C ± 1°C af den selektive plade No 1, udføres målingen af *Listeria monocytogenes* på en typisk eller atypisk koloni fra den selektive agar, efterfulgt af den faste medie metode beskrevet i Paragraf A i denne sektion. Hvis der ikke findes kolonier på pladen, fortsæt inkuberingen af den selektive plade No 1 i endnu 18-24 timer ved 37° ± 1°C
5. I tilfælde af negativt AccuProbe resultat fra den selektive plade No1 eller mangel på kolonier på den selektive plade No1, tilså en ny selektiv agar (plade No2), hvor der anvendes Half Fraser Broth, som er inkuberet i 48 timer. Inkuber agaren i 24 timer ved 37° ± 1°C.
- D0 + 72 t 6. Efter 48 timers inkubation af selektiv plade No1 eller 24 timers inkubation af selektiv plade No 2, fortsæt med detection af *L. Monocytogenes* i henhold til protokollen beskrevet i sektionen Mikrobiologisk Kontrol, paragraf A.

Bekræftelse af positive resultater: I henhold til den validerede AFNOR protokol, skal alle positive resultater, som er målt med AccuProbe metoden bekræftes. Bekræftelsen skal udføres ved anvendelse af en af de følgende tre muligheder:

- I henhold til klassiske reference metoder, som er beskrevet af CEN, ISO eller AFNOR, som inkluderer et oprensings trin på en nærende agar.
- Anvend et kromogent medie som Listeria i henhold til Ottaviane og Agosti beskrivelse i standard ISO 11290-1 eller anvend et kromogent medie, som er inkluderet i en AFNOR valideret metode. Anvend en 1 µl loop, tag prøven fra et punkt på udsåningen på den selective plade, som gav det positive AccuProbe resultat og fortsæt med en isolation på det kromogene medie. Indkuber pladen ved den temperatur og tid, som er angivet af producenten. Tilstedeværelsen af

isolerede karakteristiske kolonier confirmere AccuProbe resultatet. Følgende kromogene medier er blevet testet i løbet af AFNOR valideringen i 2003 og 2007: *Compass L. Mono Agar (2003)* *Chromagar™ Listeria(2003)*, *ALOA™(2003)*, *Rapid L. Mono (2003 og 2007)* og *OAA (2007)*.

- Anvend en hvilken som helst AFNOR valideret metode, som er baseret på et andet princip end AccuProbe metoden. Den komplette protokol beskrevet for validerings metoden skal anvendes.

I tilfælde af forskellige resultater: positiv med AccuProbe, ubekræftet med klassisk test beskrevet i standard CEN, ISO eller AFNOR metoder eller efter isolation på kromogen medie eller ved sammenligning med en anden AFNOR valideret metode, er det laboratoriets ansvar at bevise rigtigheden af det rapporterede resultat.

I tilfælde af at kromogent medium er anvendt, anbefaler vi at forsætte inkubationen i yderligere 24 timer eller udså på et andet kromogent medie fra den positive selektive plade (Palcam)

MEDFØLGENDE MATERIALE

AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR IDENTIFIKATION TEST
(bioMérieux ref. 39500 / Hologic Cat. No. 102920)

20 Tests

Probe Reagens (P) 4 x 5 rør

NØDVENDIGT MATERIALE SOM IKKE MEDFØLGER

1 µL sterile plastic udsånings loop, wire loop, forseglede Pasteur pipette eller plastiknåle til opsamling af kolonier.

Kontrol kultur stamme

Inkubator eller vandbad (37° ± 1°C)

Vandbad eller varmeblok* (60° ± 1°C)

Mikropipetter (50 µL, 300 µL)

Repetitions pipette (50 µL, 300 µL)

Vortex mixer

*Varmeblokken i tørbadet skal have huller, som nøjagtigt passer til 12 x 75 mm rør. Det anbefales at anvende Hologic tør varme bad

TILGÆNGELIGT FRA DIN HOLOGIC DISTRIBUTØR

Hologic Leader 50i Luminometer

(bioMérieux ref. 39400 / Hologic Cat. No. 103100i)

HOLOGIC VARME BLOK (60° ± 1°C)

(bioMérieux ref. 39406)

AccuProbe KULTUR IDENTIFIKATIONS REAGENS KIT

(bioMérieux ref. 39305 / Hologic Cat.No. 102800)

HOLOGIC DETEKTION REAGENS

(bioMérieux ref. 39300 / Hologic Cat. No. 201791)

TEST PROCEDURE

A. FORBEREDELSE AF Udstyret

1. Indstil inkubatoren eller vandbadet på $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
2. Indstil vandbadet eller varmeblokken på $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
3. Forbered Hologic luminometeret. Check at der er Detektion reagens I og II nok til alle test.

B. KONTROLLER

Det anbefales at teste Positive og negative control stammer i laboratoriet rutinemæssigt, i henhold til lokale regulativer. En kultur af *L. Monocytogenes* (ATCC35152) kan anvendes som positiv kontrol, mens en kultur af *L. Gravi* (ATCC19120) kan anvendes som negativ kontrol

C. FORBEREDELSE AF PRØVER TIL HYBRIDISERING

1. Folieposen åbnes ved at klippe lige over i toppen af posen. Udtag nok probe reagens rør til at teste prøverne isoleret fra kulturerne og/eller kontroller. Luk folieposen igen ved at folde den ende der åbnet flere gange og påsæt tape eller klips. **Efterlad tørremidlet i posen.**
2. Mærk et passende nummer af Probe reagens rør for at kunne teste prøverne isoleret fra kulturerne og/eller kontroller. Fjerne og gem propperne.
3. Afpipeter 50 μL af Reagen I (lysis reagens) I Probe Reagens røret. **Hvis det er bouillon kulturer, som skal testes, tilsæt IKKE Reagens I til Probe reagens rørene.**
4. Overfør væstkolonier fra fast medium eller 50 μL af velblandet bouillon kultur til det mærkede Probe reagens rør, som beskrevet i PRØVE FORBEREDELSES sektionen. Hvis der anvendes væstkolonier fra fast medium, drej loopen rundt i Reagens I (lysis reagens) og bland godt.
5. Sæt proppen på probe reagens røret igen og inkuber det ved $37^{\circ} \pm 1^{\circ}$ i 5 minutter i vandbad eller 10 minutter i en inkubator.

D. HYBRIDISERING

1. Fjerne Probe reagens røret fra vandbadet eller inkubatoren. Fjern og gem proppen. Afpipeter 50 μL Reagens 2 (hybridiserings buffer) I Probe reagens røret.
2. Sæt proppen på Probe reagens røret igen og inkuber det I 15 minutter ved $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ i vandbad eller varmeblok.

E. UDVÆLGELSE AF HYBRIDER

1. Fjerne Probe reagens rørene fra vandbadet eller varmeblokken. Fjern og gem propperne. Afpipeter 300 μL af reagens 3 (selektions reagens) i hver rør. Sæt proppen på igen og bland dem på vortex mixer.
2. Inkuber Probe reagens rørene i mindst 5 minutter ved $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ i vandbad eller varmeblok.
3. Fjern Probe reagens rørene fra vandbadet eller varmeblokken og efterlad dem i stuetemperatur i mindst 5 minutter. Fjern og bortkast propperne. **Aflæs resultaterne i luminometret indenfor 1 time efter rørene er fjernet fra vandbadet eller varmeblokken.**

F. DETEKTION

1. Vælg den rette protocol på luminometret, i henhold til den medfølgende rekommandation i kit inserten for dette apparat.
2. Med et fugtigt stykke stof eller papir aftørres hvert rør, for at sikre at der ikke er spild på ydersiden af rørene. Isæt røret i luminometret og følg instruktionen.
3. Når analysen er færdig, fjern røret fra luminometret.

NOTER TIL PROCEDUREN

- A. REAGENS: Reagens 2 (hybridiserings buffer) kan udfælde. Opvarm og bland opløsningen ved 35° - 60°C og udfældningerne vil opløses.
- B. TEMPERATUR:Hybridiserings og selektions reaktionen er temperatur afhængig. Derfor er det af yderste vigtighed at inkubator, vandbad og varmeblok er indstillet korrekt på det specificerede temperaturområde.
- C. TID:
1. Hybridiserings reaktionen skal startes indenfor 1 time efter cellerne og reagens 1 er tilsat Probe reagens rørene.
 2. Hybridiserings og selektions reaktionerne er tids afhængige. Hybridiser i mindst 15 minutter, men ikke mere end 20 minutter. I selektionen inkuber Probe reagens rørene i mindst 5 minutter, men ikke mere end 6 minutter.
- D. VANDBAD: Vand niveauet i vandbadet skal være så højt, at hele reaktions volumin i Probe reagens røret er under vand.
- E. VORTEXNING: Det er kritisk at opnå en homogen blanding under Selektion trinnet, specielt efter tilsætning af reagens 3.
- F. FEJLSØGNING:
1. Høje negative kontrol værdier (*L.Gravi* ATCC 19120) større end 20.000 RLU (Relative Light Units) i Leader luminometret eller 600 PLU (Photometric Light Units) i AccuLDR (tidligere PAL) luminometret, kan skyldes utilstrækkelig blanding efter tilsætning af reagens 3 (selektion reagens), eller ved testning af blandede kulturer. Da blandede kulturer kan forekomme, kan en portion af væksten stryges ud på en passende agar medium og inkuberes og checkes for flere forskellige koloni typer.
 2. Lave positive kontrol værdier (*L. monocytogenes* ATCC 35152) mindre end 50.000 RLU i Leader luminometret eller 1.500 PLU i AccuLDR luminometer, kan skyldes for få celler eller ved testning af en blandet eller for gammel kultur. Da blandede kulturer kan forekomme, kan en portion af væksten stryges ud på en passende agar medium og inkuberes og checkes for flere forskellige koloni typer.

RESULTATER

A.FORTOLKNING AF RESULTATERNE

Resultaterne af AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR IDENTIFIKATIONS TEST er baseret på følgende cutt-off værdier. Prøve signaler større eller lig med disse cut-off værdier anses for at være positive. Signaler mindre end disse cut-off værdier anses for at være negative. Værdier i usikkerheds området skal gentestes. Hvis den anden test stadig giver et usikkert resultat, skal væksten testes i subkultur for at checke renheden.

	AccuLDR (formerly PAL)	Leader
Cut-off valu	1.500 PLU	50.000 RLU
Usikkerheds område	1.200-1.499 PLU	40.000-49.999 RLU

B. KVALITETS KONTROL OG AKCEPT AF RESULTATERNE

Negative kontroller (f.eks. *L. Gravi*, ATCC 19120) og positive kontroller (f.eks. *L. Monocytogenes*, ATCC 35152) skal opfylde følgende værdier:

	AccuLDR (formerly PAL)	Leader
Negativ kontrol	<600 PLU	< 20.000 RLU
Positiv kontrol	>1.500 PLU	> 50.000 RLU

Hvis kontrollerne er udenfor disse grænser, må resultaterne ikke anvendes.

BEGRÆNSNINGER

Denne metode er testet på frisk vækst fra fast medie og fra bouillon kultur nævnt I PRØVE FORBEREDELSES sektionen. Virkningsfuldheden af denne test er ikke demonstreret på direkte kliniske speciers (så som cerebrospinalvæske eller blodprøver)

Resultater fra AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR IDENTIFIKATIONS TEST skal fortolkes sammen med andre laboratorie og kliniske data, som er tilgængeligt for klinikerer.

FORVENTEDE VÆRDIER

AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR TEST blev sammenlignet med standard kultur biokemisk identifikations metoder, hvor man anvendte 175 isolationer af *L. Monocytogenes* specier og tilmed 102 isolationer, som repræsenterede 21 slægter og 2 kliniske steder. En anden evaluering var foretaget med 296 stammer isoleret fra mistænkt kontermineret mad materiale. Isolationerne var enten kategoriseret som positive (>50.000RLU) eller negative (<40.000 RLU). Området af observationer for negative kulturer var fra 520 til 27.990 RLU og 77.088 til 1.283.789 RLU for positive kulturer. En sammenligning af disse resultater med standard kultur identifikations metoder er vist herunder:

AccuProbe Percent Culture Agreement	AccuProbe / CULTURE IDENTIFICATION				Sensitivity
	Pos	Pos	Neg	Neg	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Specificity
Site 1 100%	175	0	0	102	100% / 100%
Site 2 99.7%	81	1	0	110	100% / 99.5%
Total 99.8%	256	1	0	212	100% / 99.7%

En AccuProbe positive, kultur negative isolation fra site 2 blev gentestet med AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES KULTUR IDENTIFIKATIONS TEST og gav et negativt resultat.

YDEEVNE

A. INTER ASSAY PRÆCISION

Inter Assay præcisionen for AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES CULTURE IDENTIFICATION TEST blev beregnet ved at analysere tre koncentrationer af ribosomal RNA, der var isoleret fra *L. monocytogenes*, der blev anvendt 10 replikater i hvert enkelte assay.

Prøve	A	B	C
Antal replikater	10	10	10
Mean Response (RLU)	132,370	72,720	41,074
Standard deviation	9,981	3,126	3,837
Variations koefficient	7.5%	4.3%	9.3%

B. INTRA ASSAY PRÆCISION

Intra Assay præcision blev beregnet ved at måle de same tre koncentrationer af *L. monocytogenes* ribosomal RNA i enkeltbestemmelser i 12 på hinanden følgende assays.

Prøve	A	B	C
Antal replikater	12	12	12
Mean Response (RLU)	146,469	77,240	41,074
Standard deviation	19,793	8,634	4,343
Variations koefficient	13.5%	11.2%	10.8%

C. SPECIFICITET

97 ATCC stammer blev evalueret med AccuProbe LISTERIA MONOCYTOGENES CULTURE IDENTIFICATION TEST. Disse isolationer repræsenterede totalt 87 specier fra 53 slægter.

15 isolationer fra 7 specier af Listerie blev testet (*L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. murrayi*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*). Kun isolationerne fra *L. monocytogenes* gav positive resultater.

D. GENFINDING

Fire serie fortyndinger af *L. monocytogenes* (i området fra 0 til 30 millioner celler pr. test) blev målt med tilstedeværelse af 30 millioner celler af følgende udvalgte ikke-mål specier: *L. grayi*, *L. ivanovii*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Brochothryx thermophacta*.. Der blev ikke observeret nogen krydsreaktion eller interferanc.

E. SPECIFIK YDEEVNE KARAKTERISTIK

I løbet af de indledende studier til AFNOR valideringen, blev følgende resultater fundet:

- Inklusivitet/ekklusivitet: alle 50 stammer af *Listeria monocytogenes* som blev testet blev detekteret. Studiet af 18 stammer af Listeria (ikke *monocytogenes*) og 12 stammer som ikke tilhørte slægten Listeria afstedkom ingen krydsreaktion.

- Relativt detektions niveau: AccuProbe metoden og ISO 11290-1 referance metoden havde den samme 50% detektions grænse mellem 0.3 og 5.2 CFU/25g

- Sammenlignende studier: 346 prøver var testet simultant med AccuProbe metoden (Palm agar) og EN ISO 11290-1 metoden. Det gav følgende resultater:

- Falske negative resultater med AccuProbe metode: 3
- Ekstra positive resultater med AccuProbe metode: 8
- Overensstemmende resultater: 335

AccuProbe *Listeria monocytogenes* metoden blev godkendt af AFAQ AFNOR certificering som en alternativ metode til analysering af humane fødevarer og miljø prøver. Godkendelsen blev foretaget ved sammenligning med referance metoden beskrevet i EN ISO 11290-1A1 standarden, i henhold til EN ISO 16140 henvisningen.

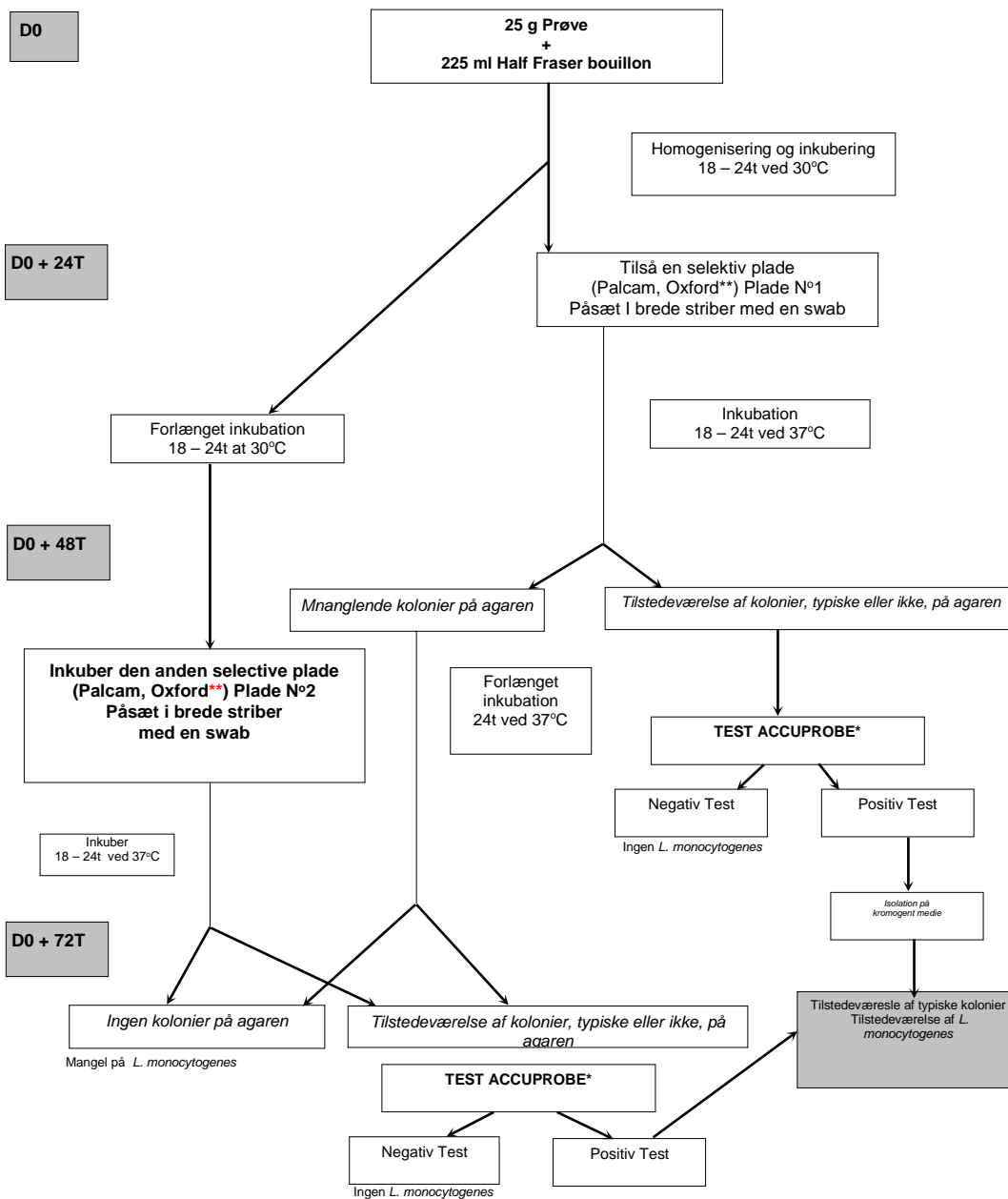
BIO 12/4-02/95 certificering er gyldig indtil den 7. februar 2011 og kan indhentes fra bioMérieux Technical Assistance Department.



BIO 12/4 - 02/95
METHODES ALTERNATIVES D'ANALYSE POUR L'AGROALIMENTAIRE
Certifié par AFAQ AFNOR Certification
www.afnor.org

**APPENDIX
PROCEDUREN TIL
« HURTIG METODEN TIL MÅLING AF LISTERIA MONOCYTOGENES »
AFNOR* VALIDATION N° BIO 12/4 - 02/95 (Gyldig til 7. februar 2011)**

*AFNOR: French Standardization Association



- | | | |
|--|---|---------------------------------|
| <p>* 1. Udtag med 1 ul loop; siolerede kolonier eller Kultur fra siden af podningen.</p> | <p>2. I 1 Accuprobe rør:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tilsæt 50µl Reagens R1
⇒ Inkuber: 5 min ved 37°C • Tilsæt 50µl Reagens R2
⇒ Inkuber: 15 min ved 60°C • Tilsæt : 300µl Reagens R3
⇒ Inkuber: 5 min ved 60°C | <p>3. Aflæs på Luminometret</p> |
|--|---|---------------------------------|

** Palcam : til alle mad produkter og miljø prøver. Oxford : til mejeri produkter



IVD

Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 (USA)



EC REP

Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Dette produkt kan være dækket af et eller flere
amerikanske patenter.
Se www.hologic.com/patents.

103051F-01-DA Rev. 003
2018-03
©1990 – 2018 Hologic, Inc. Alle rettigheder
forbeholdes.