

# ***Analys av Listeria***

Analysmetoder

Val av metod

Planering av provtagning

Hanna Tidblom

FOOD DIAGNOSTICS AB

031-335 13 66

[hanna@food-diagnostics.se](mailto:hanna@food-diagnostics.se)

# Rengöringskontroll

På en REN yta växer inga bakterier  
→ att veta att rengöringen fungerar  
är första steget mot kontroll på Listeria.

ATP-mätning med SystemSURE Plus  
och Ultraspap ger snabbt och säkert  
svar!



# Metodik mikrobiologi

- **Klassisk mikrobiologi**

Odling på agar lämplig för de aktuella bakterierna, med varierande specificitet. Konfirmering ofta nödvändig.

- **Chromogena substrat**

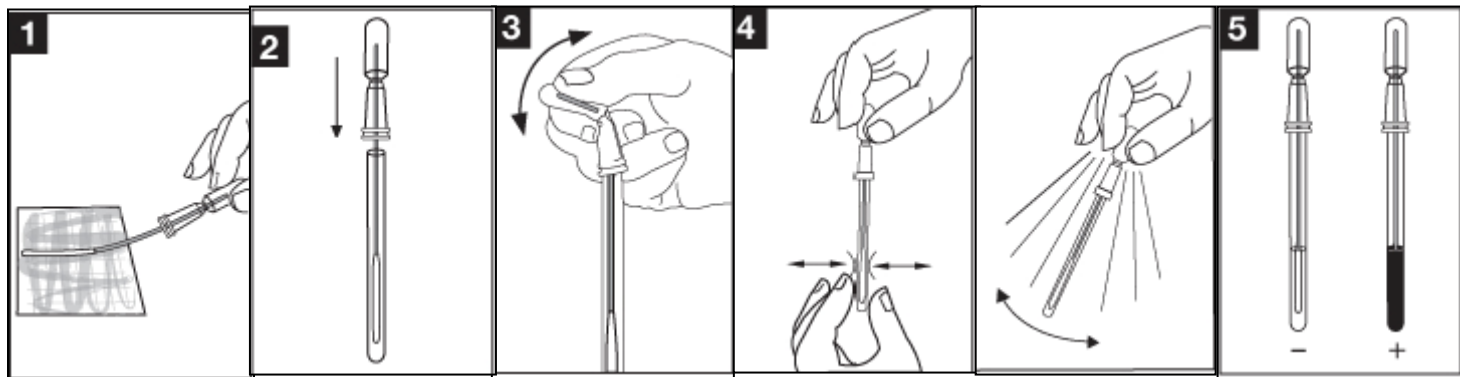
Agar innehållande enzymsubstrat, kopplat till en färgreaktion. Hög specificitet då enzymen som utnyttjas ofta är arts specifika.

- **Realtids-PCR**

Molekylärbiologisk metod som amplifierar och mäter mängden DNA/RNA i ett prov. Resultatet åskådliggörs mha fluorescens.

# Svabbar för omgivningsprover

- Enkla att använda!
- Snabbt resultat (24-48h)
- Tar liten plats både vid förvaring och inkubering
- Slutet system vilket minimerar risken för kontaminering



# Insite Listeriasvabb

- Detekterar *Listeria spp.* (1-10 cfu)
- Enkel avläsning
- Fungerar även vid hög bakgrundsflora
- Validerad buljong (AOAC-RI)
- Allt-i-ett, det enda som behövs är en liten inkubator (37°C)
- Resultat 30-48h



# SwabSURE ListeriaP

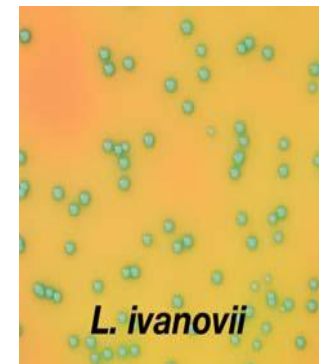
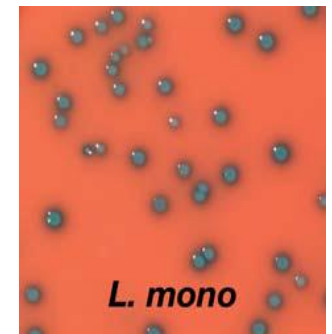
NYHET

- Detekterar patogena Listeria;  
*L.monocytogenes*, *L.ivanovii* (1cfu)
- Enkel avläsning
- Campden BRI-validerad
- Allt-i-ett, det enda som behövs är en liten inkubator (37°C)
- Resultat 24-48h

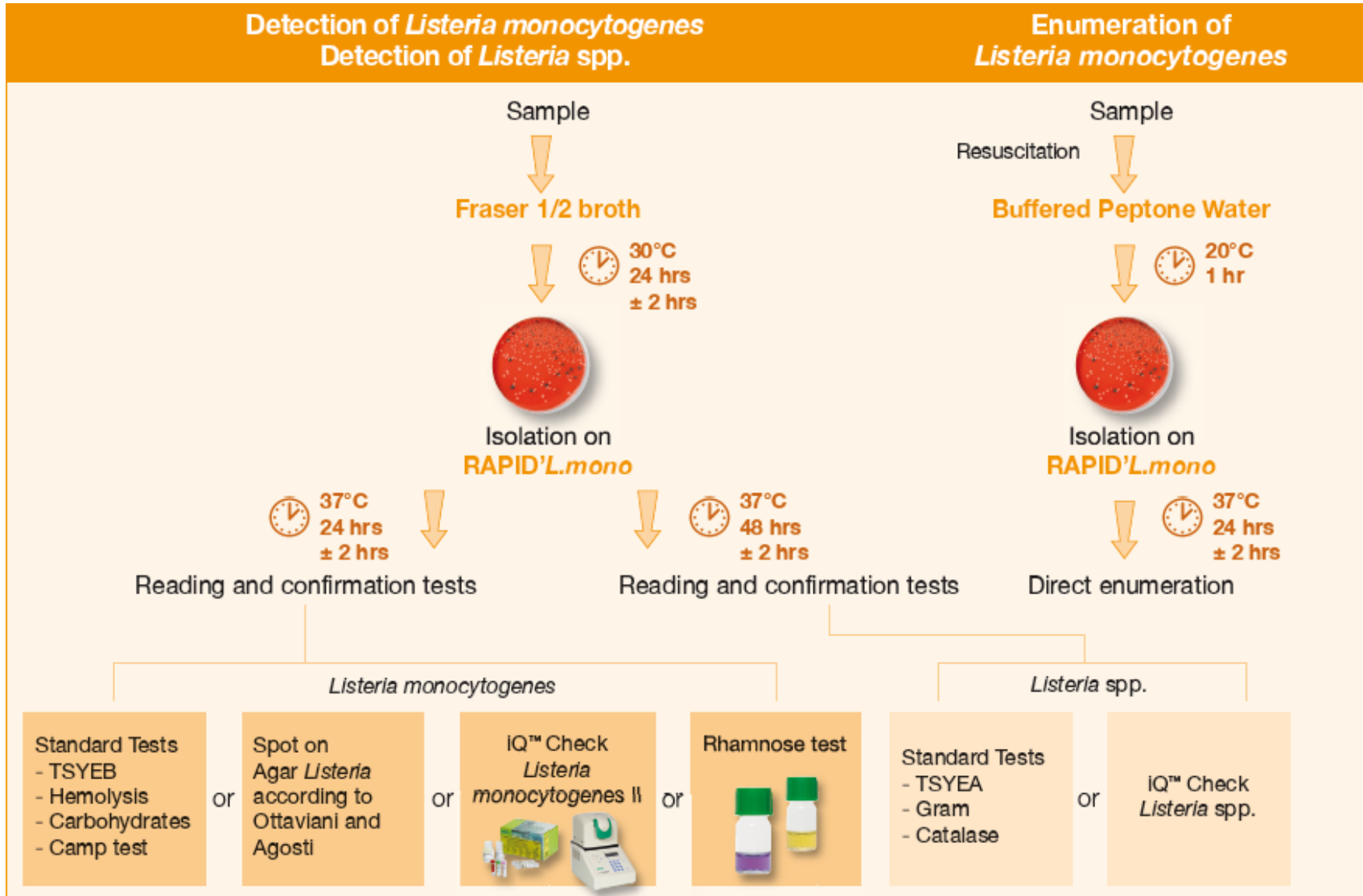


# RAPID'L.mono

- Chromogent substrat
- Validerad för samtliga provtyper
- Kvalitativ analys 48h
- Kvantitativ analys 24h
- Skiljer på *L.monocytogenes* och *L.ivanovii*



# RAPID'L.mono

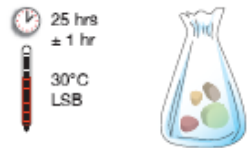




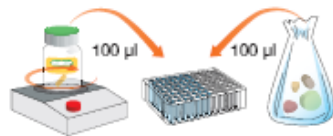
# iQ-Check realtids-PCR

- iQ-Check *Listeria monocytogenes* II
- iQ-Check *Listeria* spp.
- Enkla protokoll anpassade för livsmedelsanalys
- Instrument, programvara, kit
- Resultat inom 24h
- Validerade metoder





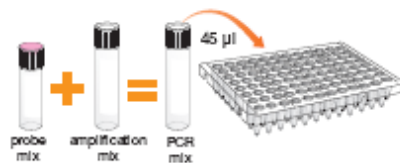
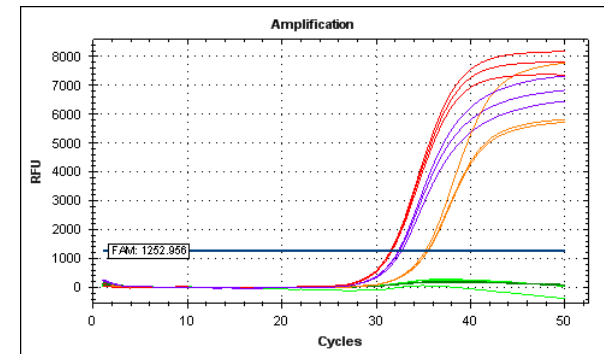
- Enrich the sample in LSB (25 g in 225 ml), 25 hrs ± 1 hr at 30°C  
(Avoid including large fragments of food debris, and shaking stomacher bag before collecting)



- Lysis reagent must be constantly stirring in order to keep it in suspension
- Dispense 100 µl of the complete lysis reagent (reagent A + reagent F) in the deepwell plate by using a micropipette with large opening 200 µl filter tips
- Collect 100 µl of enriched sample and add to the deepwell plate
- Seal the deepwell plate using pre-pierced sealing tape



- Place the deepwell plate in the thermomixer
- Incubate at 95-100°C for 15-20 min at 1,300 rpm
- Cool the deepwell plate
- During cooling, proceed to the next step



- Prepare the PCR mix (See PCR mix calculation guide)
- Distribute the PCR mix (45 µl) in the PCR microplate



- Transfer 5 µl of the supernatant by using the multichannel micropipette, from the deepwell to the PCR microplate
- Distribute the controls (5 µl)
- Check there are no bubbles
- Seal the microplate



- Set up software
- Create the plate setup
- Place the microplate into the thermocycler
- Start the amplification by clicking on "Run"

# Val av metod - vad tänka på?

- Syfte med analys?
- Vilka provtyper?
- Hur snabbt behöver vi resultat?
- Noggrannhet?
- Kompetens?
- Förutsättningar?
- Krav på validering?

# Planering av provtagning

”Hur ofta prover tas från omgivning och produkt varierade dock mellan anläggningarna, från varje vecka till en gång om året eller inte alls. Utebliven eller gles provtagning innebär att eventuella brister i hygienrutiner inte kommer att upptäckas, vilket medför ökad risk för att livsmedelsprodukter med *L.monocytogenes* ska komma ut i handeln”

*(Riksprojekt 2010 "Listeria monocytogenes i kyld och ätfärdig mat")*

# Planering av provtagning

- Direktiv EG 2073/2005, mikrobiologiska kriterier för livsmedel, reglerar detta
- Inga klara "krav" på analys, det är upp till livsmedelsproducenten att "garantera säkra livsmedel"

"Livsmedel får inte innehålla mikroorganismer eller deras toxiner eller metaboliter i mängder som utgör en oacceptabel risk för människors hälsa"

"Livsmedelsföretag är skyldiga att dra tillbaka osäkra livsmedel från marknaden"

"De livsmedelsföretagare som producerar ätfärdiga livsmedel som kan utgöra en folkhälsofarisk när det gäller *Listeria monocytogenes* skall, som en del av sina provtagningssystem, kontrollera förekomst av *Listeria monocytogenes* i produktionslokaler och utrustning"

"Prov skall tas från produktionslokaler och utrustning som används för produktion av livsmedel, när sådana prov måste tas för att man skall kunna se till att kriterierna uppfylls"

# Planering av provtagning

- HACCP
- Riskprodukt?
- Typ av produktion?
- Vad innebär återtagande av produkt?
  - Direkt kostnad
  - Skadat varumärke – indirekt kostnad