

SOLUS ONE *LISTERIA*

Sistema de análisis por inmunoensayo para la
detección de *Listeria*
en superficies del entorno

Número del prospecto: 41
Número de versión: 1,0
Fecha de la versión: Enero de 2020
Códigos del producto: LIS1-0096; LIS1-0480
Organismo de certificación: AOAC





El funcionamiento de este método ha sido evaluado por el AOAC Research Institute con el resultado de que su desempeño se ajustaba a las especificaciones del fabricante.

Este método ha sido evaluado en el Programa *Performance Tested Methods*SM AOAC® para la detección de *Listeria* spp. en superficies de entornos de acero inoxidable y poliestireno. El método Solus One *Listeria* se ha comparado con los métodos de referencia FDA/ BAM (capítulo 10), al ser aplicables a matrices. (AOAC® *Performance Tested*SM núm. de licencia **051802**).

1. INTRODUCCIÓN

El método Solus One *Listeria* proporciona un resultado negativo o presuntamente positivo a partir de un único paso de enriquecimiento y en un plazo de 25 horas, incluido el tiempo de ensayo.

2. USOS PREVISTOS

El método Solus One *Listeria* sirve para la detección de *Listeria* spp. en muestras del entorno de producción en un plazo de 24 horas. El análisis es fácil de realizar aunque requiere instalaciones de laboratorio y personal cualificado y formado. Se recomienda que los nuevos usuarios realicen el curso de formación básico impartido por Solus Scientific Solutions Ltd.

La utilización de este método incluye el cumplimiento de las normas de buena práctica de laboratorio (GLP) (véase EN ISO 7218).

3. REACTIVOS SUMINISTRADOS

La mayoría de los componentes del kit de análisis se suministran estabilizados y listos para usar en la concentración de trabajo, solo el tampón de lavado concentrado requiere dilución. Todos los kits de análisis contienen material suficiente para 1 (LIS1-0096) o 5 (LIS1-0480) x 93 determinaciones, más los controles. La fecha de caducidad del kit de análisis se muestra en la etiqueta del producto.

Componente	Aspecto	Volumen		Comentarios
		LIS1-0096	LIS1-0480	
Placa de ensayo	Microplaca de 96 pocillos con formato de tira extraíble o rompible	1	5	Los pocillos están recubiertos por anticuerpos contra <i>Listeria</i> spp.
Control negativo	Líquido de color naranja pálido. Etiqueta verde.	3 ml	10ml	Concentración de trabajo. Contiene diluyente con conservante.
Control positivo	Líquido negro. Etiqueta roja.	3 ml	10ml	Concentración de trabajo. Contiene <i>Listeria</i> en diluyente con conservante.
Conjugado	Líquido incoloro o con coloración pajiza muy pálida. Etiqueta naranja.	11ml	60ml	Concentración de trabajo. Contiene un conjugado de anticuerpo-peroxidasa de rábano picante en el diluyente con conservante.
Sustrato	Líquido incoloro o de color azul muy pálido. Etiqueta azul.	11ml	60ml	Concentración de trabajo. Contiene 3, 3', 5, 5'-tetrametilbenzidina (TMB), peróxido de hidrógeno y estabilizadores.
Solución stop	Líquido incoloro. Etiqueta plateada.	11ml	60ml	Concentración de trabajo. Contiene 0,2 M de ácido sulfúrico.
Tampón de lavado concentrado	Líquido incoloro/amarillo/naranja. Etiqueta blanca.	10 ml x 6	60ml x 5	Concentrado. Diluir antes de usar.

4. MATERIALES Y EQUIPOS NECESARIOS QUE NO SE SUMINISTRAN

Frigorífico a 2-8 °C	Pipetas y puntas (1 ml; 0,1 ml)
Agua desionizada o destilada	Agitador vórtex
SOLO+ medio precalentado a 30 °C	Temporizador
Probetas cilíndricas de varios volúmenes (p. ej.: 250 ml, 1 l)	Estufa de incubación a 30±1 °C
Pipetas de transferencia de 3 ml (estériles)	Estufa de incubación a 37±1 °C
Torundas de esponja o hisopos empapados con la solución neutralizante adecuada (p. ej.: medio de agar Lethen o tampón HiCap)	Aparato para calentar (p. ej.: termobloque) capaz de calentar hasta 85-100 °C
Tubos para ebullición de muestras (p. ej.: tubos de polipropileno sin borde de 5 ml, 12 x 75 mm)	Dynex DS2 o equipo de limpieza de microplacas y lector de microplacas con filtro de 450 nm
	Autoclave para la descontaminación de las muestras

5. PREPARACIÓN DEL REACTIVO

5.1 Tampón de lavado:

Prepare lo siguiente en un recipiente limpio.

LIS1-0096	LIS1-0480
Añada 10 ml (1 frasco) de tampón de lavado concentrado en 240 ml de agua desionizada y agite en círculos para mezclar.	Añada 60ml (1 frasco) de tampón de lavado concentrado en 1440ml de agua desionizada y agite en círculos para mezclar.

5.2 Caldo de cultivo (medio de cultivo):

- Prepare el medio SOLO+ siguiendo las instrucciones del fabricante. Deje enfriar a temperatura ambiente (p. ej.: 18-25 °C) antes de usar.

6. PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y ENRIQUECIMIENTO

6.1 Muestras de superficies del entorno

- Tome muestras del entorno de producción con un instrumento de muestreo. Siga las instrucciones de uso, conservación y transporte del fabricante del instrumento de muestreo para utilizarlo correctamente.
- Caliente el medio SOLO+ a 30 °C antes de usar. Añada 100 ml de medio SOLO+ a una torunda de esponja en una bolsa adecuada. Añada 10 ml de medio SOLO+ a un hisopo. Masajee manualmente o mezcle en vórtex e incube durante 22-30 horas a 30±1 °C.

Asegúrese de que el tiempo de procesamiento de las muestras en la poyata se mantiene al mínimo y que el traslado a la estufa de incubación a 30 °C se hace lo antes posible. Es importante evitar la proliferación excesiva de organismos competidores.

7. TERMOINACTIVACIÓN POSENRIQUECIMIENTO

- 7.1. Cuando el periodo de incubación de una muestra finalice, transfiera una alícuota de 1-2 ml (evitar partículas) a un tubo para ebullición de muestras (p. ej.: un tubo de polipropileno de 5 ml).
- 7.2. Caliente la alícuota a 85-100 °C durante 15-20 minutos en el tubo. Después de calentar deje enfriar la muestra a temperatura ambiente (18-25°C). El proceso se puede acelerar colocando los tubos en agua fría del grifo durante ~5 minutos.

Las muestras que no se han termoinactivado deben conservarse para verificación hasta que se obtengan los resultados del inmunoensayo. Estas muestras deben mantenerse a 30 ± 1 °C si el análisis se va a realizar en un plazo de 2 horas. Si no es posible, mantenga los caldos hasta un máximo de 72 horas a 2-8 °C antes del análisis.

8. PROCEDIMIENTO DEL INMUNOENSAYO

- 8.1. Saque uno de los kits de análisis al menos una hora antes de usar para que sus componentes alcancen la temperatura ambiente (18-25°C). Determine el número de pocillos que necesita para el análisis. Saque el número de tiras que necesite del sobre y colóquelas en el soporte proporcionado. Las tiras que no se usen se pueden volver a meter en el sobre y guardar a 2-8 °C.
- 8.2. Prepare el tampón de lavado como se ha explicado en el apartado 5.1 para el tamaño de kit de análisis que se vaya a utilizar.
- 8.3. Deje el primer pocillo de la tira vacío para usar como «blanco» para medir la absorbancia del sustrato.
- 8.4. Pipetee 0,1 ml de control negativo (etiqueta verde) en el segundo pocillo.
- 8.5. Pipetee 0,1 ml de control positivo (etiqueta roja) en el tercer pocillo.
- 8.6. Pipetee 0,1 ml de cada muestra termoinactivada por separado en pocillos consecutivos de la tira. Si quedan pocillos vacíos al final de la tira de análisis, puede repetir los controles positivo y negativo. †
- 8.7. Ponga la placa a incubar (con las tiras) a 37 ± 1 °C durante 60-65 minutos.
- 8.8. Después de incubar, aspire el contenido de los pocillos eliminando todo el líquido posible. Lave los pocillos 5 veces con el tampón de lavado asegurándose de que llena y vacía los pocillos durante cada ciclo de lavado. La técnica de lavado es crítica para el funcionamiento del ensayo por lo que se recomienda usar un instrumento de lavado de microplacas.
- 8.9. Pipetee 0,1 ml de conjugado (etiqueta naranja) en todos los pocillos menos en el «blanco».
- 8.10. Ponga la placa a incubar a 37 ± 1 °C durante 30-35 minutos.
- 8.11. Repita los ciclos de lavado como se describe en el apartado 8.8.
- 8.12. Pipetee 0,1 ml de sustrato (etiqueta azul) en todos los pocillos, incluido el «blanco».
- 8.13. Incube la placa a temperatura ambiente (18-25°C) durante 30-35 minutos a oscuras.
- 8.14. Después de incubar pare la reacción añadiendo 0,1 ml de solución stop (etiqueta amarilla) en todos los pocillos, incluido el pocillo «blanco». La solución stop hará que el color azul de los pocillos cambie a amarillo.
- 8.15. Lea las densidades ópticas de los pocillos en un plazo de 10 minutos en un lector de placas utilizando un filtro de 450 nm. Antes de proceder con la lectura inspeccione los pocillos para ver si se han formado burbujas de aire y, si las hubiera, elimínelas con una aguja. El lector debe ponerse a cero con el pocillo «blanco» antes de leer el resto de los pocillos. No utilice el filtro de referencia. Es preferible usar equipos ELISA automáticos y deben configurarse y validarse en conformidad con este protocolo.

† Si se va a utilizar un equipo Dynex deberá tenerse cuidado y evitar que se formen burbujas en la muestra y en los tubos de reactivos, o la formación de películas en el tubo por encima del nivel del líquido. Es esencial comprobar que el sistema ha pipeteado correctamente las muestras en la placa de ensayo antes de empezar.

9. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se expresan en medidas de densidad óptica (DO₄₅₀) utilizando un lector de microplacas.

Criterios de aceptación:

DO ₄₅₀ del control negativo	<0,075
DO ₄₅₀ del control positivo	>0,500

Siempre debe sustraerse el valor del pocillo «blanco» (normalmente en A1 cuando se procesa manualmente) del resto de los resultados. Si el valor de los controles positivo o negativo no cumple estos criterios, el análisis no se considera válido y debe repetirse.

Las muestras con lecturas de DO₄₅₀ <0,200 se consideran negativas y en este caso el análisis ha concluido; los resultados se pueden notificar y las muestras que no se han inactivado térmicamente se pueden desechar siguiendo la normativa o las directrices locales.

Las muestras con DO₄₅₀ ≥0,200 se consideran presuntamente positivas para *Listeria*. Los resultados positivos deben verificarse utilizando un método de cultivo reconocido.

10. CONFIRMACIÓN DE LOS RESULTADOS POSITIVOS DEL INMUNOENSAYO ONE *LISTERIA*

- Todas las muestras identificadas como positivas se deben confirmar utilizando los análisis convencionales descritos en los métodos normalizados por la FDA (BAM), USDA o ISO. El paso de confirmación debe empezar desde que las muestras no termoinactivadas se guardan a 30 °C o a 2-8 °C.
- Siembre 10 µl en las placas de agar selectivo apropiadas. Incube los agares como se especifica en los protocolos de cultivo normalizados para *Listeria*. Si se observan las típicas colonias de *Listeria* en las placas, esto es suficiente para confirmar que la muestra es positiva para *Listeria* spp. Se pueden utilizar análisis adicionales, como las galerías de identificación bioquímica, si hubiera alguna duda de la validez del resultado o para identificar las especies concretas.
- Solo microbiólogos titulados deberán encargarse de esta confirmación.

11. CONSERVACIÓN Y VENCIMIENTO DEL KIT DE ANÁLISIS

El kit de análisis y cualquier componente sin utilizar del mismo deberán conservarse a 2-8 °C. NO CONGELAR. La fecha de vencimiento del kit se muestra en la caja y en todos los componentes incluidos en la caja. El tampón de lavado diluido sobrante se puede conservar durante 10 días si se mantiene a 2-8 °C. Todas las tiras de microplaca sin utilizar deberán devolverse al sobre de papel metalizado con el sobrecito de desecante cerrando bien el precinto y, a continuación, guardar a 2-8 °C.

12. SEGURIDAD

Aunque los procedimientos detallados son sencillos y fáciles de realizar, requieren instalaciones de laboratorio con personal cualificado formado en la manipulación de organismos potencialmente patógenos. Se recomienda que los nuevos usuarios realicen el curso de formación básico impartido por Solus Scientific Solutions Ltd.

- La solución stop contiene ácido sulfúrico que es un compuesto corrosivo. Si la solución entra en contacto con la piel o con las membranas mucosas, lávese inmediatamente con agua abundante.

Como guía, se deberán tomar las precauciones siguientes como mínimo:

- Se deberá utilizar ropa de protección, incluida la bata de laboratorio, gafas de seguridad, máscara y guantes cuando sea apropiado.
- No pipetee con la boca.
- Evite contacto con la piel.
- No coma, beba o utilice cosméticos en el laboratorio.
- Siga todas las normativas aplicables locales, estatales/provinciales y/o nacionales relacionadas con la eliminación de residuos biológicos.

13. PRECAUCIONES PARA CONSEGUIR UN FUNCIONAMIENTO ÓPTIMO

- Los reactivos se suministran con una concentración de trabajo fija. La sensibilidad y especificidad óptimas disminuirán si los reactivos se modifican o no se conservan en las condiciones recomendadas.
- No mezcle lotes de reactivos distintos.
- Evite la contaminación microbiana en los frascos de reactivos abiertos.
- Asegúrese de que no se produce contaminación cruzada entre los pocillos.
- Para que el funcionamiento del análisis sea correcto, es esencial que el anticuerpo conjugado con enzimas no contamine otros reactivos o equipos.
- Asegúrese de que los componentes del kit no se exponen a temperaturas superiores a 40 °C.
- Las soluciones que contienen azida sódica no se deben utilizar para limpiar equipos, especialmente los de lavado (la azida sódica inactiva la enzima peroxidasa utilizada en el kit).
- No utilice este análisis para usos diagnósticos de muestras clínicas.

14. INFORMACIÓN FDSM

Las fichas de datos de seguridad de materiales (FDSM) para este análisis están disponibles previa solicitud.

15. GARANTÍA

La precisión de los resultados depende del uso correcto del kit y de haber seguido las instrucciones de uso detenidamente. Si el desempeño del kit no se ajusta a la especificación, póngase en contacto con:

Solus Scientific Solutions Ltd.

9 Mansfield Networkcentre,
Millennium Business Park, Concorde Way,
Mansfield, Nottinghamshire
NG19 7JZ

Tel - +44 (0)1623 429701

Fax - +44 (0)1623 620977

Correo electrónico: info@solusscientific.com



Información de *copyright*

Este documento, incluidas las fotografías e ilustraciones, contiene información patentada protegida por *copyright*. Se prohíbe la reproducción total o parcial de esta publicación, de ninguna forma ni por cualquier medio, y la traducción a cualquier idioma sin el permiso previo y por escrito de PerkinElmer. ©2020 PerkinElmer, Inc. Todos los derechos reservados.

Marcas comerciales

PerkinElmer es una marca registrada de PerkinElmer, Inc. El resto de las marcas comerciales son propiedad de sus propietarios respectivos.

Resumen de cambios

Fecha del cambio	Número de versión	Resumen del cambio
Enero de 2020	1	Reposicionamiento de marca y combinación de Solus One Listeria – Prospecto 29 – Versión 3 – 11/18 y Solus One Listeria – Prospecto 23 – Versión 2 – 11/18 en un único documento.

NOTA: Los cambios menores (p. ej.: de formato, gramática, tipográficos) no se incluyen en el resumen de cambios.

Si desea más información visite www.solusscientific.com

Fabricado en:

Solus Scientific Solutions Ltd.

9 Mansfield Networkcentre,
Millennium Business Park, Concorde Way,
Mansfield, Nottinghamshire
NG19 7JZ
Reino Unido
Tel - +44 (0)1623 429701

PerkinElmer, Inc

940 Winter Street,
Waltham, MA 02451 USA
P: (800) 762-4000 o
(+1) 203-925-4602
www.perkinelmer.com



Si desea una lista completa de nuestras oficinas globales visite www.perkinelmer.com/ContactUs