

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API® Listeria est un système standardisé pour l'identification des *Listeria* utilisant des tests miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

PRINCIPE

La galerie API® Listeria comporte 10 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée, qui permettent la réalisation de tests enzymatiques ou des fermentations de sucres.

Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue en consultant la liste des profils de la notice ou à l'aide d'un logiciel d'identification.

PRESENTATION (Coffret de 10 tests) :

- 10 galeries API® Listeria (**STR**)
- 10 ampoules d'API® Suspension Medium, 2 ml (**MED**)
- 1 ampoule de réactif ZYM B (**ZYM B**)
- 10 boîtes d'incubation (**INCUB**)
- 10 fiches de résultats (**SHEET**)
- 1 notice fournie dans le kit ou téléchargeable sur www.biomerieux.com/techlib

COMPOSITION

Galerie

La composition de la galerie API® Listeria est reportée dans le Tableau de Lecture de cette notice.

Milieu

MED (API® Suspension Medium) 2 ml	Eau déminéralisée
--	-------------------

Réactif

Réactif ZYM B * 8 ml	Fast Blue BB (matière active) Méthanol Diméthylsulfoxyde (DMSO)	0,12 g 40 ml 60 ml
--	---	--------------------------

Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.

* Mention d'avertissement : **DANGER**



Mentions de danger

H226 : Liquide et vapeurs inflammables.

H302 : Nocif en cas d'ingestion.

H311 : Toxique par contact cutané.

H315 : Provoque une irritation cutanée.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

H331 : Toxique par inhalation

H335 : Peut irriter les voies respiratoires.

H370 : Risque avéré d'effets graves pour les organes.

Conseils de prudence

P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P301 + P312 : EN CAS D'INGESTION: Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin en cas de malaise.

P302 + P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau.

P304 + P340 : EN CAS D'INHALATION: transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité.

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs

- McFarland Standard (Réf. 70900), point 1
- Logiciel d'identification **apiweb**™ (Réf. 40011) (consulter bioMérieux)

Matériel

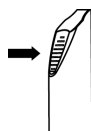
- Pipettes ou PSipettes
- Protège-ampoule
- Portoir pour ampoules
- Equipement général de laboratoire de bactériologie

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* et pour contrôle microbiologique.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- Prendre connaissance des mentions de danger "H" et des conseils de prudence "P" cités ci-dessus.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).

- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée par un personnel compétent et averti. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage et des composants.
- Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, sachet déshydratant ouvert, ...
- Avant utilisation, laisser les réactifs revenir à température ambiante.

- Ouvrir les ampoules délicatement comme suit :



- Placer l'ampoule dans le protège-ampoule.
- Tenir l'ensemble verticalement dans une main (bouchon blanc vers le haut).
- Bien enfoncer le bouchon.
- Exercer une pression horizontale avec le pouce sur la partie striée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule.
- Retirer l'ampoule du protège-ampoule et conserver le protège-ampoule pour une utilisation ultérieure.

* Ampoule sans bouchon compte-gouttes :

- Enlever délicatement le bouchon.

* Ampoule avec bouchon compte-gouttes :

- Renverser l'ampoule et la maintenir en position verticale.
- Appliquer une pression latérale sur le bouchon pour transférer la totalité du réactif dans le flacon compte-gouttes.

NOTE : Pour toute utilisation ultérieure, il est recommandé d'appuyer sur le bouchon avant de renverser l'ampoule afin d'aspirer tout excès de réactif et d'éviter de le répandre à l'extérieur du bouchon.

- Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Galleries STR:

Les galeries se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

Milieus MED:

Les milieux se conservent à 2-30°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

Réactif :

Le réactif doit être conservé à l'obscurité à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

Après ouverture de l'ampoule et transfert du réactif dans le flacon compte-gouttes, le réactif peut être conservé 1 mois (ou jusqu'à la date limite d'utilisation si celle-ci est antérieure) : **noter la date d'ouverture sur l'étiquette du flacon.**

Le réactif est très sensible à la lumière : vérifier l'aspect du réactif avant son transfert en flacon compte-gouttes.

Le réactif présente à l'état normal une teinte jaune à ambrée. Éliminer le réactif dès qu'un changement de couleur rose (signe d'altération) est observé. Une exposition courte à la lumière du laboratoire (environ 1 heure) entraîne une dégradation du réactif.

Veiller à remettre rapidement le réactif au réfrigérateur après utilisation.

UTILISATION DU REACTIF

- Ouvrir l'ampoule de réactif comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" (ampoule avec bouchon compte-gouttes).
- Avant utilisation de chaque ampoule de réactif, il est recommandé de réaliser un contrôle qualité à l'aide de **la souche ATCC® 33090™** mentionnée dans le paragraphe Contrôle Qualité afin d'exclure tout réactif défectueux.
- Délivrer une goutte de réactif.
- Bien refermer le flacon après usage et le conserver comme indiqué au paragraphe "Conditions de stockage".

ECHANTILLONS

API® Listeria ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre.

Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Sélection des colonies

- Vérifier l'appartenance de la souche à étudier au genre *Listeria* (courts bacilles à Gram positif, polymorphes, mobiles à 25°C mais pas à 37°C, catalase positive et oxydase négative).
- Les prélèvements contenant souvent des mélanges de plusieurs espèces de *Listeria*, il est préférable de réaliser une subculture sur gélose au sang à partir d'une colonie bien isolée. Incuber la boîte 24 heures à 36°C ± 2°C.

NOTE : Les milieux suivants peuvent être utilisés pour prélever les colonies avant utilisation de la galerie API® Listeria :

- milieux gélosés au sang non sélectifs, à base Columbia ou TSA, avec ou sans antibiotiques ;
- milieux sélectifs pour *Listeria* à l'exception du milieu McBride qui inhibe l'expression enzymatique des bactéries sur la galerie API® Listeria. Si ce milieu est employé pour l'isolement, réaliser une subculture sur gélose au sang.

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 3 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- Jeter le déshydratant.

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API® Suspension Medium (2 ml) comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" (ampoule sans bouchon compte-gouttes).
- A l'aide d'une pipette ou d'une PSlpette, prélever quelques colonies bien isolées. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
- Réaliser une suspension d'opacité égale à **1 de McFarland**. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
- Observer le type d'hémolyse et le noter sur la fiche de résultats, ce caractère constituant un test additionnel.

Inoculation de la galerie

- Répartir la suspension bactérienne précédente dans les tubes en évitant la formation de bulles (pour cela, incliner la boîte d'incubation vers l'avant et placer la pointe de la pipette ou de la PSlpette sur le côté de la cupule) :
 - Remplir tube et cupule du test **[DIM]** (100 µl environ), **en veillant à ne pas créer un ménisque convexe**.
 - Remplir uniquement la partie tube des tests ESC à TAG (50 µl environ).

NOTE : La qualité du remplissage est très importante : des tubes insuffisamment ou trop remplis sont source de résultats faussement positifs ou négatifs.

- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber 18-24 heures à 36°C ± 2°C en aérobiose.

CONTROLE DE QUALITE

Les galeries, milieux et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques à différentes étapes de leur fabrication. Le **Contrôle de Qualité Minimum** peut être utilisé pour vérifier que les conditions de stockage et de transport n'ont pas d'impact sur les performances de la galerie API® LISTERIA. Ce contrôle peut être réalisé en suivant les instructions et critères attendus ci-dessus en lien avec le référentiel CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Le contrôle peut être fait en utilisant la souche **Listeria innocua ATCC® 33090™** pour évaluer les performances des tests DIM et XYL. En effet, des études réalisées par bioMérieux ont montré que sur la galerie API® LISTERIA, les tests DIM et XYL sont les tests les plus sensibles. Par conséquent, lors du contrôle, l'intégrité de la galerie peut être vérifiée en utilisant la souche **Listeria innocua ATCC 33090**.

Dans le cas où un **Contrôle de Qualité Complet** est exigé pour cette galerie, les trois souches suivantes devront être testées pour vérifier les réactions positives et négatives de la plupart des tests de la galerie API® LISTERIA.

1. *Listeria innocua* ATCC® 33090™
2. *Listeria ivanovii* ATCC® BAA-139™
3. *Listeria monocytogenes* ATCC® 19115™

ATCC® : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	[DIM]	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+*	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Occasionnellement (-).

Profils obtenus après culture sur gélose Columbia au sang de mouton.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LECTURE ET INTERPRETATION

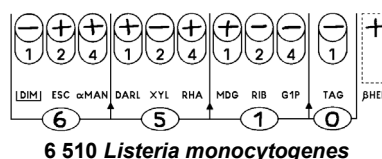
Lecture de la galerie

- Ajouter 1 goutte de réactif au test **[DIM]**.
- Lire dans les 3 minutes toutes les réactions en se référant au Tableau de Lecture de la notice technique.
- Noter les réactions en +/- sur la fiche de résultats.
- Noter également le type d'hémolyse. Le résultat de ce test n'est pas pris en compte dans l'interprétation de la galerie.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

- Détermination du profil numérique :
Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 4 chiffres qui constituent le profil numérique.
- Identification :
Elle est réalisée à partir de la base de données (V1.2)
 - * à l'aide du profil numérique :
 - Rechercher le profil dans la liste de la notice ; cette liste n'étant pas exhaustive, en cas de profil inexistant, consulter le logiciel ci-dessous ou l'Assistance Technique bioMérieux.
 - * à l'aide du logiciel d'identification **apiweb™** :
 - Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 4 chiffres.



LIMITES DU TEST

- Le système API® Listeria est destiné à l'identification des bactéries du genre *Listeria* présentes dans la base de données (voir Tableau d'Identification en fin de notice) et à elles seules. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres microorganismes ou exclure leur présence.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'Identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

PERFORMANCES

643 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :

- 98,91% des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
- 0,62% des souches n'ont pas été identifiées.
- 0,47% des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Éliminer le réactif ZYM B non utilisé en suivant les procédures relatives aux déchets chimiques dangereux. Éliminer tous les réactifs utilisés ou non utilisés (autre que le réactif ZYM B) ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
DIM	Substrat enzymatique	0,106	Différenciation <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	<u>ZYM B / < 3 min</u>	
				orange pâle rose beige gris beige	orange
ESC	Esculine Citrate de fer	0,16 0,024	hydrolyse (ESculine)	jaune pâle	noir
αMAN	4-nitrophényl-αD-mannopyranoside	0,045	α-MANnosidase	incolore	jaune
DARL	D-Arabitol	0,4	acidification (D-ARabitol)	rouge / rouge orangé	jaune / jaune orangé
XYL	D-Xylose	0,4	acidification (XYLose)		
RHA	L-Rhamnose	0,4	acidification (RHAmnose)		
MDG	Méthyl-αD-glucopyranoside	0,4	acidification (Méthyl-αD-Glucopyranoside)		
RIB	D-Ribose	0,4	acidification (RIBose)		
G1P	Glucose-1-Phosphate	0,4	acidification (Glucose-1-Phosphate)		
TAG	D-Tagatose	0,4	acidification (TAGatose)		

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

METHODOLOGIE	p. I
LISTE DES PROFILS NUMERIQUES	p. II
TABLEAU D'IDENTIFICATION	p. II
BIBLIOGRAPHIE	p. III
TABLE DES SYMBOLES	p. IV

HISTORIQUE DES REVISIONS

Catégories de type de modification :

N/A	Non applicable (première version)
Correction	Correction d'anomalies présentes dans la documentation
Modification technique	Ajout, révision et/ou retrait d'informations relatives au produit
Administratif	Modifications d'ordre non technique perceptibles par l'utilisateur
Remarque :	<i>Les modifications mineures de typographie, grammaire et mise en page n'apparaissent pas dans l'historique des révisions.</i>

Date de version	Référence du document	Type de modification	Résumé de la modification
2015/03	07887Q	Administratif	HISTORIQUE DES REVISIONS PRESENTATION, ECHANTILLONS, TABLE DES SYMBOLES
		Modification technique	COMPOSITION, PRECAUTIONS D'UTILISATION

BIOMERIEUX, le logo bleu, API, et **apiweb** sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux, ou à l'une de ses filiales, ou à l'une de ses sociétés.

CLSI est une marque appartenant à Clinical Laboratory and Standards Institute Inc.

La marque ATCC, la dénomination ATCC et tous les numéros de catalogue ATCC sont des marques de American Type Culture Collection.

Les autres marques et noms de produits mentionnés appartiennent à leurs propriétaires respectifs.



bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



System for the identification of *Listeria*

SUMMARY AND EXPLANATION

API® Listeria is a standardized system for the identification of *Listeria*, which uses miniaturized tests, as well as a database. The complete list of those organisms that it is possible to identify with this system is given in the Identification Table at the end of this package insert.

PRINCIPLE

The API® Listeria strip consists of 10 microtubes containing dehydrated substrates which enable the performance of enzymatic tests or sugar fermentations. During incubation, metabolism produces color changes that are either spontaneous or revealed by the addition of reagents.

The reactions are read according to the Reading Table and the identification is obtained by consulting the profile list in the package insert or using the identification software.

CONTENT OF THE KIT (Kit for 10 tests) :

- 10 API® Listeria strips (**STR**)
- 10 ampules of API® Suspension Medium, 2 ml (**MED**)
- 1 ampule of ZYM B reagent (**ZYM B**)
- 10 incubation boxes (**INCUB**)
- 10 result sheets (**SHEET**)
- 1 Package Insert provided in the kit or downloadable from www.biomerieux.com/techlib

COMPOSITION

Strip

The composition of the API® Listeria strip is given in the Reading Table of this package insert.

Medium

MED (API® Suspension Medium) 2 ml	Demineralized water
--	---------------------

Reagent

ZYM B * reagent 8 ml	Fast Blue BB (active ingredient)	0.12 g
	Methanol	40 ml
	Dimethylsulfoxide (DMSO)	60 ml

The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.

* Signal word : **DANGER**



Hazard statements

- H226** : Flammable liquid and vapour.
- H302** : Harmful if swallowed.
- H311** : Toxic in contact with skin.
- H315** : Causes skin irritation.
- H319** : Causes serious eye irritation.
- H331** : Toxic if inhaled.
- H335** : May cause respiratory irritation.
- H370** : Causes damage to organs.

Precautionary statements

- P210** : Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
- P280** : Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
- P301 + P312** : IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor if you feel unwell.
- P302 + P352** : IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
- P304 + P340** : IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing.
- P305 + P351 + P338** : IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For more detailed information consult the material safety data sheet.

REAGENTS AND MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Reagents

- McFarland Standard (Ref. 70900), No. 1 on the scale
- **apiweb™** identification software (Ref. 40011) (consult bioMérieux)

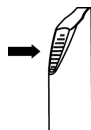
Material

- Pipettes or PSipettes
- Ampule rack
- Ampule protector
- General microbiology laboratory equipment

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use and microbiological control.**
- **For professional use only.**
- Refer to the hazard statements "H" and precautionary statements "P" indicated above.
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- All specimens, microbial cultures and inoculated products should be considered infectious and handled appropriately. Aseptic technique and usual precautions for handling the bacterial group studied should be observed throughout this procedure. Refer to "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Current revision*". For additional handling precautions, refer to "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Latest edition", or to the regulations currently in use in each country.
- Do not use reagents after the expiry date.
- Before use, check that the packaging and components are intact.
- Do not use strips which have been damaged : cupules deformed, desiccant sachet open, etc.

- Allow reagents to come to room temperature before use.
- Open ampules carefully as follows :



- Place the ampule in the ampule protector.
- Hold the protected ampule in one hand in a vertical position (white plastic cap uppermost).
- Press the cap down as far as possible.
- Position the thumb tip on the striated part of the cap and press forward to snap off the top of the ampule.
- Take the ampule out of the ampule protector and put the protector aside for subsequent use.

* For ampule with no dropper-cap :

- Carefully remove the cap.

* For ampule with dropper-cap :

- Turn the ampule upside down and maintain it in a vertical position.
- Squeeze gently on the cap to release a drop to transfer all the reagent into the dropper-bottle.

NOTE: For subsequent use, it is recommended to squeeze on the cap before turning the ampule upside down in order to suck back any spare drops of reagent and thus avoid sprinkling cap or fingers with the reagent.

- The performance data presented were obtained using the procedure indicated in this package insert. Any change or modification in the procedure may affect the results.
- Interpretation of the test results should be made taking into consideration the patient history, the source of the specimen, colonial and microscopic morphology of the strain and, if necessary, the results of any other tests performed, particularly the antimicrobial susceptibility patterns.

STORAGE CONDITIONS

Strips STR :

The strips should be stored at 2-8°C until the expiry date indicated on the packaging.

Media MED :

The media may be stored at 2-30°C until the expiry date indicated on the packaging.

Reagent :

The reagent should be stored in the dark at 2-8°C until the expiry date indicated on the packaging.

The reagent may be kept for up to 1 month after the ampule has been opened and the reagent transferred into the dropper-bottle, (or until the expiration date if this is earlier) : **record the date opened on the bottle label.**

The ZYM B reagent is very sensitive to light : check the appearance of the reagent before transferring it into the dropper-bottle. The ZYM B reagent is normally yellow to amber in color. Dispose of the reagent if any tint of pink (sign of deterioration) is observed. Exposure to laboratory lighting for a short period of time (approx. 1 hour) will damage the reagent.

Make sure that the reagent is put back in the refrigerator immediately after use.

USE OF THE REAGENT

- Open the ampule of reagent as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions" (ampule with dropper-cap).
- Before using each ampule of reagent, it is recommended to perform a quality control test with **the strain ATCC® 33090™** indicated in the Quality Control paragraph, in order to eliminate any defective reagents.
- Dispense one drop of reagent.
- Carefully close the bottle after use and store it as indicated in the paragraph "Storage conditions".

SPECIMENS

API® Listeria is not for use directly with clinical or other specimens.

The microorganisms to be identified must first be isolated on a suitable culture medium according to standard microbiological techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE

Selection of the colonies

- Check that the strain belongs to the genus *Listeria* (short Gram-positive rods which are polymorphic, motile at 25°C but not at 37°C, catalase-positive and oxidase-negative).
- As specimens often contain a mixture of several types of *Listeria*, it is preferable to make a subculture on blood agar using a well-isolated colony. Incubate the plate for 24 hours at 36°C ± 2°C.

NOTE : The following media may be used to take colony samples before using the API Listeria strip :

- non-selective blood agar media with a Columbia or TSA base and with or without antibiotics ;
- selective media for *Listeria*, excluding the McBride medium which inhibits the enzymatic manifestation of bacteria on the API® Listeria strip. If this medium is used for isolation purposes, make a subculture on blood agar.

Preparation of the strip

- Prepare the incubation box (tray and lid) and distribute about 3 ml of distilled water or demineralized water [or any water without additives or chemicals which may release gases (e.g. Cl₂, CO₂, etc.)] into the honeycombed wells of the tray to create a humid atmosphere.
- Record the strain reference on the elongated flap of the tray. (Do not record the reference on the lid as it may be misplaced during the procedure).
- Remove the strip from its individual packaging.
- Place the strip in the incubation box.
- Discard the desiccant.

Preparation of the inoculum

- Open an ampule of API® Suspension Medium (2 ml) as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions" (ampule with no dropper-cap).
- Using a pipette or PSlipette, pick up a few well-isolated colonies. It is recommended to use young cultures (18-24 hours old).
- Prepare a suspension with a turbidity equivalent to **1 McFarland**. This suspension must be used immediately after preparation.
- Observe the type of hemolysis and record it on the result sheet. This qualifies as an additional test.

Inoculation of the strip

- Distribute the bacterial suspension into each tube, avoiding the formation of bubbles (tilt the strip slightly forward and place the tip of the pipette or PSlpette against the side of the cupule) :
 - Fill tube and cupule of the [DIM] test (about 100 µl), **avoiding the formation of a convex meniscus**.
 - Only fill the tube part of tests ESC to TAG (about 50 µl).

NOTE : The quality of the filling is very important : tubes which are insufficiently or excessively full may cause false positive or false negative results.

- Close the incubation box.
- Incubate for 18-24 hours at 36°C ± 2°C in aerobic conditions.

READING AND INTERPRETATION

Reading the strip

- Add a drop of ZYM B reagent to the [DIM] test.
- Read all the reactions within 3 minutes by referring to the Reading Table in this package insert.
- Record whether the reactions are positive or negative (+/-) on the result sheet.
- Also record the type of hemolysis on the result sheet. The result of this test is not taken into account for interpretation of the strip.

Interpretation

Identification is obtained with the **numerical profile**.

- Determination of the numerical profile :

On the result sheet, the tests are separated into groups of three and a value 1, 2 or 4 is assigned to each. By adding together the values corresponding to positive reactions within each group, a 4-digit numerical profile is obtained which constitutes the numerical profile.

- Identification :

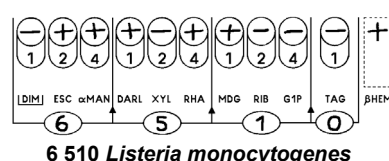
This is performed using the database (V1.2)

* with the numerical profile :

- Look up the profile in the list in this package insert ; this list is not exhaustive, so if the profile is missing, please consult the software program indicated below or the bioMérieux Technical Assistance service.

* with the **apiweb™** identification software:

- Enter the 4-digit numerical profile manually via the keyboard.



QUALITY CONTROL

The media, strips and reagents are systematically controlled at various stages of their manufacture.

Streamlined quality control may be used to confirm acceptable performance of the API® LISTERIA system after shipping/storage. This methodology may be performed by following the instructions above for testing and meeting the criteria stated in CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Testing may be conducted using *Listeria innocua* ATCC® 33090™ to evaluate the performance of the DIM and XYL tests. Testing performed by bioMérieux has shown that the DIM and XYL tests are the most labile on the API® LISTERIA strip. When testing the strip, *Listeria innocua* ATCC® 33090™ can be used to detect degradation.

For those users who are required to perform **comprehensive quality control** testing with the strip, the following three strains should be tested to demonstrate positive and negative reactivity for most of the API® LISTERIA tests.

1. *Listeria innocua* ATCC® 33090™
2. *Listeria ivanovii* ATCC® BAA-139™
3. *Listeria monocytogenes* ATCC® 19115™

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	[DIM]	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Occasionally (-).

Profiles obtained after culture on Columbia sheep blood agar.

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- The API® Listeria system is intended uniquely for the identification of bacteria belonging to the genus *Listeria* included in the database (see Identification Table at the end of this package insert). It cannot be used to identify any other microorganisms or to exclude their presence.
- Only pure cultures of a single organism should be used.

RANGE OF EXPECTED RESULTS

Consult the Identification Table at the end of this package insert for the range of expected results for the various biochemical reactions.

PERFORMANCE

643 collection strains and strains of various origins belonging to species included in the database were tested :

- 98.91 % of the strains were correctly identified (with or without supplementary tests).
- 0.62 % of the strains were not identified.
- 0.47 % of the strains were misidentified.

WASTE DISPOSAL

Dispose of unused ZYM B reagent following procedures for hazardous chemical waste.

Dispose of all used or unused reagents (other than the ZYM B reagent) as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

READING TABLE

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup.)	REACTIONS	RESULTS	
				NEGATIVE	POSITIVE
DIM	Enzymatic substrate	0.106	Differentiation <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	<u>ZYM B / < 3 min</u>	
				pale orange pink beige grey beige	orange
ESC	Esculin Ferric citrate	0.16 0.024	hydrolysis (ESCulin)	pale yellow	black
αMAN	4-nitrophenyl-αD-mannopyranoside	0.045	α-MANnosidase	colorless	yellow
DARL	D-ArabitOL	0.4	acidification (D-ARabitOL)	red / orange-red	yellow / yellow-orange
XYL	D-Xylose	0.4	acidification (XYLose)		
RHA	L-Rhamnose	0.4	acidification (RHAmnose)		
MDG	Methyl-αD-glucopyranoside	0.4	acidification (Methyl-αD-Glucopyranoside)		
RIB	D-Ribose	0.4	acidification (RIBose)		
G1P	Glucose-1-Phosphate	0.4	acidification (Glucose-1-Phosphate)		
TAG	D-Tagatose	0.4	acidification (TAGatose)		

- The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.
- Certain cupules contain products of animal origin, notably peptones.

PROCEDURE	p. I
LIST OF NUMERICAL PROFILES	p. II
IDENTIFICATION TABLE	p. II
LITERATURE REFERENCES	p. III
INDEX OF SYMBOLS	p. IV

REVISION HISTORY

Change type categories

N/A	Not applicable (First publication)
Correction	Correction of documentation anomalies
Technical change	Addition, revision and/or removal of information related to the product
Administrative	Implementation of non-technical changes noticeable to the user
Note:	<i>Minor typographical, grammar, and formatting changes are not included in the revision history</i>

Release date	Part Number	Change Type	Change Summary
2015/03	07887Q	Administrative	REVISION HISTORY CONTENT OF THE KIT, SPECIMENS, INDEX OF SYMBOLS
		Technical	COMPOSITION, WARNINGS AND PRECAUTIONS

BIOMERIEUX, the blue logo, API and **apiweb** are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux, or one of its subsidiaries, or one of its companies.

CLSI is a trademark belonging to Clinical Laboratory and Standards Institute Inc.

The ATCC trademark and trade name and any and all ATCC catalog numbers are trademarks of the American Type Culture Collection.

Any other name or trademark is the property of its respective owner.



bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



System zur Identifizierung von *Listeria*

EINFÜHRUNG UND TESTERKLÄRUNG

API® Listeria ist ein standardisiertes System zur Identifizierung von *Listeria* anhand von miniaturisierten Reaktionen und einer Datenbasis. Die komplette Liste der mit dem System zu identifizierenden Mikroorganismen finden Sie in der Prozenttabelle am Ende der Arbeitsanleitung.

PRINZIP

Der API® Listeria Streifen besteht aus 10 Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate zum Nachweis von Enzymaktivität oder Kohlenhydratfermentation enthalten. Die Stoffwechselprodukte, die während der Inkubation entstehen, bewirken Farbumschläge, entweder direkt oder nach Zugabe der Reagenzien. Die Ablesung der Reaktionen erfolgt anhand der Ablesetabelle, die Identifizierung mit der Profilliste der Arbeitsanleitung oder einer Identifizierungssoftware.

PACKUNGSGRÖSSE (für 10 Tests):

- 10 API® Listeria Streifen (STR)
- 10 Ampullen API® Suspension Medium, 2 ml (MED)
- 1 Ampulle ZYM B Reagenz (ZYM B)
- 10 Inkubationswannen (INCUB)
- 10 Ergebnisblätter (SHEET)
- 1 Arbeitsanleitung, im Kit enthalten oder als Download verfügbar unter www.biomerieux.com/techlib

ZUSAMMENSETZUNG

Streifen

Die Zusammensetzung des API® Listeria Streifens finden Sie in der Ablesetabelle dieser Arbeitsanleitung.

Medium

MED (API® Suspension Medium) 2 ml	Demineralisiertes Wasser
---	--------------------------

Reagenz

ZYM B Reagenz * 8 ml	Fast Blue BB (aktive Substanz)	0,12 g
	Methanol	40 ml
	Dimethylsulfoxid (DMSO)	60 ml

Die angegebenen Mengen können je nach Konzentration der verwendeten Ausgangsmaterialien angeglichen werden.

* Signalwort: **GEFAHR**



Gefahrenhinweis

- H226** : Flüssigkeit und Dampf entzündbar.
- H302** : Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
- H311** : Giftig bei Hautkontakt.
- H315** : Verursacht Hautreizungen.
- H319** : Verursacht schwere Augenreizung.
- H331** : Giftig bei Einatmen.
- H335** : Kann die Atemwege reizen.
- H370** : Schädigt die Organe.

Sicherheitshinweis

P210 : Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen.

P280 :

Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

P301 + P312 : BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.

P302 + P352 : BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser waschen.

P304 + P340 : BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.

P305 + P351 + P338 : BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

Weitere Informationen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Reagenzien

- McFarland Standard 1 (Best.Nr. 70 900)
- Identifizierungssoftware **apiweb**™ (Best.Nr. 40 011) (bei bioMérieux anfragen)

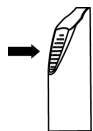
Materialien

- Pipetten oder PSIpipetten
- Schutzhülle für Ampullen
- Ampullenständer
- Allgemeine mikrobiologische Laborausrüstung

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Für die *in vitro* Diagnostik und die mikrobiologische Kontrolle.
- Nur für die Verwendung durch Fachkundige bestimmt.
- Beachten Sie die oben genannten Gefahrenhinweise "H" und die Sicherheitshinweise "P".
- Dieser Kit enthält Bestandteile tierischen Ursprungs. Da durch die Kontrolle der Herkunft und/oder des Gesundheitszustandes der Tiere nicht völlig gewährleistet werden kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten, ist es empfehlenswert, diese als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln (nicht einnehmen, nicht einatmen).
- Alle Proben, mikrobielle Kulturen und beimpfte Produkte müssen als potenziell infektiös betrachtet und unter Beachtung geeigneter Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß behandelt werden. Während der gesamten Testdurchführung müssen aseptische Arbeitsbedingungen und entsprechende Vorsichtsmaßnahmen für die zu untersuchende Keimgruppe eingehalten werden, siehe "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Current revision". Weitere diesbezügliche Informationen finden Sie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – Latest edition" oder in den jeweils gültigen nationalen Richtlinien.
- Die Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

- Vergewissern Sie sich vor Gebrauch, dass die Verpackung und die verschiedenen Bestandteile nicht beschädigt sind.
- Streifen mit äußeren Anzeichen einer Beschädigung (deformierte Vertiefungen, geöffnete Trockenmittelbeutel etc.) nicht verwenden.
- Die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.
- Öffnen Sie die Ampullen wie folgt vorsichtig:



- Stecken Sie die Ampulle in die Schutzhülle der Ampulle.
- Halten Sie die Ampulle in der Schutzhülle senkrecht (weiße Verschlusskappe nach oben).
- Pressen Sie die Verschlusskappe so weit wie möglich nach unten.
- Drücken Sie mit dem Daumen gegen den gestrichelten Bereich der Verschlusskappe, bis die Ampullenspitze abbricht.
- Nehmen Sie die Ampulle aus der Schutzhülle und bewahren Sie die Schutzhülle für einen späteren Gebrauch auf.

* *Ampulle ohne Tropfpipette:*

- Entfernen Sie vorsichtig die Verschlusskappe.

* *Ampulle mit Tropfpipette:*

- Drehen Sie die Ampulle um, und halten Sie sie senkrecht.
- Drücken Sie seitlich auf die Verschlusskappe, so dass das gesamte Reagenz in die Tropfflasche läuft.

ANMERKUNG: Für einen späteren Gebrauch des Reagenzes ist es empfehlenswert, vor dem Umdrehen seitlich auf die Plastikcappe zu drücken, um überschüssige Reagenztropfen zu aspirieren und auf diese Weise zu verhindern, dass überschüssiges Reagenz ausläuft.

- Die angegebene Performance wurde gemäß dem Verfahren der vorliegenden Arbeitsanleitung ermittelt. Jede Abweichung von diesem Verfahren kann die Ergebnisse beeinflussen.
- Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen der klinische Hintergrund oder andere Zusammenhänge, die Probenherkunft, Kolonie- und mikroskopische Morphologie des Stammes sowie gegebenenfalls die Ergebnisse anderer Test, insbesondere das Antibiogramm, berücksichtigt werden.

LAGERUNGSBEDINGUNGEN

Streifen STR:

Die Streifen sind bei 2-8°C bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Medien MED:

Die Medien sind bei 2-30°C bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Reagenz:

Das Reagenz muss bei 2-8°C unter Lichtausschluss gelagert werden und ist bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Nach dem Öffnen der Ampullen und Überführung des Reagenzes in das Tropffläschchen kann das Reagenz 1 Monat (oder bis zum angegebenen Verfallsdatum, wenn dieses kürzer ist) aufbewahrt werden: **Notieren Sie das Datum, an dem die Ampullen geöffnet wurden, auf dem Etikett des Fläschchens.**

Das ZYM B Reagenz ist sehr lichtempfindlich: Prüfen Sie das Aussehen der Reagenzien, bevor Sie sie in das Tropffläschchen überführen.

ZYM B hat normalerweise eine gelbliche bis bernsteinartige Färbung. Verwerfen Sie das Reagenz, sobald sich eine rosa Verfärbung (Verfallsanzeichen) zeigt. Wenn das Reagenz zu lange dem Licht (ca. 1 h) ausgesetzt ist, wird es abgebaut.

Achten Sie darauf, dass das Fläschchen nach Gebrauch sofort wieder in den Kühlschrank gestellt wird.

GEBRAUCH DES REAGENZES

- Öffnen Sie die Reagenzienampulle wie im Abschnitt „Vorsichtsmaßnahmen“ beschrieben (Ampulle mit Tropfpipette).
- Es ist empfehlenswert, für jede Reagenzienampulle vor dem ersten Gebrauch eine Qualitätskontrolle mit dem im Abschnitt Qualitätskontrolle genannten **ATCC® Stamm 33090™** durchzuführen, um jegliches unbrauchbares Reagenz auszuschließen.
- Geben Sie einen Tropfen Reagenz ab.
- Verschließen Sie das Fläschchen nach Gebrauch wieder gut und lagern Sie es wie im Abschnitt „Lagerungsbedingungen“ beschrieben.

PROBEN

API® Listeria darf nicht zur direkten Testung von klinischen oder anderen Untersuchungsmaterialien verwendet werden.

Die zu identifizierenden Mikroorganismen müssen zuerst gemäß den üblichen mikrobiologischen Verfahren auf einem geeigneten Kulturmedium isoliert werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Auswahl der Kolonien

- Prüfen Sie, ob der zu untersuchende Stamm zum Genus *Listeria* gehört (kurze, grampositive, polymorphe Stäbchen, bei 25°C beweglich, bei 37°C jedoch unbeweglich, Katalase positiv und Oxidase negativ).
- Da die Proben oft eine Mischung aus mehreren *Listeria* Spezies enthalten, ist es empfehlenswert, zunächst eine Subkultur auf Blutagar anzulegen (Einzelkolonie). Inkubieren Sie für 24 h bei 36°C ± 2°C.

ANMERKUNG: Folgende Medien können zur Subkultivierung der Keime, die im API® Listeria Streifen getestet werden sollen, verwendet werden:

- Nicht selektive Blutagarmedien auf der Basis von Columbia- oder Trypcase-Soja, mit oder ohne Antibiotika;
- Selektivmedien für *Listeria* außer McBride-Medium, das die enzymatische Aktivität der Bakterien im API® Listeria Streifen hemmt. Wenn dieses Medium für die Isolierung benutzt wird, legen Sie bitte eine Subkultur auf Blutagar an.

Vorbereitung des Streifens

- Stellen Sie eine Inkubationswanne mit Deckel bereit und geben Sie zur Herstellung einer feuchten Kammer ca. 3 ml destilliertes oder demineralisiertes Wasser [oder anderes Wasser ohne Zusätze bzw. Derivate, die Gase freisetzen können (z.B. Cl₂, CO₂...)] in die Wanne.

- Notieren Sie die Referenznummer des Stammes auf dem dafür vorgesehenen seitlichen Abschnitt der Inkubationswanne. (Die Referenznummer nicht auf dem Deckel notieren, da er während des Arbeitsablaufes verwechselt werden oder abhanden kommen kann).
- Nehmen Sie den Streifen aus der Verpackung.
- Legen Sie den Streifen in die Wanne.
- Verwerfen Sie das Trockenmittel.

Vorbereitung des Inokulums

- Öffnen Sie eine Ampulle API® Suspension Medium (2 ml) wie im Abschnitt „Vorsichtsmaßnahmen“ (Ampulle ohne Tropfpipette) beschrieben.
- Nehmen Sie mit einer Pipette oder PSlpette einige Einzelkolonien vom Agar ab. Verwenden Sie vorzugsweise junge Kulturen (18-24 h).
- Stellen Sie eine Keimsuspension entsprechend dem Trübungsstandard **McFarland 1** her. Diese Suspension muss sofort verwendet werden.
- Notieren Sie die Art der Hämolyse auf dem Ergebnisblatt; die Hämolyse hat den Charakter eines Zusatztests.

Beimpfung des Streifens

- Pipettieren Sie die Keimsuspension in die Mikroröhrchen des Streifens. Um Blasenbildung am Boden der Röhrchen zu vermeiden, halten Sie die Inkubationswanne leicht schräg und legen Sie die Pipette oder PSlpette am Rand des Bechers auf:
 - Füllen Sie für den **DIM** Test Röhrchen und Becher (ca. 100 µl). **Achten Sie darauf, dass sich kein konvexer Meniskus bildet.**
 - Füllen Sie für die Tests ESC bis TAG nur die Röhrchen (ca. 50 µl).

ANMERKUNG: Ein korrektes Befüllen ist sehr wichtig. Ungenügend oder zu stark gefüllte Röhrchen können zu falsch positiven oder negativen Ergebnissen führen.

- Decken Sie die Inkubationswanne ab.
- Inkubieren Sie für 18 bis 24 h bei 36°C ± 2°C in aerober Atmosphäre.

ABLESUNG UND INTERPRETATION

Ablesung des Streifens

- Geben Sie 1 Tropfen ZYM B Reagenz in den **DIM** Test.
- Lesen Sie innerhalb 3 min alle Reaktionen mit der Ablesetabelle der Arbeitsanleitung ab.
- Notieren Sie die Reaktionen in Form von + oder – auf dem Ergebnisblatt.
- Notieren Sie außerdem die Hämolyseart. Das Ergebnis dieses Tests wird bei der Interpretation des Streifens nicht berücksichtigt.

Interpretation

Die Identifizierung erhält man anhand des **numerischen Profils**.

- Erstellung des numerischen Profils:

Die biochemischen Reaktionen auf dem Ergebnisblatt sind in 3-er Gruppen eingeteilt. Jede positive Reaktion erhält den Wert 1, 2 oder 4 je nach Position des Tests innerhalb der Gruppe (1., 2. oder 3. Test). Die Zahlenwerte jeder Gruppe werden addiert (negative Reaktion = 0), so erhält man 4 Ziffern, welche das numerische Profil ergeben.

- Identifizierung:

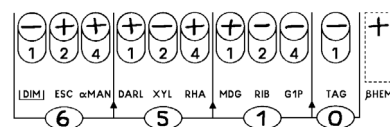
Die Identifizierung erfolgt anhand der Datenbasis (V 1.2)

- * mit dem numerischen Profil:

- Schlagen Sie das Profil in der Profilliste der Arbeitsanleitung nach. Diese Liste erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Wenn Sie das gesuchte Profil nicht finden, geben Sie es bitte in das unten angegebene Softwareprogramm ein oder wenden Sie sich an unseren wissenschaftlichen Kundendienst.

- * mit der Identifizierungssoftware **apiweb™**:

- Geben Sie das 4-stellige numerische Profil über die Tastatur ein.



6 510 Listeria monocytogenes

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Medien, Streifen und Reagenzien unterliegen in den verschiedenen Stadien der Produktion systematisch durchgeführten Qualitätskontrollen.

Es kann eine rationalisierte Qualitätskontrolle durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass die Leistungsdaten des API® LISTERIA Systems durch die Lagerung und den Transport nicht beeinflusst wurden. Diese Kontrolle kann durchgeführt werden, indem die oben genannten Testanweisungen befolgt und die in der Norm CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems genannten Kriterien eingehalten werden.

Um die Leistung der DIM und XYL Tests zu überprüfen, kann die Testung mit dem **Listeria innocua ATCC® 33090™** Stamm durchgeführt werden. Die von bioMérieux durchgeführten Tests haben gezeigt, dass die DIM und XYL Tests die empfindlichsten Tests auf dem API® LISTERIA Streifen sind. Durch die Testung von *Listeria innocua* ATCC 33090 kann eine Qualitätsminderung des Streifens nachgewiesen werden.

Für eine **umfassende Qualitätskontrolle** des Teststreifens müssen die folgenden drei Stämme getestet werden, um die positiven und negativen Reaktionen für die Mehrzahl der Tests des API® LISTERIA Streifens zu kontrollieren.

1. *Listeria innocua* ATCC® 33090™
2. *Listeria ivanovii* ATCC® BAA-139™
3. *Listeria monocytogenes* ATCC 19115™

ATCC®: American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	DIM	ESC	α MAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Ergebnis kann manchmal als (-) abgelesen werden.

Profile nach Anzucht auf Columbia-Agar mit Schafblut.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Qualitätskontrolle in Übereinstimmung mit den jeweils gültigen Vorschriften durchzuführen.

LIMITIERUNGEN

- Das API® Listeria System dient nur zur Identifizierung der in der Datenbasis enthaltenen Keime der Gattung *Listeria* (siehe Prozenttabelle am Ende der Arbeitsanleitung). Andere Mikroorganismen können weder identifiziert noch ausgeschlossen werden.
- Es dürfen nur Reinkulturen verwendet werden.

ERWARTETE ERGEBNISSE

Die erwarteten Ergebnisse der verschiedenen biochemischen Reaktionen entnehmen Sie der Prozenttabelle am Ende dieser Arbeitsanleitung.

PERFORMANCE

643 Stämme unterschiedlicher Herkunft und Stämme aus Stammsammlungen, die zu den Spezies der Datenbasis gehören, wurden getestet:

- 98,91% der Stämme wurden korrekt identifiziert (mit oder ohne Zusatztests).
- 0,62% der Stämme wurden nicht identifiziert.
- 0,47% der Stämme wurden falsch identifiziert.

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE

Entsorgen Sie nicht gebrauchtes ZYM B Reagenz gemäß den Vorschriften für gefährliche chemische Abfälle.

Entsorgen Sie alle gebrauchten oder nicht gebrauchten Reagenzien (bis auf ZYM B Reagenz) sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Materialien geltenden Bestimmungen.

Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die entstandenen Abfälle und Abwässer gemäß der jeweiligen Risikogruppe zu behandeln und deren Entsorgung in Übereinstimmung mit den gültigen gesetzlichen Bestimmungen sicherzustellen.

ABLESETABELLE

TESTS	AKTIVE BESTANDTEILE	MENGE (mg/Vert.)	REAKTIONEN	ERGEBNISSE	
				NEGATIV	POSITIV
DIM	Enzymsubstrat	0,106	Differenzierung <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	ZYM B / < 3 min	
				hellorange beige-rosa grau beige	orange
ESC	Esculin Eisencitrat	0,16 0,024	Hydrolyse (ESCulin)	hellgelb	schwarz
α MAN	4-Nitrophenyl- α D-mannopyranosid	0,045	α -MANnosidase	farblos	gelb
DARL	D-Arabit	0,4	Säurebildung (D-ARabitol)	rot / rot orange	gelb / gelb orange
XYL	D-Xylose	0,4	Säurebildung (XYLose)		
RHA	L-Rhamnose	0,4	Säurebildung (RHAmnose)		
MDG	Methyl- α D-Glukopyranosid	0,4	Säurebildung (Methyl- α D-Glukopyranosid)		
RIB	D-Ribose	0,4	Säurebildung (RIBose)		
G1P	Glukose-1-Phosphat	0,4	Säurebildung (Glukose-1-Phosphat)		
TAG	D-Tagatose	0,4	Säurebildung (TAGatose)		

- Die angegebenen Mengen können je nach Konzentration der verwendeten Ausgangsmaterialien angeglichen werden.
- Einige Näpfcchen enthalten Bestandteile tierischen Ursprungs, vor allem Peptone.

METHODIK	S. I
PROFILLISTE	S. II
PROZENTTABELLE	S. II
LITERATUR	S. III
SYMBOLE	S. IV

ÄNDERUNGSVERLAUFArt der Änderung :

N/A	Nicht anwendbar (Erste Veröffentlichung)
Korrektur	Korrektur von Fehlern im Dokument
Technische Änderung	Ergänzung, Überarbeitung und/oder Entfernung von produktspezifischer Information
Administrative Änderung	Einfügung von nicht technischen Änderungen, über die der Anwender informiert werden soll.

Anmerkung: *Kleinere Schreib-, Grammatik- und Formatierungsänderungen sind nicht im Änderungsverlauf enthalten.*

Freigabe-Datum	Referenz-nummer	Art der Änderung	Zusammenfassung der Änderung
2015/03	07887Q	Administrative Änderung	PACKUNGSGRÖSSE, PROBEN, SYMBOLE, ÄNDERUNGSVERLAUF
		Technische Änderung	ZUSAMMENSETZUNG PROBEN VORSICHTSMASSNAHMEN


BIOMERIEUX, das blaue Logo, API und **apiweb** sind verwendete, angemeldete und/oder eingetragene Marken von bioMérieux, einer ihrer Niederlassungen oder eines ihrer Unternehmen.

CLSI ist eine Marke von Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Die Marke ATCC, die Bezeichnung ATCC sowie alle ATCC Katalognummern sind Marken der American Type Culture Collection.

Alle anderen Marken und Produktnamen sind Eigentum ihrer jeweiligen Besitzer.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



Sistema de identificación de *Listeria***INTRODUCCIÓN Y OBJETO DEL ENSAYO**

La galería API® Listeria es un sistema estandarizado para la identificación de *Listeria* que utiliza ensayos miniaturizados, así como una base de datos específica. La lista completa de las bacterias que pueden identificarse utilizando este sistema está indicada en la Tabla de Identificación incluida al final de esta ficha técnica.

PRINCIPIO

La galería API® Listeria consta de 10 microtubos que contienen substratos deshidratados, y permiten la realización de ensayos enzimáticos o de fermentación de azúcares.

Las reacciones que se producen durante la incubación se traducen en cambios de color, bien espontáneos o bien provocados mediante la adición de reactivos.

La lectura de estas reacciones se realiza con la ayuda de la Tabla de Identificación, y la interpretación se realiza tras consultar la lista de perfiles de la ficha técnica o con la ayuda de un software de identificación.

PRESENTACIÓN (kit de 10 ensayos):

- 10 galerías API® Listeria (STR)
- 10 ampollas de API® Suspension Medium 2 ml (MED)
- 1 ampolla de reactivo ZYM B (ZYM B)
- 10 cámaras de incubación (INCUB)
- 10 hojas de resultados (SHEET)
- 1 Ficha técnica suministrada en el equipo o a descargar en www.biomerieux.com/techlib.

COMPOSICIÓN**Galería**

La composición de la galería API® Listeria puede verse en la Tabla de Identificación de la presente ficha técnica.

Medio

MED (API® Suspension Medium) 2 ml	Agua desmineralizada
--	----------------------

Reactivo

Reactivo ZYM B * 8 ml	Fast Blue BB (matière active) 0,12 g Méthanol 40 ml Diméthylsulfoxide (DMSO) 60 ml
---	--

Las cantidades indicadas pueden ajustarse en función de los títulos de las materias primas.

* Palabra de advertencia: **PELIGRO**

**Indicación de peligro**

H226 : Líquidos y vapores inflamables.

H302 : Nocivo en caso de ingestión.

H311 : Tóxico en contacto con la piel.

H315 : Provoca irritación cutánea.

H319 : Provoca irritación ocular grave.

H331 : Tóxico en caso de inhalación.

H335 : Puede irritar las vías respiratorias.

H370 : Provoca daños en los órganos.

Consejo de prudencia

P210 : Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.

P280 : Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P301 + P312 : EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico si la persona se encuentra mal.

P302 + P352 : EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua.

P304 + P340 : EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.

P305 + P351 + P338 : EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Para más información, consulte la ficha de seguridad.

REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS**Reactivos**

- McFarland Standard (ref. 70 900), punto 1
- Programa de identificación **apiweb**™ (Réf. 40 011)

Material

- Pipetas o PSlpettes
- Protege-ampollas
- Gradillas para ampollas
- Equipo general de laboratorio de bacteriología

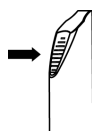
PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Para diagnóstico *in vitro* y control microbiológico.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- Referirse a las indicaciones de peligro "H" y a las medidas de precaución "P" indicadas anteriormente.
- Este producto contiene compuestos de origen animal. La falta de control sobre el origen y/o el estado sanitario de los animales, no nos permite garantizar de forma absoluta que estos productos no contengan algún agente patógeno transmisible, por lo que se recomienda manipularlos mediante las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos: (no ingerir, ni inhalar).
- Todas las muestras, cultivos bacterianos y productos inoculados deben ser considerados como potencialmente infecciosos y ser manipulados de manera apropiada.

Durante toda la manipulación deben respetarse las normas de asepsia y las precauciones habituales de manipulación para el grupo bacteriano estudiado; consultar: "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Revisión en vigor". Para información complementaria sobre las precauciones de manipulación, consultar: "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* - CDC/NIH - última edición" o la reglamentación vigente en el país de utilización.

- No emplear los reactivos después de su fecha de caducidad.
- Antes de su utilización, verificar la integridad del envase y de sus componentes.
- No utilizar galerías que hayan sufrido una alteración física: cúpula deformada, bolsa de deshidratante abierta ...
- Antes de su utilización, permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente.

- Abrir las ampollas con delicadeza del modo siguiente:
 - Introducir la ampolla en el protege-ampolla.
 - Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
 - Presionar a fondo el tapón.
 - Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
 - Retirar la ampolla del protege-ampolla y conservarlo para un próximo uso.



* *Ampolla sin tapón cuentagotas :*

- Retirar delicadamente el tapón.

* *Ampolla con tapón cuentagotas :*

- Invertir la ampolla y mantenerla en posición vertical.
- Aplicar una presión lateral sobre el tapón para transferir la totalidad del reactivo al frasco cuentagotas.

NOTA : Para usar posteriormente, se recomienda apretar en el tapón antes de invertir la ampolla con el fin de aspirar todo resto de reactivo y evitar que se derrame por el exterior del tapón.

- Los resultados deben obtenerse siguiendo la metodología indicada en la presente ficha técnica. Toda desviación de la metodología puede alterar la calidad de los mismos.
- La interpretación de los resultados del test debe ser realizada teniendo en cuenta un contexto clínico o de otro tipo, el origen de las muestras, los aspectos macro y microscópicos de la cepa y, eventualmente, los resultados de otros tests, particularmente del antibiograma.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Galerías STR:

Las galerías se conservan a 2-8°C hasta la fecha límite de utilización indicada en el envase.

Medios MED:

Los medios se conservan a 2-30°C hasta la fecha límite de utilización indicada en el envase.

Reactivo :

Los reactivos deben conservarse en la oscuridad a 2-8°C hasta la fecha límite de utilización indicada en el envase.

Tras la apertura de las ampollas y transferir los reactivos a los frascos cuentagotas, los reactivos pueden conservarse un mes (o hasta la fecha límite de su utilización si ésta fuera anterior): **anotar la fecha de apertura sobre la etiqueta de los frascos.**

El reactivo ZYM B es muy sensible a la luz: verificar el aspecto del reactivo antes de transferirlo al cuenta-gotas.

El reactivo ZYM B presenta en su estado normal una coloración amarilla a ámbar. Eliminar el reactivo si se observa una coloración rosa (síntoma de alteración). Una exposición corta a la luz del laboratorio (Alrededor de 1 hora) entraña una degradación del reactivo.

Comprobar que el reactivo se guarda en nevera inmediatamente después de su utilización.

UTILIZACIÓN DEL REACTIVO

- Abrir la ampolla de reactivo según se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" (ampolla con tapón cuentagotas).
- Antes de utilizar cada ampolla de reactivo, se recomienda realizar una prueba de control de calidad con la cepa **ATCC® 33090™** indicada en el párrafo Control de Calidad, con el fin de eliminar cualquier reactivo defectuoso.
- Dispensar una gota de reactivo.
- Volver a cerrar bien el frasco después de su uso y conservar según se indica en el párrafo "Condiciones de almacenamiento".

MUESTRAS

La galería API® Listeria no debe ser utilizada directamente a partir de muestras de origen clínico o de otro tipo.

En una primera fase, los microorganismos a identificar deben aislarse sobre un medio de cultivo apropiado siguiendo las técnicas usuales en bacteriología.

MODO OPERATIVO

Selección de las colonias

- Verificar que la cepa a estudiar pertenezca al género *Listeria* (bacilos cortos, Gram-positivos, polimorfos, móviles a 25°C pero no a 37°C, catalasa positivos y oxidasa negativos).
- Dado que las muestras contienen con frecuencia una mezcla de varias especies de *Listeria*, resulta preferible realizar un subcultivo sobre agar con sangre a partir de una colonia bien aislada. Incubar la placa 24 horas a 36°C ± 2°C.

NOTA : Se pueden usar los siguientes medios para aislar las colonias antes del empleo de la galería API® Listeria :

- medios a base de agar con sangre no selectivos, tipo Columbia o TSA, con o sin antibióticos ;
- medios selectivos para *Listeria* con excepción del medio McBride que inhibe la expresión enzimática de bacterias sobre la galería API® Listeria. Si se emplease este medio para el aislamiento, realizar un subcultivo sobre agar con sangre.

Preparación de la galería

- Reunir fondo y tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 3 ml de agua destilada o desmineralizada [o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles a liberar gases (Ej. Cl₂, CO₂ ...)] en los alvéolos del fondo para crear una atmósfera húmeda.
- Escribir la referencia de las muestras o cepas en la lengüeta lateral de la cámara. (No escribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar extraviada durante la manipulación).
- Sacar una galería de su envase individual.
- Colocar la galería en la cámara de incubación.
- Tirar la bolsita antihumedad.

Preparación del inóculo

- Abrir una ampolla de API® Suspension Medium (2 ml) como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" (ampolla sin tapón cuentagotas).
- Con la ayuda de una pipeta o PSipette, coger colonias bien aisladas. Se recomienda utilizar cultivos jóvenes (18-24 horas).
- Realizar una suspensión de turbidez igual a **1 de McFarland**. Esta suspensión debe ser utilizada de inmediato.
- Observar el tipo de hemólisis y anotarlo en la hoja de resultados, ya que esta característica constituye un ensayo adicional.

Inoculación de la galería

- Repartir la suspensión bacteriana precedente en los tubos, evitando la formación de burbujas (para ello, inclinar la cámara de incubación hacia delante y colocar la pipeta o la PSipette en un lado de la cúpula):
 - Llenar el tubo y la cúpula del ensayo **[DIM]** (100 µl aprox.), **cuidando que no se produzca un menisco convexo**.
 - Llenar solamente la parte del tubo de los ensayos ESC a TAG (50 µl aprox.).

NOTA: La calidad de llenado es muy importante: los tubos excesiva o insuficientemente llenos originan de resultados falsos positivos o negativos.

- Cerrar la cámara de incubación.
- Incubar de 18-24 horas a 36°C ± 2°C en atmósfera aerobia.

CONTROL DE CALIDAD

Los medios, galerías y reactivos son objeto de controles de calidad sistemáticos durante las diferentes etapas de su fabricación.

El Control de Calidad Mínimo, puede ser utilizado para verificar que las condiciones de almacenamiento y transporte no han tenido impacto sobre las prestaciones de la galería API® LISTERIA. Este control puede realizarse siguiendo las instrucciones y criterios esperados que aparecen más abajo, junto con CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

El control puede realizarse utilizando la cepa **Listeria innocua ATCC® 33090™** para evaluar las prestaciones de las pruebas DIM y XYL. En efecto, estudios realizados por bioMérieux han mostrado que en la galería API® LISTERIA, las pruebas DIM y XYL son pruebas más sensibles. Por consecuencia, la integridad de la galería puede verificarse utilizando la cepa **Listeria innocua ATCC 33090**.

En el caso en el que se realice un **Control de Calidad Completo**, las tres cepas siguientes deberán probarse para verificar las reacciones positivas y negativas de la mayoría de las pruebas de la galería API® LISTERIA.

- | | | | |
|-----------------------------|----------------|----------------------------------|--------------|
| 1. <i>Listeria innocua</i> | ATCC® 33090™ | 3. <i>Listeria monocytogenes</i> | ATCC® 19115™ |
| 2. <i>Listeria ivanovii</i> | ATCC® BAA-139™ | | |

ATCC® : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

LECTURA E INTERPRETACIÓN

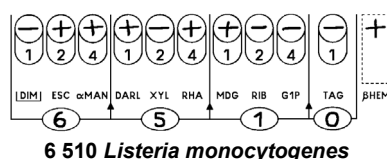
Lectura de la galería

- Agregar una gota de reactivo ZYM B al ensayo **[DIM]**.
- Pasados 3 minutos leer todas las reacciones haciendo referencia a la Tabla de Identificación de la ficha técnica.
- Anotar las reacciones de +/- en la hoja de resultados.
- Anotar igualmente el tipo de hemólisis. El resultado de este ensayo no se tiene en cuenta en la interpretación de la galería.

Interpretación

La identificación se obtiene a partir del **perfil numérico**.

- Determinación del perfil numérico:
En la hoja de resultados, los tests están separados en grupos de 3 y se asigna para cada uno un valor 1, 2 ó 4. Sumando en el inferior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen 4 cifras que constituye el perfil numérico.
- Identificación:
Se realiza a partir de la base de datos (V1.2)
 - * Con la ayuda del Perfil Numérico:
 - Localizar el perfil numérico en la lista de la ficha técnica; esta lista no es exhaustiva, en caso de un perfil inexistente, consultar en el programa informático citados o con la Asistencia Técnica de bioMérieux.
 - * Por medio del software de identificación **apiweb™**:
 - Introducir manualmente por teclado el perfil numérico de 4 cifras.



	DIM	ESC	α MAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Ocasionalmente (-).

Perfiles obtenidos después de cultivo sobre agar Columbia con sangre de carnero.

El usuario es responsable de asegurarse de que el control de calidad ha sido realizado conforme a la legislación local vigente.

LÍMITES DEL ENSAYO

- El sistema API® Listeria está destinado únicamente a la identificación de bacterias del género *Listeria* presentes en la base de datos (ver Tabla de Identificación al final de la presente ficha técnica), y sólo a ellas. No puede utilizarse para identificar otros microorganismos ni para excluir su presencia.
- Sólo se deben utilizar cultivos puros que contengan un sólo tipo de microorganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar la Tabla de Identificación que se incluye al final de esta ficha técnica para aclarar los resultados esperados en las diferentes reacciones bioquímicas.

PRESTACIONES

Han sido ensayadas 643 cepas de diversos orígenes, así como cepas de colección pertenecientes a especies de la base de datos:

- 98,91% de las cepas han sido identificadas correctamente (con o sin ensayos complementarios).
- 0,62% de las cepas no han sido identificadas.
- 0,47% de las cepas se han identificado incorrectamente.

ELIMINACION DE LOS DESECHOS

Eliminar el reactivo ZYM B no utilizado siguiendo los procedimientos relativos a los desechos químicos peligrosos.

Eliminar todos los reactivos utilizados o no utilizados (otro que el reactivo ZYM B) así como el material de un solo uso contaminado siguiendo los procedimientos relativos a los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Cada laboratorio es responsable de la gestión de los desechos y efluentes que produce, según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación según las reglamentaciones aplicables.

TABLA DE IDENTIFICACIÓN

TESTS	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp.)	REACCIONES	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
DIM	Substrato enzimático	0,106	Diferenciación <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	ZYM B / < 3 min.	
				naranja pálido rosa beige gris beige	naranja
ESC	Esculina Citrato férrico	0,16 0,024	hidrólisis (ESCulina)	amarillo pálido	negro
α MAN	4-nitrofenil- α D-manopiranosida	0,045	α -MANosidasa	incolore	amarillo
DARL	D-Arabitól	0,4	acidificación (D-ARabitol)	rojo / rojo anaranjado	amarillo/ amarillo anaranjado
XYL	D-Xilosa	0,4	acidificación (XiLosa)		
RHA	L-Rhamnosa	0,4	acidificación (RHAmnosa)		
MDG	Metil- α D-glucopiranosido	0,4	acidificación (Metil- α D-Glucopiranosido)		
RIB	D-Ribosa	0,4	acidificación (RIBosa)		
G1P	Glucosa-1-Fosfato	0,4	acidificación (Glucosa-1-Fosfato)		
TAG	D-Tagatosa	0,4	acidificación (TAGatosa)		

- Se pueden ajustar las cantidades indicadas en función de los títulos de las materias primas.
- Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, especialmente peptonas.

METODOLOGÍA	p. I
LISTA DE PERFILES NUMÉRICOS	p. II
TABLA DE IDENTIFICACIÓN	p. II
BIBLIOGRAFÍA	p. III
CUADRO DE SÍMBOLOS	p. IV

HISTÓRICO DE REVISIONESCategoría de tipo de cambio :

N/A	No aplica (primera modificación)
Corrección	Corrección de anomalías en la documentación
Cambio técnico	Adición, revisión y/o eliminación de información relativa al producto
Administrativo	Implementación de cambios no técnicos notables para el usuario.
Nota :	<i>Los cambios menores de errores tipográficos, gramaticales, y de formato no aparecen incluidos en el historial de revisiones.</i>

Fecha de publicación	Versión	Tipo de cambio	Resumen de cambios
2015/03	07887Q	Administrativo	PRESENTACIÓN, MUESTRAS, TABLA DE SÍMBOLOS, HISTÓRICO DE REVISIONES
		Cambio técnico	COMPOSICIÓN PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN


BIOMERIEUX, el logo azul,API, y **apiweb** son marcas utilizadas , depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux o a cada una de sus filiales, o a cada una de sus sociedades.

CLSI es una marca perteneciente Clinical and Laboratory Standards Institute.

La marca ATCC, la denominación ATCC y todas las referencias de catálogo ATCC son marcas de American Type Culture Collection.

Las otras marcas y nombres de productos mencionados son marcas comerciales de sus respectivos propietarios.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



Sistema di identificazione delle *Listeria*

INTRODUZIONE E OBIETTIVI DEL TEST

API® Listeria è un sistema standardizzato per l'identificazione delle varie specie di *Listeria* che utilizza test miniaturizzati insieme ad una base di dati specifica. La lista completa dei batteri che si possono identificare con questo sistema è presente nella Tabella di identificazione che si trova nella parte finale della scheda tecnica.

PRINCIPIO

La galleria API® Listeria è composta da 10 microprovette contenenti dei substrati disidratati, per la ricerca delle attività enzimatiche e fermentative degli zuccheri.

Le reazioni prodotte durante l'incubazione si traducono in viraggi cromatici spontanei o rivelati dopo l'aggiunta di reattivi ausiliari.

La lettura di queste reazioni, può essere effettuata utilizzando la Tabella di Lettura, mentre l'identificazione può essere ottenuta consultando la Lista dei Profili presente alla fine di questa scheda tecnica o servendosi di un Software di identificazione.

CONTENUTO DELLA CONFEZIONE (10 test) :

- 10 gallerie API® Listeria (**STR**)
- 10 fiale di API® Suspension Medium, 2 ml (**MED**)
- 1 fiala di reattivo ZYM B (**ZYM B**)
- 10 vaschette di incubazione (**INCUB**)
- 10 schede per la registrazione dei risultati (**SHEET**)
- 1 Scheda tecnica fornita nella confezione o scaricabile da www.biomerieux.com/techlib

COMPOSIZIONE

Gallerie

La composizione delle gallerie API® Listeria è riportata nella Tabella di Lettura di questa scheda tecnica.

Terreno

MED (API® Suspension Medium) 2 ml	Acqua demineralizzata
--	-----------------------

Reattivo

Reattivo ZYM B * 8 ml	Fast Blue BB (sostanza attiva) 0,12 g	Metanolo 40 ml	Dimetilsolfossido 60 ml
---	---------------------------------------	----------------	-------------------------

Le quantità indicate possono essere aggiustate in funzione dei titoli delle materie prime utilizzate.

* Avvertenza: **PERICOLO**



Indicazione di pericolo

- H226** : Liquido e vapori infiammabili.
- H302** : Nocivo se ingerito.
- H311** : Tossico per contatto con la pelle.
- H315** : Provoca irritazione cutanea.
- H319** : Provoca grave irritazione oculari.
- H331** : Tossico se inalato.
- H335** : Può irritare le vie respiratorie.
- H370** : Provoca danni agli organi.

Consiglio di prudenza

P210 : Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.

P280 : Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.

P301 + P312 : IN CASO DI INGESTIONE: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico in caso di malessere.

P302 + P352 : IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua.

P304 + P340 : IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.

P305 + P351 + P338 : IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Per informazioni più complete consultare la Scheda di Sicurezza.

REATTIVI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Reattivi

- McFarland Standard (cod. 70 900), punto 1
- Software di identificazione **apiweb**™ (Cod. 40 011) (consultare bioMérieux)

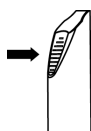
Materiale

- Pipette o PSIpette
- Proteggi-fiale
- Porta-fiale
- Materiale generico per laboratorio di batteriologia

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Per diagnostica *in vitro* e per controllo microbiologico.**
- **Unicamente per uso professionale.**
- Prestare attenzione alle frasi di rischio "H" ed ai consigli di prudenza "P" sopra riportati.
- Questa confezione contiene dei componenti di origine animale. Poiché i controlli sull'origine e/o sullo stato sanitario degli animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare).
- I prelievi, le colture batteriche ed i prodotti seminati devono essere considerati come potenzialmente infettivi e devono essere manipolati in maniera appropriata da operatori competenti e preparati. Le tecniche di asepsi e le precauzioni d'uso per il gruppo batterico studiato devono essere rispettate durante tutta la manipolazione; fare riferimento a "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Revisione in vigore". Per informazioni complementari sulle precauzioni nella manipolazione, fare riferimento a "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH - Ultima edizione", oppure alla legislazione in vigore nel paese di utilizzazione.

- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza.
- Prima dell'uso verificare l'integrità dell'imballaggio e dei componenti.
- Non utilizzare gallerie che abbiano subito una alterazione fisica : cupole deformate, sacchetto del disidratante aperto,...
- Prima dell'uso, riportare i reattivi a temperatura ambiente.
- Aprire le fiale delicatamente come indicato di seguito :



- Inserire la fiala nel proteggi-fiala.
- Impugnare la fiala in posizione verticale (cappuccio bianco rivolto verso l'alto).
- Spingere bene in fondo il cappuccio.
- Premere orizzontalmente con il pollice sulla parte striata del cappuccio fino a rompere l'estremità della fiala.
- Estrarre la fiala dal proteggi-fiala e conservare il proteggi-fiala per una successiva utilizzazione.

* *Fiala senza tappo conta-gocce :*

- Togliere delicatamente il cappuccio.

* *Fiala con tappo conta-gocce:*

- Capovolgere la fiala e mantenerla in posizione verticale.
- Esercitare una pressione laterale sul cappuccio per trasferire tutto il reattivo nel flacone conta-gocce.

NOTA : Per ogni ulteriore utilizzazione, si raccomanda di premere sul tappo prima di capovolgere la fiala per aspirare ogni eccesso di reattivo ed evitare di spanderlo all'esterno del tappo.

- Le performance riportate di seguito sono state ottenute seguendo il procedimento indicato in questa scheda tecnica. Qualsiasi deviazione dal procedimento indicato può alterare i risultati.
- L'interpretazione dei risultati del test deve tener conto del contesto clinico o di altra natura, dell'origine del campione, degli aspetti macro e microscopici del ceppo ed, eventualmente, dei risultati di altri esami, in particolare dell'antibiogramma.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Gallerie STR:

Le gallerie si conservano a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Terreni MED:

Il terreno si conserva a 2-30°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Reattivo :

Il reattivo si conserva al buio a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Dopo l'apertura della fiala ed il suo trasferimento nel flacone conta-gocce, il reattivo può essere conservato per 1 mese (o fino alla data di scadenza se questa è anteriore) : **annotare la data di apertura sull'etichetta del flacone.**

Il reattivo ZYM B è estremamente sensibile alla luce : verificare l'aspetto del reattivo prima di trasferirlo nel flacone conta-gocce.

Il reattivo ZYM B in condizioni normali si presenta di colore da giallo ad ambrato.

Non utilizzare il reattivo se questo presenta una colorazione rosa (segno di avvenuta alterazione). Anche una breve esposizione alla luce del laboratorio (di circa un'ora) provoca l'alterazione del reattivo.

Assicurarsi che il reattivo sia posto nel frigorifero immediatamente dopo l'uso.

IMPIEGO DEL REATTIVO

- Aprire la fiala del reattivo come indicato nel paragrafo "Avvertenze e Precauzioni" (fiala con cappuccio conta-gocce).
- Prima di utilizzare ogni fiala del reattivo, si raccomanda di eseguire un controllo di qualità utilizzando il **ceppo ATCC® 33090™**, indicato nel paragrafo Controllo di Qualità, per escludere qualsiasi reattivo difettoso.
- Versare una goccia di reattivo.
- Dopo l'uso richiudere bene il flacone e conservarlo come indicato nel paragrafo "Conservazione del reattivo".

CAMPIONI

I campioni clinici o di altra natura non possono essere utilizzati direttamente con API® Listeria.

I microrganismi da identificare con tale galleria devono dapprima essere isolati su un idoneo terreno di coltura utilizzando le normali tecniche batteriologiche.

PROCEDIMENTO

Selezione delle colonie

- Verificare che il ceppo da identificare appartenga al genere *Listeria* (corti bacilli Gram positivi, polimorfi, mobili a 25°C ma non a 37°C, catalasi positivi e ossidasi negativi).
- Poiché i prelievi, a volte, contengono contemporaneamente più specie di *Listeria*, (colonie miste) è preferibile eseguire una subcoltura su un terreno al sangue partendo da una colonia bene isolata. Incubare quindi il terreno per 24 ore a 36°C ± 2°C.

NOTA: Si consigliano i seguenti terreni di isolamento per la coltura delle colonie da utilizzare per l'allestimento della galleria API® Listeria :

- terreni agarizzati al sangue, non selettivi, a base di Columbia o di TSA, con o senza antibiotici ;
- terreni selettivi per *Listeria* tranne il terreno McBride poiché inibisce l'espressione enzimatica dei batteri sulla galleria API® Listeria. Se si utilizza questo terreno per l'isolamento delle colonie, eseguire una subcoltura su di un terreno al sangue.

Preparazione della galleria

- Riunire fondo e coperchio di una vaschetta di incubazione e distribuire circa 3 ml di acqua distillata o demineralizzata [o semplicemente dell'acqua senza additivi o derivati che potrebbero liberare gas (ad es. Cl₂, CO₂ ...)] negli alveoli per creare un ambiente umido.
- Annotare il riferimento del ceppo sulla linguetta laterale della vaschetta. (Non annotare il riferimento sul coperchio, in quanto potrebbe essere spostato al momento della manipolazione).
- Estrarre la galleria dal suo involucro.
- Mettere la galleria nella vaschetta di incubazione.
- Eliminare il disidratante.

Preparazione dell'inoculo

- Aprire una fiala di API® Suspension Medium (2 ml) come indicato al paragrafo "Avvertenze e Precauzioni" (fiala senza cappuccio conta-gocce).
- Servendosi di una pipetta o di una PSipetta, prelevare alcune colonie ben isolate utilizzando preferibilmente colonie giovani (18-24 ore).
- Preparare una sospensione d'opacità equivalente a quella dello standard **1 di McFarland** ed utilizzarla immediatamente.
- Annotare sull'apposita scheda per la registrazione dei risultati l'eventuale tipo di emolisi riscontrata (questa informazione rappresenta un test aggiuntivo).

Inoculo della galleria

- Distribuire la sospensione batterica precedentemente preparata nelle microprovette evitando la formazione di bolle (a tale scopo, inclinare in avanti la vaschetta di incubazione e sistemare la pipetta o la PSipetta sul lato interno della cupola):
 - Riempire provetta e cupola del test **[DIM]** (con circa 100 µl di sospensione) **evitando di creare un menisco convesso**.
 - Riempire solo la provetta dei test da ESC a TAG (con circa 50 µl di sospensione).

NOTA : La qualità del riempimento è molto importante: un riempimento insufficiente o eccessivo delle microprovette può provocare risultati falsamente positivi o negativi.

- Richiudere la vaschetta di incubazione.
- Incubare per 18-24 ore a 36°C ± 2°C in aerobiosi.

LETTURA E INTERPRETAZIONE

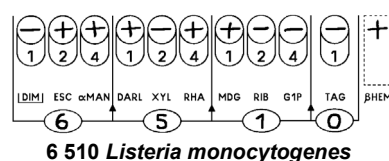
Letture della galleria

- Aggiungere 1 goccia di reattivo ZYM B al test **[DIM]**.
- Procedere entro 3 minuti alla lettura di tutte le reazioni facendo riferimento alla Tabella di Lettura di questa scheda tecnica.
- Annotare le reazioni +/- sulla scheda per la registrazione dei risultati.
- Annotare anche il tipo di emolisi. Il risultato di questo test (aggiuntivo) non viene preso in considerazione nell'interpretazione della galleria.

Interpretazione

L'identificazione è ottenuta mediante un **profilo numerico**.

- Determinazione del profilo numerico:
Sulla scheda dei risultati, i test sono separati in gruppi di tre e ad ognuno viene attribuito un valore pari a 1, 2 o 4. All'interno di ogni tripletta vengono sommati fra di loro i valori corrispondenti alle sole reazioni positive, ottenendo così numero di 4 cifre che costituisce il profilo numerico.
- Identificazione:
Si ottiene partendo dalla base dei dati (V1.2)
 - * Utilizzando il profilo numerico:
 - Ricercare il profilo nella lista dei profili della scheda tecnica; poiché questa lista non è esaustiva, in caso di profilo inesistente, consultare il software indicato di seguito o il Customer Service bioMérieux.
 - * Tramite il software di identificazione **apiweb™** :
 - Digitare sulla tastiera il profilo numerico a 4 cifre.



CONTROLLO DI QUALITÀ

Le gallerie, i terreni, ed i reattivi sono sottoposti a controlli di qualità sistematici nelle diverse fasi del ciclo produttivo.

Il **Controllo di Qualità Minimo** può essere utilizzato per verificare che le condizioni di conservazione e di trasporto non hanno impatto sulle performance della galleria API® LISTERIA. Questo controllo può essere eseguito seguendo le istruzioni ed i criteri riportati sopra, vincolati al referenziale CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Per valutare le performance dei test DIM e XYL, il Controllo può essere fatto utilizzando il ceppo ***Listeria innocua* ATCC® 33090™**. In effetti, studi eseguiti da bioMérieux hanno mostrato che sulla galleria API® LISTERIA, i test DIM e XYL sono i test più sensibili. Quindi, quando viene eseguito il controllo, l'integrità della galleria può essere verificata utilizzando il ceppo *Listeria innocua* ATCC 33090.

Nel caso in cui per questa galleria si debba eseguire un **Controllo di Qualità Completo**, per verificare le reazioni positive e negative della maggior parte dei test della galleria API® LISTERIA dovranno essere testati i tre ceppi seguenti.

1. *Listeria innocua* ATCC® 33090™
2. *Listeria ivanovii* ATCC® BAA-139™
3. *Listeria monocytogenes* ATCC® 19115™

ATCC® : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	[DIM]	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Occasionalmente (-).

Profili ottenuti dopo coltura su agar Columbia con sangue di montone.

E' responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il controllo di qualità corrisponda a quanto previsto dalla legislazione vigente.

LIMITI DEL METODO

- Il sistema API® Listeria è destinato all'identificazione dei batteri appartenenti al genere *Listeria* inclusi nella base dei dati (vedere la Tabella di Identificazione alla fine della scheda tecnica) e solo di questi. Non può essere utilizzato per identificare altri microrganismi o per escluderne la presenza.
- Devono essere utilizzate solo colonie pure, contenenti cioè un solo tipo di microrganismo.

RISULTATI ATTESI

Per i risultati attesi per le differenti reazioni biochimiche, fare riferimento alla Tabella di identificazione, presente nella parte finale di questa scheda tecnica.

PERFORMANCE

Sono stati testati 643 ceppi di diversa origine e ceppi di collezione appartenenti alle specie incluse nella base dei dati:

- il 98,91% dei ceppi sono stati identificati correttamente (con o senza test complementari).
- lo 0,62% dei ceppi non è stato identificato.
- lo 0,47% dei ceppi non è stato identificato correttamente.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Smaltire il reattivo ZYM B non utilizzato seguendo le procedure relative ai rifiuti chimici pericolosi.

Smaltire tutti i reattivi utilizzati o non utilizzati (ad esclusione del reattivo ZYM B) ed i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.

E' responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

TABELLA DI LETTURA

TEST	COMPONENTI ATTIVI	QUANTITA' (mg/cup.)	REAZIONI	RISULTATI	
				NEGATIVO	POSITIVO
DIM	Substrati enzimatici	0,106	Differenziazione <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	<u>ZYM B / < 3 min</u>	
				arancione chiaro rosa-beige grigio-beige	arancione
ESC	Esculina Citrato di ferro	0,16 0,024	idrolisi (ESCulina)	giallo chiaro	nero
αMAN	4-nitrofenil-αD-mannopiranoside	0,045	α-MANnosidasi	incolore	giallo
DARL	D-Arabitolo	0,4	acidificazione (D-ARabitoLo)	rosso / rosso arancione	giallo/ giallo arancione
XYL	D-Xilosio	0,4	acidificazione (XiLosio)		
RHA	L-Ramnosio	0,4	acidificazione (RAmnosio)		
MDG	Metil-αD-glucopiranoside	0,4	Acidificazione (Metil-αD-Glucopiranoside)		
RIB	D-Ribosio	0,4	acidificazione (RIBosio)		
G1P	Glucosio-1-fosfato	0,4	acidificazione (Glucosio-1-fosfato)		
TAG	D-Tagatosio	0,4	acidificazione (TAGatosio)		

- Le quantità indicate possono essere aggiustate in funzione dei titoli delle materie prime.
- Alcune cupole contengono dei componenti di origine animale, in particolare dei peptoni.

PROCEDIMENTO	p. I
LISTA DEI PROFILI NUMERICI	p. II
TABELLA DI IDENTIFICAZIONE	p. II
BIBLIOGRAFIA	p. III
TABELLA DEI SIMBOLI	p. IV

TABELLA DELLE REVISIONILegenda dei tipi di modifica :

N/A	Non applicabile (prima versione)
Correzione	Correzione di anomalie documentali
Modifica tecnica	Aggiunta, modifica e/o rimozione di informazioni relative al prodotto
Amministrativa	Implementazione di modifiche non tecniche da evidenziare all'utilizzatore
Nota :	<i>Le modifiche minori di tipografia, di grammatica e di impaginazione non sono riportate nello storico delle revisioni</i>

Data di emissione	Riferimento del documento	Tipo di modifica	Riepilogo delle modifiche
2015/03	07887Q	Amministrativa	TABELLA DEI SIMBOLI, CONTENUTO DELLA CONFEZIONE, CAMPIONI TABELLA DELLE REVISIONI
		Modifica tecnica	COMPOSIZIONE AVVERTENZE E PRECAUZIONI

BIOMERIEUX, il logo blu, API e **apiweb** sono marchi utilizzati, depositati e/o registrati di proprietà di bioMérieux o di una delle sue filiali o di una delle sue società.

CLSI è un marchio di Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Il marchio ATCC, la denominazione commerciale ATCC e tutti i numeri di catalogo ATCC sono marchi di proprietà di American Type Culture Collection.

Gli altri marchi e nomi di prodotti menzionati sono marchi commerciali dei loro rispettivi detentori.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



Sistema de identificação das *Listeria*

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

O API® Listeria é um sistema padronizado para a identificação das *Listeria* que utiliza mini-testes e uma base de dados. A lista completa das bactérias possíveis de identificar com este sistema encontra-se no Quadro de Identificação no final deste folheto informativo.

PRINCÍPIO

A galeria API® Listeria comporta 10 microtubos que contêm os substratos desidratados e permitem a realização de testes enzimáticos ou fermentações de açúcares.

As reacções produzidas durante o período de incubação traduzem-se pelas mudanças de cor espontâneas ou reveladas através da adição de reagentes.

A leitura destas reacções é efectuada com o Quadro de Leitura e a identificação obtém-se consultando a lista dos perfis do folheto informativo ou com um sistema de identificação.

APRESENTAÇÃO (Embalagem de 10 testes):

- 10 galerias API® Listeria (**STR**)
- 10 ampolas de API® Suspension Medium, 2 ml (**MED**)
- 1 ampola de reagente ZYM B (**ZYM B**)
- 10 caixas de incubação (**INCUB**)
- 10 fichas de resultados (**SHEET**)
- 1 Folheto Informativo fornecido na embalagem ou a transferir a partir de www.biomerieux.com/techlib.

COMPOSIÇÃO

Galeria

A composição da galeria API® Listeria é descrita no Quadro de Leitura deste folheto informativo.

Meio

MED (API® Suspension Medium) 2 ml	Água desmineralizada
--	----------------------

Reagente

Reagente ZYM B *	Fast Blue BB (matéria activa)	0,12 g
	Metanol	40 ml
	Dimetilsulfoxido (DMSO)	60 ml

As quantidades indicadas podem ser ajustadas em função dos títulos das matérias-primas.

* Palavra-sinal: **PERIGO**



Advertência de perigo

- H226** : Líquido e vapor inflamáveis.
- H302** : Nocivo por ingestão.
- H311** : Tóxico em contacto com a pele.
- H315** : Provoca irritação cutânea.
- H319** : Provoca irritação ocular grave.
- H331** : Tóxico por inalação.
- H335** : Pode provocar irritação das vias respiratórias.
- H370** : Afecta os órgãos.

Recomendação de prudência

P210 : Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.

P280 : Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.

P301 + P312 : EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

P302 + P352 : SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água.

P304 + P340 : EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração.

P305 + P351 + P338 : SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

Para mais informações, consultar a ficha de segurança.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Reagentes

- McFarland Standard (Ref. 70 900), ponto 1
- Programa de identificação **apiweb**™ (Refª 40 011) (consultar a bioMérieux)

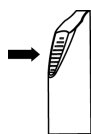
Materiais

- Pipetas ou PSipetas
- Protector de ampola
- Suporte para ampolas
- Equipamento geral de laboratório de bacteriologia

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- **Para diagnóstico *in vitro* e controlo microbiológico.**
- **Unicamente para uso profissional.**
- Ver as indicações de perigo "H" e os conselhos de prudência "P" citados acima.
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não podem garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é recomendado manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).

- As amostras, culturas bacterianas e produtos semeados devem ser considerados potencialmente infecciosos e manipulados de maneira apropriada. As técnicas assépticas e as precauções habituais de manipulação para o grupo bacteriano estudado devem ser respeitadas durante toda a manipulação; consultar o "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers from occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Revisão em vigor*". Para informações complementares sobre as precauções de manipulação, consultar o "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH – Última edição", ou a regulamentação em vigor no país de utilização.
- Não utilizar os reagentes após a data de validade.
- Antes da utilização, assegurar-se de que a embalagem e os componentes não estão danificados.
- Não utilizar galerias que tenham sofrido uma alteração física: cúpula deformada, saqueta/sachet desidratante aberta, ...
- Antes da utilização, deixar os reagentes atingir a temperatura ambiente.
- Abrir cuidadosamente as ampolas, como abaixo indicado:



- Colocar a ampola no protector de ampola.
- Segurar o conjunto verticalmente numa mão (tampa branca para cima).
- Fechar bem a tampa.
- Premir horizontalmente com o polegar a parte estriada da tampa de forma a partir a extremidade da ampola.
- Retirar a ampola do protector de ampola e conservá-lo para uma posterior utilização.

Ampola sem tampa conta-gotas :

- Retirar delicadamente a tampa.

* *Ampola com tampa conta-gotas :*

- Virar a ampola ao contrário e mantê-la na posição vertical.
- Premir na parte lateral da tampa para transferir a totalidade do reagente para o frasco com conta-gotas.

NOTA: Para qualquer utilização posterior, é aconselhado premir a tampa antes de virar a ampola ao contrário de forma a aspirar qualquer excesso de reagente e evitar espalhá-lo no exterior da tampa.

- O comportamento funcional apresentado é obtido com o procedimento indicado neste folheto informativo. Qualquer desvio à metodologia pode alterar os resultados.
- A interpretação dos resultados do teste deve ser efectuada tendo em conta o contexto clínico ou outro, a origem da amostra, os aspectos macro e microscópicos da estirpe/cepa e, eventualmente, os resultados de outros testes, em especial, do antibiograma.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Galerias STR:

As galerias conservam-se a 2°-8°C até à data de validade indicada na embalagem.

Meios MED:

Os meios conservam-se a 2° - 30° C até à data de validade indicada na embalagem.

Reagente:

O reagente deve ser conservado no escuro a 2° - 8° C até à data de validade indicada na embalagem.

Depois da abertura da ampola e da transferência do reagente para o frasco conta-gotas, o reagente pode ser conservado durante 1 mês (ou até à data de validade indicada se esta for anterior): **anotar a data da abertura na etiqueta do frasco.**

O reagente ZYM B é muito sensível à luz: verificar o aspecto do reagente antes de o transferir para o frasco conta-gotas.

O reagente ZYM B apresenta, no seu estado normal, uma cor amarela a âmbar. Eliminar o reagente se observar uma viragem de cor a rosa (sinal de alteração). Uma pequena exposição à luz do laboratório (cerca de 1 hora) provoca a degradação do reagente.

Ter o cuidado de colocar rapidamente o reagente no frigorífico após utilização.

UTILIZAÇÃO DO REAGENTE

- Abrir a ampola de reagente como indicado no parágrafo "Precauções de utilização" (ampola com tampa conta-gotas).
- Antes da utilização de cada ampola de reagente, é aconselhado efectuar um controlo de qualidade utilizando a estirpe/cepa ATCC® 33090™ mencionada no parágrafo Controlo de Qualidade para excluir qualquer reagente defeituoso.
- Deitar uma gota de reagente.
- Fechar bem o frasco depois da utilização e conservá-lo como indicado no parágrafo "Condições de armazenamento".

AMOSTRAS

O API® Listeria não deve ser utilizado directamente a partir das amostras de origem clínica ou outras.

Os microrganismos a identificar devem primeiro ser isolados num meio de cultura adaptado segundo as técnicas habituais de bacteriologia.

PROCEDIMENTO

Seleção das colónias

- Verificar se a estirpe/cepa a estudar pertence ao género *Listeria* (bacilos curtos Gram positivos, polimorfos, móveis a 25° C mas não a 37° C, catalase positiva e oxidase negativa).
- Para as colheitas/coletas que contêm, frequentemente, misturas de várias espécies de *Listeria*, é preferível efectuar uma sub-cultura em gelose de sangue a partir de uma colónia bem isolada. Incubar a placa 24 horas a 36° C ± 2° C.

NOTA: Os meios seguintes podem ser utilizados para colher/coletar as colónias antes da utilização da galeria API® Listeria :

- meios gelosados de sangue não selectivos, em base Columbia ou TSA, com ou sem antibióticos ;
- meios selectivos para *Listeria* com a excepção do meio McBride que inibe a expressão enzimática das bactérias na galeria API® Listeria. Se este meio for utilizado para o isolamento, efectuar uma sub-cultura em gelose de sangue.

Preparação da galeria

- Juntar fundo e tampa de uma caixa de incubação e distribuir cerca de 3 ml de água destilada ou desmineralizada [ou qualquer água sem aditivos ou derivados susceptíveis de libertarem gases (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] nos alvéolos do fundo para criar uma atmosfera húmida.

- Inscrever a referência da estirpe/cepa na lingueta lateral da caixa. (Não inscrever a referência na tampa, esta pode ser deslocada durante a manipulação).
- Retirar a galeria da embalagem individual.
- Colocar a galeria na caixa de incubação.
- Deitar fora o desidratante.

Preparação do inóculo

- Abrir uma ampola de API® Suspension Medium (2 ml) como indicado no parágrafo "Precauções de utilização" (ampola sem tampa conta-gotas).
- Utilizando uma pipeta ou uma PSIpeta, colher/coletar algumas colónias bem isoladas. Utilizar de preferência culturas recentes (18 - 24 horas).
- Efectuar uma suspensão com opacidade equivalente a **1 de McFarland**. Esta suspensão deve ser utilizada imediatamente após a sua preparação.
- Observar o tipo de hemólise e anotar na ficha de resultados, este caracter constituindo um teste adicional.

Inoculação da galeria

- Distribuir a suspensão bacteriana anterior nos tubos evitando a formação de bolhas (para isso, inclinar a caixa de incubação para a frente e colocar a ponta da pipeta ou da PSIpeta de lado na cúpula) :
 - Encher o tubo e a cúpula do teste **[DIM]** (aproximadamente 100 µl), **tendo o cuidado de criar um menisco convexo**.
 - Encher unicamente os tubos dos testes ESC a TAG (cerca de 50 µl).

NOTA: A qualidade do enchimento é muito importante: os tubos insuficiente ou demasiadamente cheios podem causar resultados falsamente positivos ou negativos.

- Fechar novamente a caixa de incubação.
- Incubar 18 - 24 horas a 36° C ± 2° C em aerobiose.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

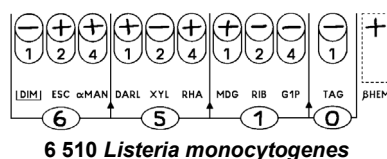
Leitura da galeria

- Adicionar 1 gota de reagente ZYM B ao teste **[DIM]**.
- Ler nos 3 minutos a seguir todas as reacções consultando o Quadro de Leitura do folheto informativo.
- Anotar as reacções em +/- na ficha de resultados.
- Anotar também o tipo de hemólise. O resultado deste teste não é tido em conta na interpretação da galeria.

Interpretação

A identificação é obtida a partir do **perfil numérico**.

- Determinação do perfil numérico :
Na ficha de resultados, os testes são separados por grupos de três e um valor 1, 2 ou 4 é indicado para cada um. Adicionando em cada grupo os valores correspondentes às reacções positivas, obtém-se 4 algarismos que constituem o perfil numérico.
- Identificação :
Esta é efectuada a partir da base de dados (V1.2)
* com o perfil numérico :
 - Procurar o perfil na lista do folheto informativo, não sendo esta lista exaustiva, em caso de perfil inexistente, consultar o programa abaixo ou a Assistência Técnica da bioMérieux.
- * com o programa de identificação **apiweb™** :
 - Introduzir manualmente no teclado o perfil numérico com 4 algarismos.



CONTROLO DE QUALIDADE

Os galerias, meios e reagentes são sujeitos a controlos de qualidade sistemáticos nas diferentes etapas do seu fabrico.

O **Controlo de Qualidade Mínimo** pode ser utilizado para verificar se as condições de armazenamento e de transporte não têm impacto no comportamento funcional da galeria API® LISTERIA. Este controlo pode ser efectuado seguindo as instruções e critérios esperados acima em relação ao referencial CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

O controlo pode ser efectuado utilizando a estirpe/cepa ***Listeria innocua* ATCC® 33090™** para avaliar o comportamento funcional dos testes DIM e XYL. Com efeito, os estudos efectuados pela bioMérieux demonstraram que a galeria API LISTERIA, os testes DIM e XYL são os mais sensíveis. Em consequência, no controlo, a integridade da galeria pode ser verificada utilizando a estirpe *Listeria innocua* ATCC 33090.

No caso em que um **Controlo de Qualidade Completo** é exigido para esta galeria, as três estirpes/cepas seguintes deverão ser testadas para verificar as reacções positivas e negativas da maioria dos testes da galeria API® LISTERIA.

1. *Listeria innocua* ATCC® 33090™
2. *Listeria ivanovii* ATCC® BAA-139™
3. *Listeria monocytogenes* ATCC® 19115™

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	[DIM]	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Ocasionalmente (-).

Perfis obtidos após cultura em gelose Columbia com sangue de carneiro.

É da responsabilidade do utilizador assegurar que o controlo de qualidade é efectuado em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITES DO TESTE

- O sistema API® Listeria destina-se à identificação das bactérias do género *Listeria* presentes na base de dados (consultar o Quadro de Identificação no final do folheto informativo) e apenas a estas. Não pode ser utilizado para identificar outros microrganismos ou excluir a sua presença.
- Devem ser utilizadas culturas puras que contêm um único tipo de microrganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar o Quadro de Identificação no final deste folheto informativo para os resultados esperados das diferentes reacções bioquímicas.

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

Foram testadas 643 estirpes/cepas de diversas origens e estirpes/cepas de colecção pertencentes às espécies da base de dados :

- 98,91% das estirpes/cepas foram correctamente identificadas (com ou sem testes complementares).
- 0,62% das estirpes/cepas não foram identificadas.
- 0,47% das estirpes/cepas foram mal identificadas.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Eliminar o reagente ZYM B não utilizado seguindo os procedimentos relativos aos resíduos químicos perigosos.

Eliminar todos os reagentes utilizados ou não utilizados (excepto o reagente ZYM B), bem como os materiais de utilização única contaminados seguindo os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

QUADRO DE LEITURA

TESTES	COMPONENTES ACTIVOS	QTD (mg/cúp.)	REACÇÕES	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
[DIM]	Substrato enzimático	0,106	Diferenciação <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	<u>ZYM B / < 3 min</u>	
				laranja pálido beige rosado beige acinzentado	laranja
ESC	Esculina Citrato de ferro	0,16 0,024	hidrólise (ESCulina)	amarelo pálido	negro
αMAN	4-nitrofenil-αD-manopiranosido	0,045	α-MANosidase	incolor	amarelo
DARL	D-Arabitól	0,4	acidificação (D-ARabitól)	vermelho / vermelho alaranjado	amarelo / amarelo alaranjado
XYL	D-Xylose	0,4	acidificação (XYLose)		
RHA	L-Rhamnose	0,4	acidificação (RHAmnose)		
MDG	Metil-αD-glucopiranosido	0,4	acidificação (Metil-αD-Glucopiranosido)		
RIB	D-Ribose	0,4	acidificação (RIBose)		
G1P	Glucose-1-Fosfato	0,4	acidificação (Glucose-1-Fosfato)		
TAG	D-Tagatose	0,4	acidificação (TAGatose)		

- As quantidades indicadas podem ser ajustadas em função dos títulos das matérias-primas.
- Algumas cúpulas contêm componentes de origem animal, nomeadamente peptonas.

PROCEDIMENTO	p. I
LISTA DOS PERFIS NUMÉRICOS	p. II
QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO	p. II
BIBLIOGRAFIA	p. III
QUADRO DE SÍMBOLOS	p. IV

HISTÓRICO DAS REVISÕESAlterar tipo de categorias :

N/A	Não aplicável (primeira publicação)
Correção	Correção de anomalias na documentação
Alteração técnica	Adição, revisão e/ou remoção de informações relativas ao produto
Administrativas	Implementação de alterações não técnicas perceptíveis para o utilizador
Nota :	<i>As modificações menores de tipografia, gramática e configuração de página não aparecem no histórico de revisões.</i>

Data da versão	Referência do documento	Tipo de modificação	Resumo da modificação
2015/03	07887Q	Administrativa	HISTÓRICO DAS REVISÕES APRESENTAÇÃO , AMOSTRAS , QUADRO DE SÍMBOLOS
		Modificação técnica	COMPOSIÇÃO PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

A BIOMÉRIEUX, o logotipo azul, api e **apiweb** são marcas utilizadas, depositadas e/ou registadas, propriedade exclusiva da bioMérieux ou de uma das suas filiais ou de uma das suas empresas.

CLSI é uma marca da propriedade da Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

A marca ATCC, a denominação ATCC e todos os números de catálogo ATCC são marcas da American Type Culture Collection.

As outras marcas e nomes de produtos mencionados são marcas comerciais dos respetivos proprietários.

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil, S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261


CNPJ: 33.040.635/0001-71

Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:

VIDE EMBALAGEM



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Το API® Listeria αποτελεί ένα προτυποποιημένο σύστημα για την ταυτοποίηση της *Listeria*, που χρησιμοποιεί εξετάσεις σε μικρογραφία, καθώς και μια βάση δεδομένων. Ο πλήρης κατάλογος εκείνων των οργανισμών που είναι δυνατόν να ταυτοποιηθούν με αυτό το σύστημα παρατίθεται στον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίων.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ταινία API® Listeria αποτελείται από 10 μικροσωλήνες που περιέχουν αφυδατωμένα υποστρώματα τα οποία καθιστούν δυνατή την εκτέλεση ενζυμικών εξετάσεων ή ζυμώσεων σακχάρων.

Κατά τη διάρκεια της επώασης, ο μεταβολισμός προκαλεί χρωματικές μεταβολές που είτε είναι αυτόματες ή αποκαλύπτονται με την προσθήκη των αντιδραστηρίων.

Οι αντιδράσεις διαβάζονται σύμφωνα με τον Πίνακα Ανάγνωσης και η ταυτοποίηση γίνεται με αναφορά στον κατάλογο προφίλ στο εσώκλειστο οδηγίων ή χρησιμοποιώντας το λογισμικό ταυτοποίησης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ (Συσκευασία για 10 εξετάσεις):

- 10 ταινίες API® Listeria
- 10 φύσιγγες API® Suspension Medium, 2 ml
- 1 φύσιγγα αντιδραστηρίου ZYM B
- 10 κυτία επώασης
- 10 φύλλα αποτελεσμάτων
- 1 Εσώκλειστο οδηγίων παρέχεται στη συσκευασία ή μπορείτε να το κατεβάσετε από το www.biomerieux.com/techlib.

ΣΥΝΘΕΣΗ**Ταινία**

Η σύνθεση της ταινίας API® Listeria δίνεται στον Πίνακα Ανάγνωσης αυτού του εσώκλειστου οδηγίων.

Υλικό

MED (API® Suspension Medium) 2 ml	Απιονισμένο ύδωρ
--	------------------

Αντιδραστήριο

Αντιδραστήριο ZYM B * 8 ml	Fast Blue BB (δραστικό συστατικό) 0,12 g Μεθανόλη 40 ml Διμεθυσουλφοξείδιο (DMSO) 60 ml
--	---

Οι αναγραφόμενες ποσότητες μπορούν να ρυθμίζονται ανάλογα με τον τίτλο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται.

* Προειδοποιητική λέξη: **KINΔΥΝΟΣ**

**Δήλωση επικινδυνότητας**

- H226** : Υγρό και ατμοί εύφλεκτα.
- H302** : Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης.
- H311** : Τοξικό σε επαφή με το δέρμα.
- H315** : Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.
- H319** : Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.
- H331** : Τοξικό σε περίπτωση εισπνοής.
- H335** : Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.
- H370** : Προκαλεί βλάβες στα όργανα.

Δήλωση προφύλαξης

- P210** : Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε.
- P280** : Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.
- P301 + P312** : ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.
- P302 + P352** : ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύντε με άφθονο νερό.
- P304 + P340** : ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρατε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή.
- P305 + P351 + P338** : ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

Για περαιτέρω πληροφορίες, αναφερθείτε στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ**Αντιδραστήρια**

- McFarland Standard (Κωδ. 70 900), No. 1 στην κλίμακα
- Λογισμικό ταυτοποίησης **apiweb**™ (Κωδ. 40 011) (συμβουλευθείτε την bioMérieux)

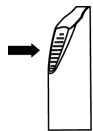
Υλικά

- Πιπέττες ή PSIpettes
- Εσχάρα για φύσιγγες
- Προστατευτική συσκευή φυσίγγων
- Γενικός μικροβιολογικός εργαστηριακός εξοπλισμός

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση και μικροβιολογικό έλεγχο.
 - Αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση.
 - Αναφερθείτε στις δηλώσεις επικινδυνότητας "H" και προφύλαξης "P" παραπάνω.
 - Αυτή η συσκευασία περιέχει προϊόντα ζωικής προέλευσης. Πιστοποιημένη γνώση της προέλευσης ή/και της υγειονομικής κατάστασης των ζώων δεν εγγυάται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων.
- Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα προϊόντα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μην λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).

- Όλα τα δείγματα, οι μικροβιακές καλλιέργειες και τα ενοφθαλμισμένα προϊόντα θα πρέπει να θεωρούνται μολυσματικά και να αντιμετωπίζονται καταλλήλως. Άσηπτες τεχνικές και οι συνήθειες προφυλάξεις χειρισμού για τη μελετώμενη βακτηριακή ομάδα θα πρέπει να τηρούνται σε όλη την διάρκεια της διαδικασίας. Αναφερθείτε στο έγγραφο "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Τρέχουσα αναθεώρηση". Για πρόσθετες προφυλάξεις κατά το χειρισμό, αναφερθείτε στο "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Τελευταία έκδοση", ή στους ισχύοντες κανονισμούς κάθε χώρας.
 - Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.
 - Πριν από τη χρήση, βεβαιωθείτε ότι η συσκευασία και τα περιεχόμενα είναι άθικτα.
 - Μην χρησιμοποιείτε ταινίες οι οποίες παρουσιάζουν φθορές: παραμορφωμένα κυπέλια, ανοικτός φακελίσκος αφυγραντή, κλπ.
 - Αφήστε τα αντιδραστήρια να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.
 - Ανοίξτε τις φύσιγγες προσεκτικά ως εξής:
 - Τοποθετήστε την φύσιγγα στην προστατευτική συσκευή φυσίγγων.
 - Κρατήστε την προστατευμένη φύσιγγα με το ένα χέρι σε κάθετη θέση (το λευκό πλαστικό κάλυμμα προς τα πάνω).
 - Πιέστε το κάλυμμα προς τα κάτω για όσο μεγαλύτερη απόσταση γίνεται.
 - Τοποθετήστε το ρύγχος στο ραβδωτό τμήμα του καλύμματος και πιέστε προς τα εμπρός για να αφαιρέσετε σπάζοντας την κορυφή της φύσιγγας.
 - Βγάλτε την φύσιγγα από την προστατευτική συσκευή φυσίγγων και φυλάξτε την προστατευτική συσκευή για επόμενη χρήση.
 - * Για φύσιγγα χωρίς σταγονομετρικό κάλυμμα:
 - Προσεκτικά αφαιρέστε το κάλυμμα.
 - * Για φύσιγγα με σταγονομετρικό κάλυμμα:
 - Αναποδογυρίστε την φύσιγγα και κρατήστε την σε κάθετη θέση.
 - Πιέστε απαλά το κάλυμμα για να απελευθερώσετε μια σταγόνα για να μεταφέρετε όλο το αντιδραστήριο στη σταγονομετρική φιάλη.
- ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Για περαιτέρω χρήση, συνιστάται να ασκηθεί πίεση στο κάλυμμα πριν αναποδογυριστεί η φύσιγγα, ώστε να αναρροφηθούν όποιες περισσεύσεις σταγόνες του αντιδραστηρίου και έτσι να αποφευχθεί η διάχυση του αντιδραστηρίου στο κάλυμμα ή στα δάχτυλα.
- Τα δεδομένα απόδοσης της μεθόδου που παρουσιάζονται ελήφθησαν ακολουθώντας τη διαδικασία η οποία περιγράφεται σε αυτό το εσωκλειστο οδηγίων. Οποιαδήποτε αλλαγή ή τροποποίηση της διαδικασίας μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα.
 - Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης πρέπει να γίνεται λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενή, την προέλευση του δείγματος, τη μορφολογία των αποικιών και τη μικροσκοπική εικόνα του στελέχους και, αν χρειάζεται, τα αποτελέσματα από όποιες άλλες εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί, ιδιαίτερα τις εξετάσεις ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά.



ΣΥΝΟΗΚΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

Ταινίες STR:

Οι ταινίες θα πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

Υλικά MED:

Τα υλικά μπορούν να φυλάσσονται στους 2-30°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

Αντιδραστήριο:

Το αντιδραστήριο θα πρέπει να φυλάσσεται στο σκοτάδι στους 2-8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

Το αντιδραστήριο μπορεί να διατηρηθεί μέχρι και 1 μήνα αφού ανοιχτεί η φύσιγγα και αφού μεταφερθεί το αντιδραστήριο στη σταγονομετρική φιάλη, (ή μέχρι την ημερομηνία λήξης, αν αυτή παρέλθει νωρίτερα): **καταγράψτε την ημερομηνία ανοίγματος στην ετικέτα της φιάλης.**

Τα αντιδραστήρια ZYM B είναι πολύ ευαίσθητο στο φως: ελέγξτε την εμφάνιση του αντιδραστηρίου πριν το μεταφέρετε στη σταγονομετρική φιάλη.

Το αντιδραστήριο ZYM B κανονικά είναι χρυσοκίτρινου χρώματος. Απορρίψτε το αντιδραστήριο σε περίπτωση που παρατηρηθεί οποιαδήποτε ρόδινη απόχρωση (ένδειξη αλλοίωσης). Η έκθεση στο φως του εργαστηρίου για μια μικρή χρονική διάρκεια (1 ώρα περίπου) θα βλάψει το αντιδραστήριο.

Βεβαιωθείτε ότι το αντιδραστήριο έχει επανατοποθετηθεί στο ψυγείο αμέσως μετά τη χρήση.

ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

- Ανοίξτε την φύσιγγα του αντιδραστηρίου όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις" (φύσιγγα με σταγονομετρικό κάλυμμα).
- Πριν χρησιμοποιήσετε την κάθε φύσιγγα του αντιδραστηρίου, συνιστάται να διεξάγετε μια εξέταση ποιοτικού ελέγχου **με το στέλεχος ATCC® 33090™** όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο Ποιοτικός Έλεγχος, με σκοπό να αποφευχθούν τυχόν ελαττωματικά αντιδραστήρια.
- Διανείμετε μια σταγόνα αντιδραστηρίου.
- Κλείστε προσεκτικά την φιάλη μετά τη χρήση και φυλάξτε την όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Συνθήκες φύλαξης".

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Το API® Listeria δεν προορίζεται για απευθείας χρήση με κλινικά ή άλλα δείγματα.

Οι μικροοργανισμοί προς ταυτοποίηση πρέπει πρώτα να απομονωθούν σε κατάλληλο υλικό καλλιέργειας σύμφωνα με πρότυπες μικροβιολογικές τεχνικές.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Επιλογή των αποικιών

- Ελέγξτε ότι το στέλεχος ανήκει στο γένος *Listeria* (κοντά Gram-θετικά βακτηρίδια τα οποία είναι πολυμορφικά, κινητικά στους 25°C αλλά όχι στους 37°C, καταλάση-θετικά και οξειδάση-αρνητικά).
- Καθώς τα δείγματα συχνά περιέχουν ένα μείγμα από διάφορα είδη *Listeria*, είναι προτιμότερο να φτιάξετε μια ανακαλλιέργεια σε αιματούχο άγαρ χρησιμοποιώντας μια καλά απομονωμένη αποικία. Επλώστε το τρυβλίο για 24 ώρες στους 36°C ± 2°C.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα ακόλουθα υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να πάρουμε δείγματα αποικιών πριν τη χρήση της ταινίας API® Listeria:

- μη-εκλεκτικά, αιματούχα άγαρ υλικά με βάση Columbia ή TSA, με ή χωρίς αντιβιοτικά;
- εκλεκτικά υλικά για *Listeria*, αποκλείοντας το υλικό McBride το οποίο αναστέλλει την ενζυμική εκδήλωση των βακτηριδίων στην ταινία API® Listeria. Εάν αυτό το υλικό χρησιμοποιείται για σκοπούς απομόνωσης, φτιάξτε μια ανακαλλιέργεια σε αιματούχο άγαρ.

Προετοιμασία της ταινίας

- Προετοιμάστε το κυτίο επώασης (δίσκος και κάλυμμα) και διανείμετε περίπου 3 ml απεσταγμένου ή απιονισμένου ύδατος [ή οποιουδήποτε ύδατος χωρίς πρόσθετα ή χημικά που μπορεί να απελευθερώσουν αέρια (π.χ. Cl₂, CO₂, κλπ.)] σε κυψέλες του δίσκου για να δημιουργήσετε μια υγρή ατμόσφαιρα.
- Καταγράψτε τον κωδικό του στελέχους στο επίμηκες περύγιο του δίσκου. (Μην καταγράψετε τον κωδικό στο κάλυμμα, διότι μπορεί να τοποθετηθεί λανθασμένα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας).
- Αφαιρέστε την ταινία από την ατομική της συσκευασία.
- Τοποθετήστε την ταινία στο κυτίο επώασης.
- Απορρίψτε τον αφυγραντή.

Προετοιμασία του εναιωρήματος

- Ανοίξτε μια φύσιγγα API® Suspension Medium (2 ml) όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις" (φύσιγγα χωρίς σταγονομετρικό κάλυμμα).
- Χρησιμοποιώντας μια πιπέττα ή PSIpette, λάβετε μερικές καλά απομονωμένες αποικίες. Συνιστάται να χρησιμοποιείτε νέες καλλιέργειες (18-24 ωρών).
- Προετοιμάστε ένα εναιώρημα με θολερότητα ισοδύναμη με **1 McFarland**. Το εναιώρημα αυτό πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά την προετοιμασία.
- Παρατηρήστε το είδος της αιμόλυσης και καταγράψτε το στο φύλλο αποτελεσμάτων. Αυτό χαρακτηρίζεται σαν μια συμπληρωματική εξέταση.

Ενοφθαλμισμός της ταινίας

- Διανείμετε το βακτηριακό εναιώρημα σε κάθε σωληνάριο, αποφεύγοντας το σχηματισμό φυσαλίδων (γείρετε την ταινία ελαφρώς προς τα εμπρός και τοποθετήστε το ρύγχος της πιπέττας ή της PSIpette στην πλαϊνή επιφάνεια του κυπέλιου):
 - Γεμίστε το σωληνάριο και το κυπέλιο της εξέτασης **DIM** (περίπου 100 μl), **αποφεύγοντας το σχηματισμό ενός κυρτού μηνίσκου**.
 - Γεμίστε μόνο το τμήμα του σωληναρίου των εξετάσεων ESC έως TAG (περίπου 50 μl).

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η ποιότητα του γεμίσματος είναι πολύ σημαντική: σωληνάρια τα οποία είναι ανεπαρκώς ή υπερβολικά γεμισμένα μπορεί να προκαλέσουν ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

- Κλείστε το κυτίο επώασης.
- Επώαστε για 18-24 ώρες στους 36°C ± 2°C σε αερόβιες συνθήκες.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

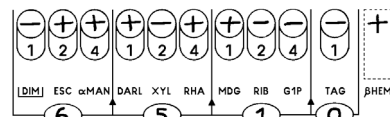
Ανάγνωση της ταινίας

- Προσθέστε μια σταγόνα αντιδραστήριου ZYM B στην εξέταση **DIM**.
- Διαβάστε όλες τις αντιδράσεις μέσα σε 3 λεπτά με βάση τον Πίνακα Ανάγνωσης σε αυτό το εσώκλειστο οδηγίων.
- Καταγράψτε αν οι αντιδράσεις είναι θετικές ή αρνητικές (+/-) στο φύλλο αποτελεσμάτων.
- Επίσης καταγράψτε το είδος της αιμόλυσης στο φύλλο αποτελεσμάτων. Το αποτέλεσμα αυτής της εξέτασης δεν πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για την ερμηνεία της ταινίας.

Ερμηνεία

Η ταυτοποίηση προκύπτει με το **αριθμητικό προφίλ**.

- Προσδιορισμός του αριθμητικού προφίλ:
Στο φύλλο αποτελεσμάτων, οι εξετάσεις χωρίζονται σε ομάδες των τριών και για κάθε μια δίνεται τιμή 1, 2 ή 4. Προσθέτοντας τις τιμές οι οποίες αντιστοιχούν σε θετικές αντιδράσεις μέσα σε κάθε ομάδα, προκύπτει ένας 4ψήφιος αριθμός προφίλ, ο οποίος συνιστά το αριθμητικό προφίλ.
- Ταυτοποίηση:
Εκτελείται χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων (V1.2) * με το αριθμητικό προφίλ:
 - Αναζητήστε το προφίλ στον κατάλογο των προφίλ σε αυτό το εσώκλειστο οδηγίων.
 - Αυτός ο κατάλογος δεν είναι πλήρης, επομένως αν το προφίλ λείπει, παρακαλούμε συμβουλευτείτε το πρόγραμμα λογισμικού που αναγράφεται παρακάτω ή την Τεχνική Υποστήριξη της bioMérieux.
- * με το λογισμικό ταυτοποίησης **apiweb™**:
 - Εισάγετε το 4ψήφιο αριθμητικό προφίλ χειροκίνητα χρησιμοποιώντας το πληκτρολόγιο.



6 510 *Listeria monocytogenes*

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Οι ταινίες, τα υλικά και τα αντιδραστήρια ελέγχονται συστηματικά σε διάφορα στάδια της παραγωγής τους.

Εκλογικευμένος ποιοτικός έλεγχος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιβεβαιωθεί η αποδεκτή απόδοση του συστήματος API® LISTERIA μετά τη μεταφορά/φύλαξη. Η μεθοδολογία αυτή μπορεί να εφαρμοστεί ακολουθώντας τις παραπάνω οδηγίες για την εξέταση και συμφωνώντας με τα κριτήρια που δηλώνονται στο CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems. (Ποιοτικός Έλεγχος για Εμπορικά Συστήματα Μικροβιακής Ταυτοποίησης).

Ο έλεγχος μπορεί να διεξαχθεί χρησιμοποιώντας *Listeria innocua* ATCC® 33090 για να αξιολογηθεί η απόδοση των εξετάσεων DIM και XYL. Ο έλεγχος που πραγματοποιήθηκε από τη bioMérieux έδειξε ότι οι εξετάσεις DIM και XYL είναι οι πιο ευαίσθητες στην ταινία API® LISTERIA. Κατά τον έλεγχο η ακεραιότητα της ταινίας μπορεί να επαληθευτεί χρησιμοποιώντας το στέλεχος *Listeria innocua* ATCC 33090.

Για εκείνους τους χρήστες που τους ζητείται να διεξάγουν **αναλυτική εξέταση ποιοτικού ελέγχου** με την ταινία, θα πρέπει να εξετάζονται τα τρία παρακάτω στελέχη για να εκδηλώνεται θετική και αρνητική αντιδραστικότητα για τις περισσότερες από τις εξετάσεις API® LISTERIA.

- | | | | |
|-----------------------------|----------------|----------------------------------|--------------|
| 1. <i>Listeria innocua</i> | ATCC® 33090™ | 3. <i>Listeria monocytogenes</i> | ATCC® 19115™ |
| 2. <i>Listeria ivanovii</i> | ATCC® BAA-139™ | | |

ATCC® : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	DIM	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Περιστασιακά (-).

Προφίλ που προέκυψαν μετά από καλλιέργεια σε άγαρ Columbia με αίμα προβάτου.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να διεξάγει τον Ποιοτικό Έλεγχο σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Το σύστημα API® Listeria προορίζεται μόνο για την ταυτοποίηση των βακτηριδίων που ανήκουν στα γένη *Listeria* που συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων (δείτε Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίου). Δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ταυτοποιήσει οποιοσδήποτε άλλους μικροοργανισμούς ή για να αποκλείσει την παρουσία τους.
- Μόνον καθαρές καλλιέργειες αποκλειστικά ενός οργανισμού πρέπει να χρησιμοποιηθούν.

ΕΥΡΟΣ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Συμβουλευτείτε τον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίου για το εύρος των αναμενόμενων αποτελεσμάτων για τις διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Εξετάστηκαν 643 στελέχη συλλογής και στελέχη διάφορων προελεύσεων που ανήκουν σε είδη που συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων:

- 98,91 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν σωστά (με ή χωρίς συμπληρωματικές εξετάσεις).
- 0,62 % των στελεχών δεν ταυτοποιήθηκαν.
- 0,47 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν λανθασμένα.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Απορρίψτε το μη χρησιμοποιημένο αντιδραστήριο ZYM B ακολουθώντας τις διαδικασίες για επικίνδυνα χημικά απόβλητα.

Απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα ή μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια (άλλα από το αντιδραστήριο ZYM B) καθώς και οποιαδήποτε άλλα επιμολυσμένα αναλώσιμα υλικά ακολουθώντας τις διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικώς μολυσματικά προϊόντα.

Αποτελεί ευθύνη κάθε εργαστηρίου να αντιμετωπίζει τα απόβλητα και τα υγρά εκροής που παράγονται, σύμφωνα με τον τύπο και τον βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ

ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ	ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΟΣ. (mg/κυττ.)	ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
				ΑΡΝΗΤΙΚΑ	ΘΕΤΙΚΑ
DIM	Ενζυμικό υπόστρωμα	0,106	Διάκριση <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	ΖΥΜ Β / < 3 λεπτά	
				απαλό πορτοκαλί ρόδινο μπεζ γκρίζο μπεζ	πορτοκαλί
ESC	Εσκουλίνη Κιτρικός σίδηρος	0,16 0,024	υδρόλυση (Εσκουλίνη)	απαλό κίτρινο	μαύρο
αMAN	4-νιτροφαινύλ-αD- μαννοπυρανοζίδη	0,045	α-Μαννοζιδάση	άχρωμο	κίτρινο
DARL	D-Αραβιτόλη	0,4	οξίνιση (D-Αραβιτόλη)	ερυθρό / πορτοκαλί-ερυθρό	κίτρινο / κίτρινο-πορτοκαλί
XYL	D-Ξυλόζη	0,4	οξίνιση (Ξυλόζη)		
RHA	L-Ραμνόζη	0,4	οξίνιση (Ραμνόζη)		
MDG	Μεθυλο-αD- γλυκοπυρανοζίδη	0,4	οξίνιση (Μεθυλο-αD- Γλυκοπυρανοζίδη)		
RIB	D-Ριβόζη	0,4	οξίνιση (Ριβόζη)		
G1P	Φωσφορική-1-Γλυκόζη	0,4	οξίνιση (Φωσφορική-1-Γλυκόζη)		
TAG	D-Ταγατόζη	0,4	οξίνιση (Ταγατόζη)		

- Οι αναγραφόμενες ποσότητες μπορούν να ρυθμίζονται ανάλογα με τον τίτλο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται.
- Ορισμένα κυπέλλια περιέχουν προϊόντα ζωικής προέλευσης, ειδικά πεπτόνες.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	σελ. I
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΦΙΛ	σελ. II
ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	σελ. II
ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ	σελ. III
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ	σελ. IV

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ

Κατηγορίες τύπου αλλαγής :

Δ/Ε	Δεν εφαρμόζεται (Πρώτη Δημοσίευση)
Διόρθωση	Διόρθωση ανωμαλιών της τεκμηρίωσης
Τεχνική αλλαγή	Προσθήκη, αναθεώρηση ή/και απομάκρυνση πληροφοριών που σχετίζονται με το προϊόν
Διαχειριστική αλλαγή	Εφαρμογή μη τεχνικής αλλαγής αισθητή στο χρήστη
Σημείωση :	<i>Μικρές τυπογραφικές, γραμματικές αλλαγές και αλλαγές μορφοποίησης δεν περιλαμβάνονται στο ιστορικό αναθεώρησης.</i>

Ημερομηνία κυκλοφορίας	Κωδικός	Τύπος Αλλαγής	Περίληψη Αλλαγής
2015/03	07887Q	Διαχειριστική αλλαγή	ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ της ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ , ΔΕΙΓΜΑΤΑ , ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΕΩΝ
		Τεχνική αλλαγή	ΣΥΝΘΕΣΗ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Η ονομασία BIOMERIEUX, ο κυανός λογότυπος, οι ονομασίες API και **apiweb** αποτελούν χρησιμοποιημένα, κατατεθειμένα ή/και καταχωρημένα εμπορικά σήματα που ανήκουν στη bioMérieux ή μιας εκ των θυγατρικών της, ή σε μια από τις εταιρείες της.
Η ονομασία CLSI αποτελεί εμπορικό σήμα που ανήκει στην Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.
Το εμπορικό σήμα ATCC, η εμπορική επωνυμία ATCC και οποιοδήποτε και όλοι οι αριθμοί καταλόγου ATCC είναι εμπορικά σήματα της American Type Culture Collection.
Οποιαδήποτε άλλη ονομασία ή εμπορικό σήμα είναι ιδιοκτησία του αντίστοιχου ιδιοκτήτη.



bioMérieux SA
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



System för identifiering av *Listeria***SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING**

API® Listeria är ett standardiserat system för identifiering av *Listeria*. Systemet utnyttjar miniaturiserade tester tillsammans med en databas. En fullständig lista över de organismer som är möjliga att identifiera med detta system återfinns i Identifieringstabellen, i slutet av denna bipacksedel.

METOD

API® Listeria strips består av 10 mikrobrunnar innehållande dehydrerade substrat som möjliggör utförandet av enzymatiska tester eller jäsning av socker. Under inkubationen framkallar metabolismen färgförändringar, som antingen är spontana eller avslöjas genom tillsats av reagenser. Reaktionerna avläses enligt Avläsningstabellen och identifieringen sker med hjälp av profillistan i bipacksedeln, eller med hjälp av identifieringsprogrammet.

KITETS INNEHÅLL (Kit för 10 tester):

- 10 API® Listeria strips (**STR**)
- 10 ampuller med API® Suspension Medium, 2 ml (**MED**)
- 1 ampull med ZYM B reagens (**ZYM B**)
- 10 inkubationsboxar (**INCUB**)
- 10 rapportblad (**SHEET**)
- 1 bipacksedel

INNEHÅLLSDEKLARATION**Strips**

API® Listeria-stripsets innehåll anges i Avläsningstabellen i denna bipacksedel.

Medium

MED (API® Suspension Medium) 2 ml	Avmineraliserat vatten
--	------------------------

Reagens

ZYM B-reagens * 8 ml	Fast Blue BB (aktiv ingrediens) Metanol Dimetylsulfoxid (DMSO)	0,12 g 40 ml 60 ml
--------------------------------	--	--------------------------

De angivna mängderna kan variera beroende på titern hos de använda råmaterialen.

* Signalord: **FARA**

**Faroangivelse**

- H226** : Brandfarlig vätska och ånga.
- H302** : Skadligt vid förtäring.
- H311** : Giftigt vid hudkontakt.
- H315** : Irriterar huden.
- H319** : Orsakar allvarlig ögonirritation.
- H331** : Giftigt vid inandning.
- H335** : Kan orsaka irritation i luftvägarna.
- H370** : Orsakar organskador.

Skyddsangivelse

- P210** : Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
- P280** : Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
- P301 + P312** : VID FÖRTÄRING: Vid obehag, kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare.
- P302 + P352** : VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket vatten.
- P304 + P340** : VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas.
- P305 + P351 + P338** : VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

För ytterligare information, se säkerhetsdatabladet.

REAGENSER OCH NÖDVÄNDIGT MATERIAL (SOM INTE MEDFÖLJER)**Reagenser**

- McFarland Standard (Art.nr. 70 900), nr 1 på skalan
- **apiweb™** programvara för identifiering (Art.nr. 40 011) (kontakta bioMérieux)

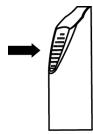
Material

- Pipetter eller PSipetter
- Ampullställ
- Ampullskydd
- Allmän utrustning för mikrobiologiskt laboratorium

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- **Används för *in vitro*-diagnostik och mikrobiologisk kontroll.**
- **Endast för professionell användning.**
- Se faroangivelser "H" och skyddsangivelser "P" som anges ovan.
- Detta kit innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierade data angående ursprunget och/eller hälsotillståndet hos djuren garanterar inte total frånvaro av överförbara patogena agens. Det rekommenderas därför att dessa produkter behandlas som potentiellt infektiösa och handhas enligt sedvanliga försiktighetsåtgärder (ska inte förtäras eller inandas).

- Alla prover, odlingar av mikroorganismer och inokulerade produkter skall anses infektiösa och behandlas på ett lämpligt sätt. Sterilteknik och sedvanliga försiktighetsåtgärder för att handha den speciella gruppen av bakterier skall iaktas under hela proceduren. Se "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Aktuell revidering". För ytterligare information angående försiktighetsåtgärder vid hantering, se "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Senaste upplagan", eller de f.n. gällande reglerna i det aktuella landet.
- Använd inte reagenser efter sista förbrukningsdatum.
- Kontrollera före användning att förpackning och komponenter är intakta.
- Använd inte strips som har blivit skadade: deformerade kupoler, öppen påse med torkmedel etc.
- Låt reagenset anta rumstemperatur före användning.
- Öppna ampullerna försiktigt enligt följande:



- Placera ampullen i ampullskyddet.
- Håll den skyddade ampullen i vertikal position med en hand (det vita plastlocket uppåt).
- Tryck ner locket så långt som möjligt.
- Sätt tummen på lockets räfflade del och tryck framåt för att bryta av ampullens topp.
- Ta ut ampullen från ampullskyddet och lägg skyddet åt sidan för senare användning.

* **För ampull utan dropplock:**

- Ta försiktigt av locket.

* **För ampull med dropplock:**

- Vänd ampullen upp och ner och behåll den i vertikal position.
- Tryck försiktigt på locket för att släppa ut en droppe och överför allt reagens till droppflaskan.

OBS: För upprepad användning rekommenderas det att trycka hårt på locket innan ampullen vänds upp och ned. Detta gör att kvarvarande droppar av reagenset sugas tillbaka, vilket förhindrar att lock och fingrar blir nedstänkta.

- Data angående prestanda som presenterats har uppnåtts med hjälp av den metod som anges i denna bipacksedel. Varje ändring i utförandet kan påverka resultaten.
- Tolkningen av testresultaten skall göras med hänsyn till patientens anamnes, provkällan, stammens koloniala och mikroskopiska morfologi och, om nödvändigt, resultaten av andra utförda tester, speciellt antibiotikakänslighet.

FÖRVARING

Strips STR:

Stripsen ska förvaras vid 2-8°C fram till sista förbrukningsdatum som anges på förpackningen.

Medier MED:

Medierna ska förvaras vid 2-30°C fram till sista förbrukningsdatum som anges på förpackningen.

Reagens:

Reagenset ska förvaras mörkt vid 2-8°C fram till sista förbrukningsdatum som anges på förpackningen.

Reagenset kan bevaras i upp till 1 månad sedan ampullen har öppnats och reagenset överförs till droppflaska (eller till sista förbrukningsdagen om denna inträffar dessförinnan). **Anteckna öppningsdatum på flaskans etikett.**

ZYM B-reagenset är mycket ljuskänsligt: kontrollera reagensets utseende innan det förs över till droppflaskan. ZYM B-reagenset är normalt gul- till bärnstensfärgat. Kassera reagenset om det har en rosafärgad nyans (tecken på försämring). Exponering för laboratorieljus under kort tid (ca 1 timma) skadar reagenset.

Reagenset skall ställas tillbaka i kylskåp omedelbart efter användning.

REAGENSETS ANVÄNDNING

- Öppna ampullen med reagens så som anges i avsnittet "Försiktighetsåtgärder" (ampull med dropplock).
- Före användning av en reagensampull rekommenderas att ett test för kvalitetskontroll utförs med **stammen ATCC® 33090™** enligt avsnittet "Kvalitetskontroll", i avsikt att utesluta eventuell defekt reagens.
- Tryck ut en droppe av reagenset.
- Förslut försiktigt flaskan efter användning och förvara enligt avsnittet "Förvaring".

PROVER

API® Listeria är inte avsett för direkt användning med kliniska eller andra prover.

Mikroorganismerna som ska identifieras måste först isoleras på ett lämpligt medium i enlighet med standardiserade mikrobiologiska tekniker.

BRUKSANVISNING

Val av kolonier

- Kontrollera att stammen tillhör släktet *Listeria* (korta Grampositiva stavar, vilka är polymorfa och motila vid 25°C, men inte vid 37°C, samt katalaspositiva och oxidasnegativa).
- Eftersom proverna ofta innehåller en blandning av olika *Listeria*-typer, är det lämpligt att odla en subkultur på blodagar med en välisolerad koloni. Inkubera plattan under 24 timmar vid 36°C ± 2°C.

OBS: Följande medier kan användas för att ta prover av kolonier innan API® Listeria strips används:

- icke-selektiva blodagarmedia med en Columbia- eller TSA-bas och med eller utan antibiotika;
- selektiva medier för *Listeria*, förutom McBride-mediet, vilket inhiberar enzymatisk manifestation av bakterier på API® Listeria strips. Om mediet används för isolering, odla en subkultur på blodagar.

Preparering av stripset

- Gör i ordning en inkubationsbox (platta och lock) och fördela ca 3 ml destillerat vatten eller avmineraliserat vatten [eller annat vatten utan tillsatser och kemikalier som kan utveckla gaser (t.ex Cl₂, CO₂,)] i håligheter på plattan för att skapa en fuktig atmosfär.
- Anteckna stambeteckningen på den förlängda fliken på plattan. (Anteckna inte beteckningen på locket eftersom det kan komma att förläggas under arbetet).
- Ta ut stripset ur dess förpackning.
- Placera stripset i inkubationsboxen.
- Kasta påsen med torkmedel.

Preparering av inokulatet

- Öppna en ampull med API® Suspension Medium (2 ml) så som anges i stycket "Försiktighetsåtgärder" (ampull utan dropplock).
- Använd en pipett eller PSIpsett för att ta upp en välisolerad koloni. Det rekommenderas att använda unga kulturer (18–24 timmar gamla).
- Bered en suspension med en turbiditet motsvarande **1 McFarland**. Suspensionen måste användas direkt efter beredning.
- Observera typ av hemolys och anteckna på rapportbladet. Detta utgör ett tilläggstest.

Inokulering av stripset

- Fördela den beredda bakteriesuspensionen i varje brunn: undvik bildning av bubblor (luta stripset något framåt och sätt pipettens eller PSIpettens spets mot sidan av kupolen):
 - Fyll brunn och kupol för [DIM] testet (ca 100 µl), **undvik bildandet av en konvex yta**.
 - Fyll endast brunnen för testerna ESC till TAG (ca 50 µl).

OBS: Det är mycket viktigt att påfyllningen görs rätt: brunnar som är otillräckligt fyllda eller överfyllda kan orsaka falskt positiva eller falskt negativa resultat.

- Stäng inkubationsboxen.
- Inkubera under 18-24 timmar vid 36°C ± 2°C under aeroba förhållanden.

KVALITETSKONTROLL

Medier, strips och reagenser är systematiskt kvalitetskontrollerade vid olika steg i tillverkningen.

Rationaliserad kvalitetskontroll (**Streamlined quality control**) kan tillämpas för att bekräfta att API® LISTERIA-systemet har en acceptabel prestanda efter leverans/lagerhållning. Denna metod kan utföras genom att följa instruktionerna ovan för att testa och uppfylla kriterierna i CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Testning kan utföras med hjälp av *Listeria innocua* ATCC® 33090™ för att utvärdera prestandan hos DIM och XYL-testerna. Tester utförda av bioMérieux har visat att DIM och XYL-testerna är den mest labila på API LISTERIA-stripset. När stripset skall testas kan *Listeria innocua* ATCC 33090 användas för att detektera degradering.

För de användare som måste utföra **omfattande tester för kvalitetskontroll** av stripset bör följande tre stammar testas för att påvisa positiv och negativ reaktivitet för de flesta av API® LISTERIA-testerna.

- | | | | |
|-----------------------------|----------------|----------------------------------|--------------|
| 1. <i>Listeria innocua</i> | ATCC® 33090™ | 3. <i>Listeria monocytogenes</i> | ATCC® 19115™ |
| 2. <i>Listeria ivanovii</i> | ATCC® BAA-139™ | | |

ATCC®: American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	[DIM]	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* I vissa fall (-).

Profiler som erhållits efter odling på Columbia fårblodsagar.

Det är användarens ansvar att utföra kvalitetskontroll i enlighet med de lokalt tillämpliga bestämmelserna.

AVLÄSNING OCH TOLKNING

Avläsning av stripset

- Tillsätt en droppe ZYM B-reagens till [DIM]-testet.
- Avläs reaktionerna inom 3 minuter med hjälp av Avläsningstabellen i denna bipacksedel.
- Anteckna positiva eller negativa reaktioner (+/-) på rapportbladet.
- Anteckna också typ av hemolys på rapportbladet. Resultatet av det här testet tas inte med i tolkningen av stripset.

Tolkning

Identifiering görs med hjälp av den **numeriska profilen**.

- Kodning av den numeriska profilen:
På rapportbladet delas testet upp i grupper om tre, varpå varje grupp tilldelas ett talvärde: 1, 2 eller 4. Genom att addera de värden som motsvarar positiva reaktioner inom varje grupp erhålls en 4-siffrig numerisk profil.

- Identifiering:

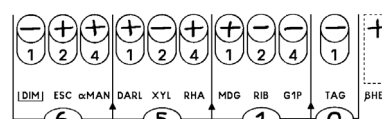
Denna utförs med hjälp av databasen (V1.2)

* med den numeriska profilen:

- Sök upp profilen i profillistan som finns i denna bipacksedel. Denna lista är inte fullständig. Om en profil saknas, se mjukvaruprogrammet som finns angivet nedan eller bioMérieux Technical Assistance service.

* med **apiweb™** identifieringsprogram:

- Skriv in den 4-siffriga numeriska profilen manuellt via tangentbordet.



6 5 1 0 *Listeria monocytogenes*

METODENS BEGRÄNSNINGAR

- API® Listeriasystemet är endast avsett för identifiering av bakterier som tillhör släktet *Listeria* och som ingår i databasen (se Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel). Det kan inte användas för identifiering av andra mikroorganismer eller för att utesluta deras närvaro.
- Endast rena kulturer från en enda organism bör användas.

FÖRVÄNTADE RESULTAT

Intervall för de förväntade resultaten för de olika biokemiska reaktionerna framgår av Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel.

PRESTANDA

643 kommersiellt tillgängliga stammar och stammar av olika ursprung, tillhörande arter inkluderade i databasen, testades:

- 98,91% av stammarna blev korrekt identifierade (med eller utan kompletterande tester).
- 0,62% av stammarna identifierades inte.
- 0,47% av stammarna blev felidentifierade.

AVFALLSHANTERING

Avfallshantering av oanvänt ZYM B-reagens bör ske i enlighet med procedurer för kemiskt farligt avfall.

Avfallshantering för alla använda eller oanvända reagenser (förutom ZYM B-reagens), liksom för andra kontaminerade engångsmaterial, ska ske i enlighet med procedurer för infektiösa eller potentiellt infektiösa produkter.

Det är varje laboratoriums ansvar att handha avfalls- och avloppsprodukter efter typ och farlighetsgrad och behandla och avlägsna dem (eller få dem behandlade och avlägsnade) i enlighet med alla tillämpliga föreskrifter.

AVLÄSNINGSTABELL

TEST	AKTIVA INGREDIENSER	mgd (mg/kup.)	REAKTIONER	RESULTAT	
				NEGATIVT	POSITIVT
DIM	Enzymsubstrat	0,106	Differentiering <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	ZYM B / < 3 min	
				svagt orange rosabeige gråbeige	orange
ESC	Esculin Järncitrat	0,16 0,024	hydrolys (ESCulin)	svagt gul	svart
αMAN	4-nitrofenyl-αD-mannopyranosid	0,045	α-MANnosidas	färglös	gul
DARL	D-arabitol	0,4	surgörning (D-ARabitol)	röd / orange-röd	gul / gul-orange
XYL	D-Xylos	0,4	surgörning (XYLos)		
RHA	L-Rhamnos	0,4	surgörning (RHAmnos)		
MDG	Metyl-αD-glukopyranosid	0,4	surgörning (Metyl-αD-glukopyranosid)		
RIB	D-Ribos	0,4	surgörning (RIBos)		
G1P	Glukos-1-Fosfat	0,4	sururgörning (Glukos-1-Fosfat)		
TAG	D-Tagatos	0,4	surgörning (TAGatos)		

- De angivna mängderna kan variera beroende på titern hos de använda råmaterialen.
- Vissa kupoler innehåller produkter av animaliskt ursprung, i synnerhet peptoner.

METOD	s. I
LISTA ÖVER NUMERISKA PROFILER	s. II
IDENTIFIERINGSTABELL	s. II
REFERENSLITTERATUR	s. III
SYMBOLER	s. IV

REVIDERINGSHISTORIKKategorier av ändringstyper :

ET	Ej tillämpligt (första publicering)
Korrigerig	Korrigerig av avvikelser i dokumentationen
Teknisk ändring	Tillägg, revidering och/eller borttagning av information relaterat till produkten
Administrativt	Införande av icke-tekniska ändringar av betydelse för användaren
Obs!	<i>Mindre typografiska ändringar samt ändringar av grammatik och formatering är inte inkluderade i revideringshistoriken.</i>

Publiceringsdatum	Artikelnummer	Typ av ändring	Sammanfattning av ändringar
2015/03	07887Q	Administrativt	KITETS INNEHÅLL, PROVER, SYMBOLER REVIDERINGSHISTORIK
		Teknisk ändring	INNEHÅLLSDEKLARATION FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER


BIOMÉRIEUX, den blå logotypen, API och **apiweb** är patentsökta och/eller registrerade varumärken som tillhör och används av bioMérieux eller något av dess dotterbolag, eller ett av dess företag.

CLSI är ett varumärke som tillhör Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Varumärket och varunamnet ATCC och alla ATCC-katalognummer är varumärken som tillhör American Type Culture Collection.

Alla övriga namn eller varumärken tillhör dess respektive ägare.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



System til identifikation af *Listeria***RESUMÉ OG FORKLARING**

API® Listeria er et standardiseret system til identifikation af *Listeria*, som anvender minimerede tests så vel som en specielt tilpasset database. Den komplette liste over de organismer, som det er muligt at identificere med dette system, er angivet i Identifikationstabellen nederst på denne indlægsseddel.

PRINCIP

API® Listeria strip består af 10 mikrorør, der indeholder dehydrerede substrater, som muliggør gennemførelse af 12 enzymatiske tests eller sukkerfermentationer. Under inkubationen danner metabolismen farveforandringer, der enten er spontane eller afsløres ved tilsætning af reagenser. Reaktionen aflæses efter Aflæsningstabellen, og identifikation opnås ved at se i profilisten i denne indlægsseddel eller ved hjælp af identifikationssoftwaren.

KITTETS INDHOLD (SÆT TIL 10 TESTS):

- 10 API® Listeria strips (**STR**)
- 10 ampuller med API® Suspensionsmedium, 2 ml (**MED**)
- 1 ampul med ZYM B reagens (**ZYM B**)
- 10 inkubationsæsker (**INCUB**)
- 10 resultatark (**SHEET**)
- 1 indlægssedlen kan downloades fra www.biomerieux.com/techlib.

SAMMENSÆTNING**Strip**

Sammensætningen af API® Listeria strip'en er angivet i Aflæsningstabellen på denne indlægsseddel.

Medium

MED (API® Suspensions- medium) 2 ml	Demineraliseret vand
--	----------------------

Reagens

ZYM B reagens* 8 ml	Fast Blue BB (aktiv ingrediens) 0.12 g Methanol 40 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) 60 ml
---	---

De angivne mængder kan justeres, afhængigt af titeren for de anvendte råmaterialer.

* Signalord: **FARLIGT**

**Faresætning**

H226 : Brandfarlig væske og damp.

H302 : Farlig ved indtagelse.

H311 : Giftig ved hudkontakt.

H315 : Forårsager hudirritation.

H319 : Forårsager alvorlig øjenirritation.

H331 : Giftig ved indånding.

H335 : Kan forårsage irritation af luftvejene.

H370 : Forårsager organskader.

Sikkerhedssætning

P210 : Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.

P280 : Bær

beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P301 + P312 : I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: I tilfælde af ubehag, ring til en GIFTINFORMATION/læge.

P302 + P352 : VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt vand.

P304 + P340 : VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes.

P305 + P351 + P338 : VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

For yderligere oplysninger henvises til sikkerhedsdatabladet.

NØDVENDIGE MEN IKKE MEDFØLGENDE REAGENSER OG MATERIALER**Reagenser**

- McFarland Standard (Ref. 70 900), Nr. 1 på skalaen
- **apiweb™** identifikationssoftware (Ref. 40 011) (spørg bioMérieux)

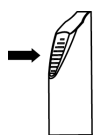
Materiale

- Pipetter eller PSipetter
- Ampul-stativ
- Ampulbeskytter
- Almindeligt laboratorieustyr til mikrobiologi

ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER

- Til *in-vitro* diagnostisk brug og mikrobiologisk kontrol.
- Kun til professionel brug.
- Se faresætninger "H" og sikkerhedssætninger "P" er anført ovenfor.
- Dette kit indeholder produkter af animalsk oprindelse. Certificeret kendskab til dyrenes oprindelse og/eller sundhedstilstand er ikke nogen fuldgyltig garanti for, at der ikke er indeholdt nogen overførbare patogener stoffer. Det anbefales derfor, at disse produkter behandles som potentielt smittefarlige og håndteres under iagttagelse af de normale sikkerhedsforanstaltninger (må ikke indtages eller indåndes).
- Alle prøver, bakteriekulturer og podede produkter skal betragtes som smittefarlige og håndteres i overensstemmelse hermed. Der skal anvendes aseptisk teknik og sædvanlige forholdsregler for håndtering af den undersøgte bakteriekultur gennem hele denne procedure. Se venligst "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Gældende revision". For yderligere forsigtighedsforanstaltninger ved håndtering henvises til "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Seneste udgivelse", eller de bestemmelser, der aktuelt anvendes i det enkelte land.
- Reagenserne må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- Kontrollér inden brug, at emballage og komponenter er intakte.

- Brug ikke strips, der er beskadiget: deformerede brønde, åbne poser med tørremiddel, ...
- Lad reagenser antage stuetemperatur før brug.
- Åbn forsigtigt ampullerne som følger:



- Anbring ampullen i ampulbeskytteren.
- Hold den beskyttede ampul i den ene hånd i lodret stilling (med den hvide plasthætte øverst).
- Tryk hættens så langt ned som muligt.
- Anbring spidsen af tommelfingeren på hættens rillede del og tryk udefter for at knække toppen af ampullen.
- Tag ampullen ud af ampulbeskytteren og læg beskytteren til side til senere brug.

* For ampul uden dråbehætte:

- Tag forsigtigt hættens af.

* For ampul med dråbehætte:

- Vend ampullen på hovedet og hold den i lodret stilling.
- Klem forsigtigt på hættens for at frigøre en dråbe eller for at overføre hele reagenset til dråbeflasken.

BEMÆRK : For senere brug anbefales det at trykke på dråbehætten, inden ampullen endevendes, for at overskydende reagensdråber kan suges tilbage og dermed undgå sprøjt med reagens på hætte eller fingre.

- De fremlagte præstationsdata blev fundet ved anvendelse af den procedure, der er angivet på denne indlægsseddel. Enhver ændring eller modifikation af denne procedure kan påvirke resultaterne.
- Ved fortolkning af testresultaterne skal der tages højde for patientens sygehistorie, prøvens kilde, stammens kolonimæssige og mikroskopiske morfologi, samt, om nødvendigt, resultaterne af eventuelle andre udførte prøver, specielt de antibakterielle følsomhedsmønstre.

OPBEVARINGSFORHOLD

Strips STR:

Strips skal opbevares ved 2-8°C indtil den udløbsdato, der er angivet på emballagen.

Medier MED:

Medier kan opbevares ved 2-30°C indtil den udløbsdato, der er angivet på pakningen.

Reagens :

Reagenset skal opbevares i mørke ved 2-8°C indtil den udløbsdato, der er angivet på pakningen.

Reagenset kan opbevares i op til en måned efter, at ampullen er åbnet og reagenset er overført til dråbeflasken (eller indtil udløbsdatoen, hvis denne ligger tidligere): **Notér åbningsdatoen på flaskens etiket.**

Reagenset ZYM B er meget lysfølsomt: kontroller reagensets udseende, inden det hældes på dråbeflaske. ZYM B reagenset er normalt gult til ravfarvet. Bortkast reagenset, hvis der observeres antydning af lyserødt i det (tegn på nedbrydning af aktive ingredienser). Reagenset bliver ødelagt hvis det udsættes for laboratorie lys i et kortere tidsrum (approx. 1 time).

Sørg for at reagenset efter brug straks sættes tilbage i køleskab.

BRUG AF REAGENSET

- Åbn ampullen med reagenset som angivet i afsnittet "Advarsler og forholdsregler" (ampul med dråbehætte).
- Inden hver ampul med reagens tages i brug, anbefales det at udføre en kvalitetskontroltest med stammen **ATCC® 33090™** som nævnt i afsnittet om kvalitetskontrol for at eliminere defekte reagenser.
- Tryk en dråbe af reagenset ud.
- Luk forsigtigt flasken efter brug og opbevar den som angivet i afsnittet "Opbevaringsbetingelser".

PRØVER

API® Listeria må ikke bruges direkte sammen med kliniske eller andre prøver.

De mikroorganismer, der skal identificeres, skal først isoleres på et egnet dyrkningsmedium i overensstemmelse med normale mikrobiologiske teknikker.

BRUGSANVISNING

Udvælgelse af kolonierne

- Kontrollér, at stammen hører til genus *Listeria* (korte Gram-positive stave, som er polymorfe, bevægelige ved 25°C, men ikke ved 37°C, katalase-positive og oxidase-negative).
- Da prøverne ofte indeholder en blanding af flere typer *Listeria*, er det tilrådeligt at fremstille en subkultur på blodagar med en velisoleret koloni. Inkubér pladen i 24 timer ved 36°C ± 2°C.

BEMÆRK: Følgende medier kan anvendes til at udtage prøver af kolonien, før API® Listeria-strip'en anvendes:

- ikke-selektivt blodagarmedium med en Columbia eller TSA-basis og med eller uden antibiotika ;
- selektive medier for *Listeria*, med undtagelse af McBride medium (som hæmmer den enzymatiske manifestation af bakterier på API® Listeria-strip'en). Hvis dette medium anvendes til isoleringsformål, skal der fremstilles en subkultur på blodagar.

Præparering af strip'en

- Præparer inkubationsæsken (bakke og låg) og fordel cirka 3 ml destilleret eller demineraliseret vand [eller eventuelt vand uden tilsætningsstoffer eller kemikalier, der kan frigive gasser (f.eks. Cl₂, CO₂, etc.)] i bakkens fordybninger for at skabe en fugtig atmosfære.
- Notér stammereferencen på bakkens forlængede klap. (Notér ikke referencen på låget, da det kan blive flyttet under proceduren).
- Fjern strip'en fra dens individuelle pakning.
- Anbring strip'en i inkubationsæsken.
- Kassér tørremidlet.

Præparering af inokulum

- Åbn ampullen med API® suspensionsmedium (2 ml) som angivet i afsnittet "Advarsler og forsigtighedsregler" (ampul uden dråbehætte).
- Saml nogle få velisolerede kolonier op ved hjælp af en pipette eller PSlpette. Det anbefales at anvende unge kulturer (18-24 timer gamle).
- Præparer en opløsning med en turbiditet svarende til **1 McFarland**. Denne suspension skal anvendes umiddelbart efter præpareringen.
- Bemærk hæmolysetyper og notér den på resultatarket. Dette gælder som en ekstra test.

Inokulation af strip'en

- Fordel bakteriesuspensionen i hvert af rørene, og undgå, at der dannes bobler (vip strip'en let fremad og anbring spidsen af pipetten eller PSlipetten mod siden af brønden) :
 - Fyld rør og brønd på **[DIM]** testen (cirka 100 µl), og **undgå, at der dannes en konveks overflade**.
 - Fyld kun rørdelen af testene ESC til TAG (ca. 50 µl).
- **BEMÆRK:** Kvaliteten af fyldningen er meget vigtig: Rør, der er utilstrækkeligt fyldt eller overfyldt, kan give falsk positive eller negative resultater.
- Luk inkubationsæsken.
- Inkubér i 18-24 timer ved 36°C ± 2°C under aerobe betingelser.

AFLÆSNING OG FORTOLKNING

Aflæsning af strip

- Tilsæt en dråbe ZYM B reagens til **[DIM]** testen.
- Aflæs alle reaktioner inden for 3 minutter ved at konferere med Aflæsningstabellen på denne indlægsseddel.
- Notér om reaktionerne er positive eller negative (+/-) på resultatarket.
- Notér også hæmolysetyper på resultatarket. Der tages ikke hensyn til resultatet af denne test ved fortolkning af strip'en.

Fortolkning

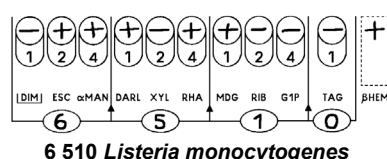
Identifikation opnås med den **numeriske profil**.

- Bestemmelse af den numeriske profil :

På resultatarket er de forskellige tests opdelt i grupper på tre, og der er tildelt en værdi på 1, 2 eller 4 for hver. Ved at addere værdierne svarende til positive reaktioner inden for den enkelte gruppe opnås der en 4-cifret numerisk profil, der udgør den numeriske profil.
- Identifikation :

Denne udføres ved hjælp af databasen (V1.2) * med den numeriske profil:

 - Find frem til profilen i listen på denne indlægsseddel. Denne liste er ikke altomfattende, så hvis profilen mangler, kontroller med nedenstående identifikationssoftware eller kontakt bioMérieux teknisk service.
 - * med **apiweb™** identifikationssoftware:
 - Indtast den 4-cifrede numeriske profil manuelt via tastaturet.



KVALITETSKONTROL

Medier, strips og reagenser kontrolleres systematisk på forskellige trin under fremstillingen.

En effektiv kvalitetskontrol kan anvendes til bekræftelse af acceptabel præstation af API® LISTERIA systemet efter levering/opbevaring. Denne metodologi kan udføres ved at følge ovenstående instruktioner for testning og imødegåelse af kriterier angivet i CLSI® M50-A Quality Control for Commercial Identification Systems.

Testning kan foretages med anvendelse af **Listeria innocua ATCC® 33090™** til vurdering af præstationen af DIM og XYL test'ne. Tests udført af bioMérieux har vist, at DIM og XYL test'ne er de mest ustabile i API® LISTERIA strip'en. Når strip'en testes, kan *Listeria innocua* ATCC 33090 anvendes til detektion af nedbrydning.

For de brugere, som skal udføre **omfattende kvalitetskontroltestning** af strip'en, er det bedst at anvende følgende tre stammer til demonstration af positiv og negativ reaktivitet for de fleste API® LISTERIA tests.

1. *Listeria innocua* ATCC® 33090™
2. *Listeria ivanovii* ATCC® BAA-139™
3. *Listeria monocytogenes* ATCC® 19115™

ATCC® : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	[DIM]	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	V	-	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Lejlighedsvis (-).

Profilerne er opnået efter dyrkning på Columbia fåreblodsagar.

Det er brugerens ansvar at foretage kvalitetskontrol i overensstemmelse med lokalt gældende bestemmelser.

METODENS BEGRÆNSNINGER

- API® Listeria-systemet er udelukkende beregnet til identifikation af de bakterier, der hører til genus *Listeria*, der er medtaget i databasen (se Identifikationstabel nederst på denne indlægsseddel). Det kan ikke benyttes til at identificere nogen andre mikroorganismer eller til at udelukke, at de er til stede.
- Der bør kun anvendes rene kulturer af en enkelt organisme.

FORVENTEDE RESULTATER

Se Identifikationsoversigten i slutningen af denne indlægsseddel for forventede resultater for de forskellige biokemiske reaktioner.

PRÆSTATIONER

643 indsamlingsstammer og stammer af forskellig oprindelse, som hører til species, der er inkluderet i databasen, blev testet:

- 98,91 % af stammerne blev korrekt identificeret (med eller uden supplerende tests).
- 0,62 % af stammerne blev ikke identificeret.
- 0,47 % af stammerne blev fejldificeret.

BORTSKAFFELSE AF AFFALD

Bortskaffelse af ubrugt ZYM B reagens skal ske ifølge proceduren for farligt kemisk affald.

Bortskaf alle brugte eller ubrugte reagenser (med undtagelse af ZYM B reagens) så vel som alle andre kontaminerede engangsmaterialer i henhold til procedurer for infektiøse eller potentielt infektiøse produkter.

Det er ethvert laboratoriums ansvar at håndtere det affald og spildevand, der opstår, i overensstemmelse med dets type og grad af farlighed, og at behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i henhold til gældende forskrifter.

AFLÆSNINGSTABEL

TESTS	AKTIVE INDHOLDSSTOFFER	MÆNGDE (mg/brønd)	REAKTIONER	RESULTATER	
				NEGATIVE	POSITIVE
DIM	Enzymatisk substrat	0,106	Differentiering <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	ZYM B / < 3 min	
				lys orange lyserød beige grå beige	orange
ESC	Esculin Ferricitrat	0,16 0,024	hydrolyse (ESCulin)	lysegul	Sort
αMAN	4-nitrofenyl-αD- mannopyranosid	0,045	α-MANnosidase	farveløs	gul
DARL	D-Arabitol	0,4	acidifikation (D-ARabitol)	rød / orange-rød	gul / gul-orange
XYL	D-Xylose	0,4	acidifikation (XYLose)		
RHA	L-Rhamnose	0,4	acidifikation (RHAmnose)		
MDG	Metyl-αD-glucopyranosid	0,4	acidifikation (Metyl-αD-Glucopyranosid)		
RIB	D-Ribose	0,4	acidifikation (RIBose)		
G1P	Glukose-1-Fosfat	0,4	acidifikation (Glukose-1-Fosfat)		
TAG	D-Tagatose	0,4	acidifikation (TAGatose)		

- De angivne mængder kan justeres, afhængigt af titeren for de anvendte råmaterialer.
- Visse brønde indeholder produkter af animalsk oprindelse, specielt peptoner.

PROCEDURE	s. I
LISTE OVER NUMERISKE PROFILER	s. II
IDENTIFIKATIONSTABEL	s. II
LITTERATURHENVISNINGER	s. III
SYMBOLFORTEGNELSE	s. IV


REVISIONSHISTORIKÆndringstyper :

I/R	Ikke relevant (første udgivelse)
Rettelse	Rettelse af fejl i dokumentation
Teknisk ændring	Tilføjelse, ændring og/eller fjernelse af oplysninger vedrørende produktet
Administrativt	Implementering af ikke-tekniske ændringer, som ses af brugeren
Bemærk:	<i>Mindre typografiske, grammatiske og formateringsmæssige ændringer er ikke medtaget i revisionshistorikken.</i>

Frigivelsesdato	Delnummer	Ændringstype	Ændringsresumé
2015/03	07887Q	Administrativt	KITTETS INDHOLD, PRØVER, SYMBOLFORTEGNELSE REVISIONSHISTORIK
		Teknisk ændring	SAMMENSÆTNING ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

BIOMÉRIEUX, det blå logo, API og **apiweb** er anvendte, under registrering og/eller indregistrerede varemærke tilhørende bioMérieux eller et af dets datterselskaber, eller en af dets virksomheder.
CLSI er et varemærke tilhørende Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.
ATCC-varemærket og handelsnavnet samt ethvert og alle ATCC-katalognumre er varemærker tilhørende American Type Culture Collection.
Alle andre handelsnavne og varemærker er den respective ejers ejendom.



 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



Zestaw do identyfikacji *Listeria*

WPROWADZENIE

API® Listeria jest wystandaryzowanym zestawem do identyfikacji *Listeria*, który wykorzystuje zminiaturyzowane testy, jak również specjalnie opracowaną bazę danych. Pełna lista organizmów, które można zidentyfikować przy użyciu tego systemu jest podana na końcu niniejszej instrukcji w Tabeli Identyfikacyjnej.

ZASADA DZIAŁANIA

Pasek API® Listeria składa się z 10 mikroprobówek zawierających odwodnione substraty, które umożliwiają przeprowadzenie testów enzymatycznych lub fermentacji cukrów.

Procesy metaboliczne zachodzące podczas inkubacji powodują zmiany koloru, które są albo spontaniczne, lub wywołane przez dodanie odczynników.

Po odczytaniu reakcji według Tabeli Odczytów, otrzymuje się identyfikację przez porównanie z Książką Kodów lub stosując program komputerowy.

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (Zestaw na 10 testów):

- 10 pasków API® Listeria (**STR**)
- 10 ampulek API® Suspension Medium, 2 ml (**MED**)
- 1 ampulka odczynnika ZYM B (**ZYM B**)
- 10 komór inkubacyjnych (**INCUB**)
- 10 kart wyników (**SHEET**)
- 1 Ulotka techniczna zawarta w opakowaniu lub dostępna do pobrania na stronie: www.biomerieux.com/techlib

SKŁAD

Pasek

Skład paska API® Listeria podano w tej instrukcji w Tabeli Odczytów.

Podłoże

MED (API®) Suspension Mediu 2 ml	Woda demineralizowana
---	-----------------------

Odczynnik

Odczynnik ZYM B * 8 ml	Fast Blue BB (aktywny składnik) 0.12 g Metanol 40 ml Dimetylosulfotlenek (DMSO) 60 ml
--	---

Wskazane stężenia mogą być regulowane w zależności od miana użytego surowego materiału.

* Hasło ostrzegawcze: **NIEBEZPIECZENSTWO**



Zwrot określający zagrożenie

- H226** : Łatwopalna ciecz i pary.
- H302** : Działa szkodliwie po połknięciu.
- H311** : Działa toksycznie w kontakcie ze skórą.
- H315** : Działa drażniąco na skórę.
- H319** : Działa drażniąco na oczy.
- H331** : Działa toksycznie w następstwie wdychania.
- H335** : Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.
- H370** : Powoduje uszkodzenie narządów.

Zwrot określający środki ostrożności

P210 : Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.

P280 : Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P301 + P312 : W PRZYPADKU POŁKNIECIA: w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.

P302 + P352 : W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: umyć dużą ilością wody.

P304 + P340 : W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania.

P305 + P351 + P338 : W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

Więcej informacji znajduje się w Karcie Charakterystyki Produktów Niebezpiecznych.

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

Odczynniki

- Standard McFarlanda (Ref. 70 900), Nr 1 w/g skali
- Oprogramowanie komputerowe do identyfikacji **apiweb™** (Ref. 40 011) (skontaktuj się z bioMérieux)

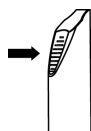
Materiały

- Pipety lub PSpipety
- Osłona na ampulkę
- Statyw do ampulek
- Wyposażenie zazwyczaj stosowane w laboratorium mikrobiologicznym

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Do diagnostyki *in vitro* i kontroli mikrobiologicznej.**
 - **Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.**
 - Należy zapoznać się z zagrożeniami "H" i ostrzeżeniami "P" wymienionymi powyżej.
 - Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadczenie pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego należy obchodzić się z nim zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
 - Wszystkie próbki pobrane od pacjentów, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności.
- Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Bieżąca wersja".
- Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.

- Nie używać odczynników przeterminowanych.
- Przed użyciem sprawdzić, czy opakowania poszczególnych składników są nienaruszone.
- Nie używać pasków uszkodzonych: odkształcone studzienki, otwarty środek odwadniający, ...
- Przed użyciem doprowadzić odczynniki do temperatury pokojowej.
- Ampułki otwierać ostrożnie w następujący sposób:



- Umieścić ampulkę w osłonie.
- Trzymać osłoniętą ampulkę w jednej ręce w pozycji pionowej (białą plastikową nasadką do góry).
- Wcisnąć nasadkę do dołu tak daleko jak to możliwe.
- Umieścić kciuk na wyłobionej części nasadki i nacisnąć od siebie tak, aby odłamać końcówkę ampulki znajdującą się wewnątrz nasadki.
- Wyjąć ampulkę z osłony, którą należy odłożyć do kolejnego użycia.

* Dla ampulki z nasadką bez kroplomierza :

- Ostrożnie zdjęć nasadkę.

* Dla ampulki z nasadką z kroplomierzem :

- Przekręcić ampulkę do góry dnem i pozostawić w pozycji pionowej.
- Ściskając delikatnie nasadkę przenieść po kropli cały odczynnik do butelki z kroplomierzem.

UWAGA : Przed ponownym użyciem, zaleca się ścisnąć nasadkę zanim odwróci się ampulkę do góry dnem, co pozwala na zassanie z powrotem wiszących kropli pozwala na uniknięcie zanieczyszczenia odczynnikami nasadki i palców.

- W celu osiągnięcia odpowiednich wyników należy stosować procedurę zawartą w opakowaniu. Każda modyfikacja procedury może wpływać na wyniki.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę historię choroby pacjenta, miejsce pobrania materiału, makro- i mikroskopową morfologię oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów, szczególnie lekowrażliwości.

PRZECHOWYWANIE

Paski STR:

Paski powinny być przechowywane w temperaturze 2-8°C do końca daty ważności podanej na opakowaniu.

Podłoża MED:

Podłoża powinny być przechowywane w temperaturze 2-30°C do końca daty ważności podanej na opakowaniu.

Odczynniki :

Odczynniki powinny być przechowywane w ciemności, w temperaturze 2-8°C do końca daty ważności podanej na opakowaniu.

Odczynniki można używać przez 1 miesiąc po otwarciu ampulki i przeniesieniu do butelki z kroplomierzem, (lub do upłynięcia daty ważności oznaczonej na opakowaniu, jeśli przypada ona wcześniej): **należy zanotować datę otwarcia na etykiecie butelki.**

Odczynnik ZYM B jest bardzo wrażliwy na światło: sprawdzić przejrzystość odczynnika przed przeniesieniem do butelki z kroplomierzem.

Odczynnik ZYM B prawidłowo ma żółty do bursztynowego kolor. Należy wyrzucić odczynnik, jeśli zaobserwuje się jakkolwiek odcień różowego (oznaka zepsucia). Wystawienie w laboratorium na światło, na krótki okres czasu (około 1 godz.), powoduje rozkład odczynnika.

Natychmiast po użyciu odczynnik umieszczać w lodówce.

SPOSÓB UŻYCIA ODCZYNNIKA

- Otworzyć ampulkę zgodnie z paragrafem "Środki ostrożności" (ampulka z nasadką z kroplomierzem).
- Przed użyciem każdej ampulki zaleca się przeprowadzenie kontroli jakości z użyciem szczepu **ATCC® 33090™** wskazanego w paragrafie Kontrola Jakości w celu wyeliminowania wadliwych odczynników.
- Odmierzyć jedną kroplę odczynnika.
- Po użyciu zamknąć dokładnie butelkę i przechowywać zgodnie z paragrafem "Przechowywanie".

MATERIAŁ DO BADAŃ

Paski API® Listeria nie są przeznaczone do bezpośrednich badań materiału klinicznego lub innych próbek.

Identyfikowany mikroorganizm musi być najpierw wyizolowany na podłożach hodowlanych zgodnie ze standardowymi technikami mikrobiologicznymi.

SPOSÓB WYKONANIA

Wybór kolonii bakteryjnych

- Sprawdzić, czy badany szczep należy do rodzaju *Listeria* (krótkie Gram-dodatnie pałeczki, które są polimorficzne, ruchliwe w 25°C, ale nie wykazują ruchu w 37°C, katalazo-dodatnie i oksydazo-ujemne).
- Ponieważ próbki zawierają często mieszaninę kilku typów *Listeria*, zaleca się założenie hodowli wtórnej na agarze krwawym używając dobrze wyizolowanej kolonii. Płytkę inkubować przez 24 godziny w 36°C ± 2°C.

UWAGA: Można używać następujących podłoży, aby uzyskać hodowle wykorzystywane na paskach API® Listeria:

- niewybiórcze podłoża agarowe z krwią, w których jako podstawa występują agar Columbia lub TSA, uzupełnione lub nie antybiotykami;
- wybiórcze podłoża dla *Listeria*, za wyjątkiem podłoża McBride, które hamuje aktywność enzymatyczną bakterii na pasku API® Listeria. Jeśli podłoże to zostanie użyte do wyizolowania bakterii, należy założyć hodowlę wtórną na agarze krwawym.

Przygotowanie paska

- Przygotować komorę inkubacyjną (podstawkę i pokrywkę) i nanieść około 3 ml destylowanej lub demineralizowanej wody [lub jakiegokolwiek wody bez dodatków lub związków chemicznych, z których mogą wydzielać się gazy (np. Cl₂, CO₂, itd.)] na podstawkę w kształcie plastra miodu, w celu wytworzenia komory wilgotnej.
- Zanotować numer szczepu na wydłużonej części podstawki. (Nie notować numeru na pokrywce, ponieważ może ona ulec zamianie w trakcie badań).
- Wyjąć pasek z indywidualnego opakowania.
- Umieścić pasek w komorze inkubacyjnej.
- Usunąć środek odwadniający.

Przygotowanie inokulum

- Otworzyć ampułkę API® Suspension Medium (2 ml) zgodnie z paragrafem "Środki ostrożności" (ampułka z nasadką bez kropłomierza).
- Używając pipety lub PSlpety, pobrać kilka dobrze wyizolowanych kolonii. Zaleca się używanie młodych hodowli (18-24 godzinnych).
- Przygotować zawiesinę bakteryjną o zmętnieniu odpowiadającym **1 w skali McFarlanda**. Zawiesinę tę użyć natychmiast po sporządzeniu.
- Sprawdzić typ hemolizy i zanotować na karcie wyników. Stanowi ona test uzupełniający.

Napełnianie paska

- Nanieść zawiesinę bakteryjną do mikroprobówek, unikając tworzenia pęcherzyków (przechylić pasek delikatnie do przodu i umieścić końcówkę pipety lub PSlpety przy bocznej ścianie wgłębienia):
 - Napełnić probówkę i wgłębienie testu **[DIM]** (około 100 µl), **unikając tworzenia menisku wypukłego**.
 - Napełnić wyłączanie probówki testów od ESC do TAG (około 50 µl).

UWAGA: Jakość napełnienia jest bardzo ważna: nadmierne lub niedostateczne wypełnienie probówek może dawać fałszywie pozytywne lub fałszywie negatywne wyniki.

- Zamknąć komorę inkubacyjną.
- Inkubować przez 18-24 godzin w 36°C ± 2°C w warunkach tlenowych.

ODCZYT I INTERPRETACJA

Odczyt paska

- Dodać kroplę odczynnika ZYM B do testu **[DIM]**.
- Odczytać wszystkie reakcje w ciągu 3 minut korzystając z Tabeli Odczytu zawartej w instrukcji.
- Zanotować, czy wynik jest pozytywny, czy negatywny (+/-) na karcie wyników.
- Na karcie wyników zanotować również typ hemolizy. Wynik tego testu nie jest brany pod uwagę w interpretacji paska.

Interpretacja

Identyfikację otrzymuje się z **profilu numerycznego**.

- Określanie profilu numerycznego:

Na karcie wyników testy podzielone są na grupy po trzy, każdy odpowiednio o wartości 1, 2 lub 4. Przez dodanie do siebie wartości odpowiadających pozytywnym reakcjom w obrębie każdej grupy otrzymuje się 4 cyfrowy profil numeryczny.

- Identyfikacja:

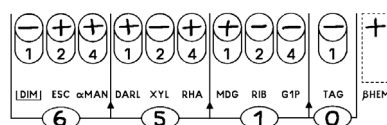
Uzyskuje się ją używając bazy danych (V1.2)

- * z profilu numerycznego:

- Sprawdzić profil na liście w tej instrukcji; lista ta nie wyczerpuje wszystkich możliwości, więc jeśli brak jest tam profilu, należy zastosować program komputerowy wskazany poniżej lub przez przedstawiciela firmy bioMérieux.

- * z oprogramowania komputerowego **apiweb™**:

- Wprowadzić 4 cyfrowy profil numeryczny manualnie przy użyciu klawiatury.



6 510 *Listeria monocytogenes*

KONTROLA JAKOŚCI

Podłoża, paski i odczynniki są systematycznie poddawane kontroli jakości na różnym poziomie procesu produkcji.

Do oceny systemu API® LISTERIA po transporcie/magazynowaniu może być używana **Częściowa Kontrola Jakości**. Ta metodyka może być wykonywana według załączonych instrukcji badania w celu spełnienia kryteriów Kontroli Jakości dla komercyjnych systemów identyfikacji mikrobiologicznej CLSI® M50-A.

Do oceny testów DIM oraz XYL użyć można szczepu wzorcowego *Listeria innocua* ATCC® 33090™. Badania prowadzone przez bioMérieux wykazały, że testy DIM i XYL są najmniej trwale w zestawie API® LISTERIA. Szczepu *Listeria innocua* ATCC 33090 można używać do wykrycia rozkładu.

Dla użytkowników, którzy zobowiązani są prowadzić **Pełną Kontrolę Jakości** pasków zaleca się trzy następujące szczepy dla sprawdzenia dodatniej i ujemnej reaktywności większości testów zestawu API® LISTERIA.

1. *Listeria innocua* ATCC® 33090™
2. *Listeria ivanovii* ATCC® BAA-139™
3. *Listeria monocytogenes* ATCC® 19115™

ATCC®: American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	[DIM]	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG
1.	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
2.	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
3.	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-

* Sporadycznie (-).

Profile otrzymane z hodowli na agarze Columbia z krwią baranią.

Użytkownik jest zobowiązany do prowadzenia kontroli jakości zgodnie z lokalnymi przepisami.

OGRANICZENIA METODY

- System API® Listeria służy wyłącznie do identyfikacji bakterii należących do rodzaju *Listeria* zawartych w bazie danych (patrz Tabela Identyfikacyjna na końcu tej instrukcji). Nie może być używany do identyfikacji innych mikroorganizmów lub wykluczania ich obecności.
- Należy używać tylko czysto wyizolowanych bakterii.

ZAKRES SPODZIEWANYCH WYNIKÓW

W Tabeli Identyfikacyjnej na końcu instrukcji sprawdzić zakres spodziewanych wyników dla różnych testów biochemicznych.

OCENA TESTU

Przebadano 643 szczepów, z kolekcji i różnych źródeł, należących do gatunków zawartych w bazie danych :

- 98.91 % szczepów prawidłowo zidentyfikowano (z lub bez testów uzupełniających).
- 0.62 % szczepów nie zidentyfikowano.
- 0.47 % zostało nieprawidłowo zidentyfikowanych.

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI

Odczynnik ZYM B należy pozbywać się zgodnie z procedurą dla niebezpiecznych związków chemicznych.

Zużytych lub niezaużytych odczynników (innych niż odczynnik "ZYM B"), jak również innych skażonych jednorazowych materiałów należy pozbywać się zgodnie z procedurami dotyczącymi produktów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekować je i usuwać (złocić dezynfekcję i usuwanie) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

TABELA ODCZYTÓW

TEST	AKTYWNE SKŁADNIKI	STĘŻENIE (mg/probówka)	REAKCJE/ENZYMY	WYNIKI	
				NEGATYWNY	POZYTYWNY
DIM	Substrat enzymatyczny	0,106	Rozróżnienie <i>L. innocua</i> / <i>L. monocytogenes</i>	<u>ZYM B / < 3 min</u>	
				blad pomarańczowy różowo-beżowy szaro-beżowy	pomarańczowy
ESC	Eskulina Cytrynian żelaza	0,16 0,024	hydroliza (eskulina)	blad żółty	czarny
αMAN	4-nitrofenylo-αD- mannopiranozyd	0,045	α-mannozydaza	bezbarwny	żółty
DARL	D-arabitol	0,4	zakwaszenie (D-arabitol)	czerwony / pomarańczowo- czerwony	żółty / żółto- pomarańczowy
XYL	D-ksyloza	0,4	zakwaszenie (ksyloza)		
RHA	L-ramnoza	0,4	zakwaszenie (ramnoza)		
MDG	Metylo-αD- glukopiranozyd	0,4	zakwaszenie (metylo-αD-Glukopiranozyd)		
RIB	D-ryboza	0,4	zakwaszenie (ryboza)		
G1P	Glukoza-1-fosforan	0,4	zakwaszenie (Glukoza-1-fosforan)		
TAG	D-tagatoza	0,4	zakwaszenie (tagatoza)		

- Wskazane stężenia mogą być regulowane w zależności od miana użytego surowego materiału.
- Niektóre mikroprobówki zawierają produkty pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza peptony.

METODYKA	str. I
LISTA PROFILI NUMERYCZNYCH	str. II
TABELA IDENTYFIKACYJNA	str. II
PIŚMIENNICTWO	str. III
TABELA SYMBOLI	str. IV


TABELA HISTORII ZMIANTyp zmiany

N/D	Nie dotyczy (pierwsze wydanie)
Poprawka	Korekta nieprawidłowości w dokumentacji
Zmiana Techniczna	Uzupełnienie, korekta i/lub usunięcie informacji dotyczących produktu
Administracyjne	Wdrożenie zmian innych niż techniczne, istotnych dla użytkownika
Uwaga:	<i>Historia zmian nie zawiera drobnych zmian graficznych, gramatycznych oraz dotyczących formatowania.</i>

Data wydania	Numer serii	Typ zmiany	Zestawienie zmian
2015/03	07887Q	Administracyjna	ZAWARTOŚĆ ZESTAWU, MATERIAŁ DO BADAŃ, TABELA SYMBOLI TABELA HISTORII ZMIAN
		Zmiana Techniczna	SKŁAD OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

BIOMERIEUX i jego niebieskie logo, API i **apiweb** są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącym do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.
CLSI jest znakiem towarowym należącym do Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.
Znak i nazwa handlowa ATCC oraz wszystkie numery katalogowe ATCC są znakami towarowymi należącymi do American Type Culture Collection.
Wszystkie pozostałe nazwy i znaki towarowe są własnością ich posiadaczy.

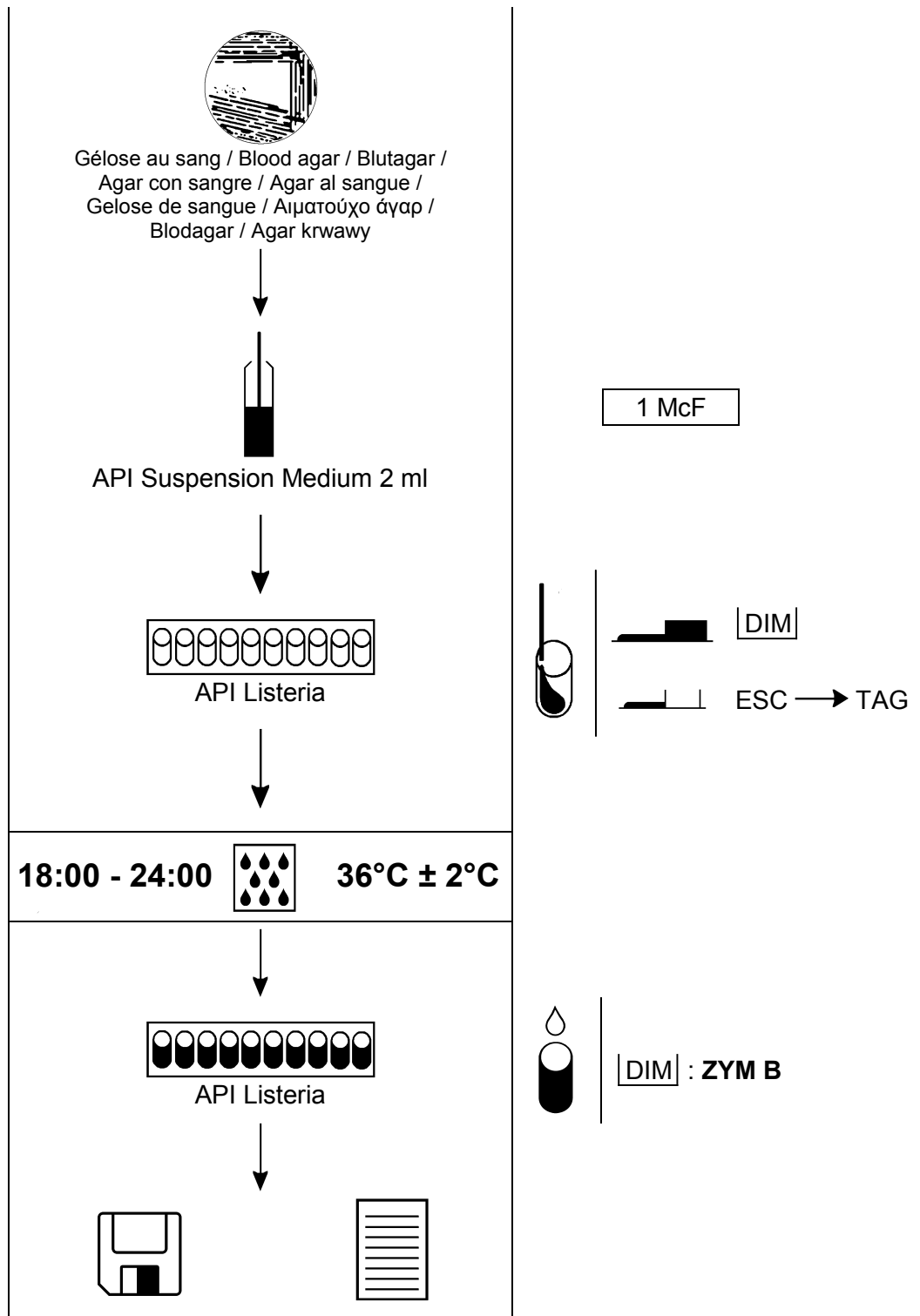


 **bioMérieux SA**
376 Chemin de l'Orme
69280 Marcy-l'Etoile - France

673 620 399 RCS LYON
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com



**METHODOLOGIE / PROCEDURE / METHODIK / TECNICA / PROCEDIMENTO /
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ / METOD / METODYKA**



**LISTE DES PROFILS NUMÉRIQUES / LIST OF NUMERICAL PROFILES /
LISTE DER NUMERISCHEN PROFILE / LISTA DE PERFILES NUMÉRICOS /
LISTA DEI PROFILI NUMERICI / LISTA DOS PERFIS NUMÉRICOS /
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΦΙΛ / LISTA ÖVER NUMERISKA PROFILER /
PROFILLISTE / LISTA PROFILI NUMERYCZNYCH**

2 150	<i>Listeria ivanovii</i>	3 750	<i>Listeria ivanovii</i>
2 170	<i>Listeria ivanovii</i>	3 770	<i>Listeria ivanovii</i>
2 250	<i>Listeria ivanovii</i>	6 010	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 310	<i>Listeria seeligeri/ivanovii</i>	6 110	<i>Listeria monocytogenes/innocua</i>
2 311	<i>Listeria welshimeri</i>	6 120	<i>Listeria grayi</i>
2 330	<i>Listeria ivanovii</i>	6 130	<i>Listeria grayi</i>
2 340	<i>Listeria ivanovii</i>	6 150	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 350	<i>Listeria ivanovii</i>	6 310	<i>Listeria seeligeri/welshimeri</i>
2 370	<i>Listeria ivanovii</i>	6 311	<i>Listeria welshimeri</i>
2 410	<i>Listeria monocytogenes</i>	6 410	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 510	<i>Listeria monocytogenes</i>	6 450	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 550	<i>Listeria monocytogenes/ivanovii</i>	6 510	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 711	<i>Listeria welshimeri</i>	6 520	<i>Listeria grayi</i>
2 750	<i>Listeria ivanovii</i>	6 550	<i>Listeria monocytogenes</i>
2 770	<i>Listeria ivanovii</i>	6 701	<i>Listeria welshimeri</i>
3 110	<i>Listeria seeligeri/innocua/ivanovii</i>	6 711	<i>Listeria welshimeri</i>
3 120	<i>Listeria grayi</i>	7 110	<i>Listeria innocua</i>
3 130	<i>Listeria grayi/ivanovii</i>	7 111	<i>Listeria welshimeri</i>
3 150	<i>Listeria ivanovii</i>	7 120	<i>Listeria grayi</i>
3 170	<i>Listeria ivanovii</i>	7 130	<i>Listeria grayi</i>
3 210	<i>Listeria seeligeri/ivanovii</i>	7 301	<i>Listeria welshimeri</i>
3 250	<i>Listeria ivanovii</i>	7 310	<i>Listeria seeligeri/welshimeri/innocua</i>
3 270	<i>Listeria ivanovii</i>	7 311	<i>Listeria welshimeri</i>
3 300	<i>Listeria seeligeri/ivanovii</i>	7 320	<i>Listeria grayi</i>
3 310	<i>Listeria seeligeri/ivanovii</i>	7 330	<i>Listeria grayi</i>
3 311	<i>Listeria welshimeri</i>	7 500	<i>Listeria innocua</i>
3 330	<i>Listeria ivanovii</i>	7 510	<i>Listeria innocua</i>
3 340	<i>Listeria ivanovii</i>	7 511	<i>Listeria welshimeri</i>
3 350	<i>Listeria ivanovi</i>	7 520	<i>Listeria grayi</i>
3 360	<i>Listeria ivanovii</i>	7 530	<i>Listeria grayi</i>
3 370	<i>Listeria ivanovii</i>	7 701	<i>Listeria welshimeri</i>
3 510	<i>Listeria innocua</i>	7 710	<i>Listeria welshimeri/innocua</i>
3 520	<i>Listeria grayi</i>	7 711	<i>Listeria welshimeri</i>
3 711	<i>Listeria welshimeri</i>	7 720	<i>Listeria grayi</i>
3 730	<i>Listeria ivanovii</i>		

**TABLEAU D'IDENTIFICATION / IDENTIFICATION TABLE / PROZENTTABELLE /
TABLA DE IDENTIFICACION / TABELLA DI IDENTIFICAZIONE / QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO /
ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ / IDENTIFIERINGSTABELL / IDENTIFIKATIONSTABEL /
TABELA IDENTYFIKACYJNA**

% de réactions positives après 18-24 heures à 36°C ± 2°C / % of positive reactions after 18-24 hours at 36°C ± 2°C /
% der positiven Reaktionen nach 18-24 Std. bei 36°C ± 2°C / % de las reacciones positivas después de 18-24 horas a 36°C ± 2°C /
% di reazioni positive dopo 18-24 ore a 36°C ± 2°C / % das reacções positivas após 18-24 horas a 36°C ± 2°C /
% θετικών αντιδράσεων μετά από 18-24 ώρες στους 36°C ± 2°C / % positiva reaktioner efter 18-24 timmar vid 36°C ± 2°C /
% positive reaktioner efter 18-24 timer ved 36°C ± 2°C / % reakcji pozytywnych po 18-24 godzinach w 36°C ± 2°C

API LISTERIA	V1.2	DIM	ESC	αMAN	DARL	XYL	RHA	MDG	RIB	G1P	TAG	βHEM*
<i>Listeria grayi</i>		99	100	99	100	1	16	33	100	0	0	-
<i>Listeria innocua</i>		99	100	98	100	2	66	98	0	0	0	-
<i>Listeria ivanovii</i>		88	100	0	99	97	4	99	33	91	0	++
<i>Listeria monocytogenes</i>		0	100	98	97	0	98	100	0	5	0	+(-)
<i>Listeria seeligeri</i>		97	100	5	99	99	0	99	0	0	0	+
<i>Listeria welshimeri</i>		90	100	96	100	98	76	99	0	0	97	-

* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology p./str. 1241











LEGENDE / KEY / LEGENDE / LEYENDA / LEGENDA / ΚΛΕΙΔΙ / NYCKEL / NØGLE (βHEM) :

++	100 %	+	> 90 %	+ (-)	70 - 90 %	-	< 10 %
----	-------	---	--------	-------	-----------	---	--------

**BIBLIOGRAPHIE / LITERATURE REFERENCES / LITERATUR /
BIBLIOGRAFIA / ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ / REFERENSLITTERATUR /
LITTERATURHENVISNINGER / PIŚMIENICTWO**

1. BEUMER R.R., TE GIFFEL M.C., KOK M.T., ROMBOUITS F.M.
Confirmation and identification of *Listeria* spp.
(1996) Lett. Appl. Microbiol., 22 (6), 448-52.
2. BILLE J.
Listeria.
(1991) Méd. et Hyg., 49, 621-624.
3. BILLE J., CATIMEL B., BANNERMAN E. *et al.*
API LISTERIA, a new and promising One Day System to Identify *Listeria* isolates.
(1992) Appl. Environ. Microbiol., 58, 1857-1860.
4. BOERLIN P., ROCOURT J., PIFFARETTI J.C.
Taxonomy of the Genus *Listeria* by using Multilocus Enzyme Electrophoresis.
(1991) Int. J. Syst. Bacteriol., 41, 59-64.
5. FUJISAWA T., MORI M.
Evaluation of media for determining haemolytic activity and that of API Listeria system for identifying strains of *Listeria monocytogenes*
(1994) J. Clin. Microbiol., 32 (4), 1127-9.
6. KERR K.G., ROTOWA N.A., HAWKEY P.A. *et al.*
Evaluation of the Mast ID and API 50 CH Systems for Identification of *Listeria* spp.
(1990) Appl. Environ. Microbiol., 56, 657-660.
7. MacGOWAN A.P., MARSHALL R.J., REEVES D.S. *et al.*
Evaluation of the API 20 STREP System for Identifying *Listeria* species.
(1989) J. Clin. Pathol., 42, 548-550.
8. MacLAUCHLIN J.
The identification of *Listeria* species
(1997) Int. J. Food Microbiol., 38 (1), 77-81.
9. ROCOURT J., CATIMEL B.
Caractérisation biochimique des espèces du genre *Listeria*.
(1985) Zbl. Bakt. Hyg., A 260, 221-231.
10. ROCOURT J.
Listériose humaine : épidémiologie et prévention.
(1991) La lettre de l'infectiologue, VI, 14-18.
11. SNEATH P.H.A., MAIR N.S., SHARPE M.E., HOLT J.G.
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.
Ninth Edition Vol. 2
(1986) Williams and Wilkins, Co., Baltimore, MD.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute, M50-A, Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline, Vol 28 n° 23.

**TABLE DES SYMBOLES / INDEX OF SYMBOLS / SIMBOLE / CUADRO DE SIMBOLOS /
TABELLA DEI SIMBOLI / QUADRO DOS SÍMBOLOS / ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ /
SYMBOLER / SYMBOLFORTEGNELSE / TABELA SYMBOLI**

Symbole / Symbol Símbolo / Simbolo Σύμβολο	Signification / Meaning / Bedeutung Significado / Significato / Επεξήγηση Betydelse / Betydning / Znaczenie
	Référence du catalogue / Catalogue number (GB) / Catalog number (US) Bestellnummer / Número de catálogo / Numero di catalogo Referência de catálogo / Αριθμός καταλόγου Katalognummer / Katalognummer / Numer katalogowy
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / <i>In Vitro</i> Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> <i>In Vitro</i> Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Medicintekniska produkter för <i>in vitro</i> diagnostik Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik / Wyrób do diagnostyki <i>In Vitro</i>
	Fabricant / Manufacturer / Hersteller / Fabricante Fabbicante / Κατασκευαστής / Tillverkare / Producent
	Limites de température / Temperature limit Temperaturbegrenzung / Limite de temperatura Limiti di temperatura / Limites de temperatura Περιορισμοί θερμοκρασίας / Temperaturbegränsning Temperaturbegrænsning / Przestrzegać zakresu temperatury
	Utiliser jusque / Use by date / Verwendbar bis Fecha de caducidad / Utilizzare entro / Prazo de validade Ημερομηνία λήξης / Använd före / Holdbar til / Użyć przed
	Code du lot / Batch code / Chargenbezeichnung / Código de lote Codice del lotto / Código do lote / Αριθμός Παρτίδας Lot nummer / Lotnummer / Kod partii
	Consulter les instructions d'utilisation / Consult Instructions for Use Gebrauchsanweisung beachten / Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte as instruções de utilização Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Se handhavandebeskrivningen Se brugsanvisning / Sprawdz w instrukcji obsługi
	Contenu suffisant pour "n" tests / Contains sufficient for <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Conteúdo suficiente para "n" ensaios Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις / Rækker till "n" antal tester Indeholder tilstrækkeligt til "n" test / Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Conserver à l'abri de la lumière / Protect from light Lichtgeschützt lagern / Conservar protegido de la luz Conservare al riparo della luce / Conservar ao abrigo da luz Προστατέψτε από το φως / Skyddas mot ljus Beskyttes mod lys / Chronić przed światłem
	Date de fabrication / Date of manufacture / Herstellungsdatum / Fecha de fabricación / Data di fabbricazione / Data de fabrico / Ημερομηνία Παραγωγής / Tillverkningsdatum / Produktionsdato / Data produkcji