Sensilist AS | www.sensilist.com

TILTENKT BRUK

Sensilist er en metode for deteksjon og opptelling av lave konsentrasjoner av *Listeria monocytogenes* i mat og miljøprøver fra produksjonsbedrifter.

PRINSIPP

Metoden er basert på vekst av bakterien i et selektivt medium Sensilist Broth, som inneholder komponenter som gir en fargeforandring fra rød til gul (fig. 1) når bakterien har vokst til en tilstrekkelig mengde i buljongen. Både *Listeria monocytogenes* og *Listeria innocua* gir fargeforandring, så det er nødvendig med konfirmering av *L. monocytogenes* for å skille mellom de to artene.

Sensilist er både en kvalitativ og kvantitativ metode. Kvantifisering av lave konsentrasjoner muliggjøres ved at en stor mengde prøve inkuberes i buljong som så overføres til et kvantifiseringsbrett, som gir grunnlag for beregning med MPN-metoden (Most Probable Number).

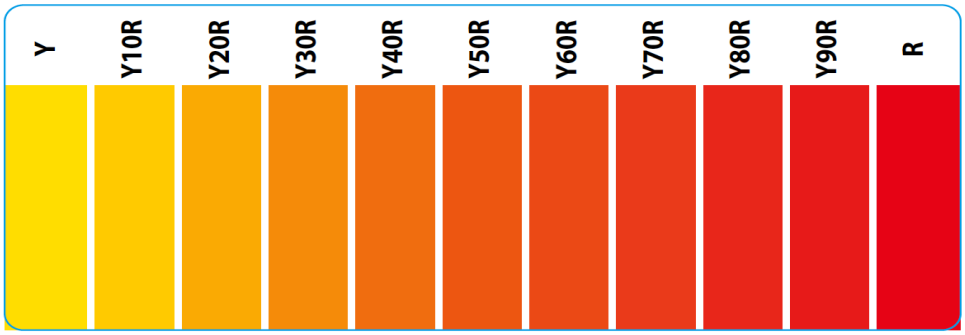

Figure 1. Fargekart for avlesning av fargeforandring fra rød til gul.

BRUKERE

Metoden er designet til bruk for kvalifisert personell med tilpasset opplæring.

FRAMGANGSMÅTE

Kvalitativ analyse

<u>Produkttprøver</u>

1. Vei opp 25 g prøve i en stomacher pose eller et prøvebeger.
2. Tilsett 225 ml Sensilist broth.
3. Homogeniser prøven ved å riste, klemme eller bruk stomacheren, uten at det blir for mye skum i prøven.

4. For korrekt avlesning av fargen, må prøven merkes med fargeetikett på hver prøve. Marker startfargen på etiketten (fig. 1). Fargen må markeres med en gang prøven er blandet, og fargeforandringen vurderes under inkubering.
5. Inkuber posen eller begeret på 37^{0}C±1°C i 48 t, eller til synlig fargeendring til gul, se punkt 6.
    a. Les av prøven etter 24 og etter 48 timer.
6. Instruksjon for presumptive positivt resultat av *Listeria monocytogenes* er (fig. 1):
    a. Fargeforandring på minst to nivå mot gul på fargekartet etter inkubering. (f.eks fra Y60R til Y40R). For konfirmering se eget punkt side 3.
    b. Alle prøver med farge Y10R eller Y.

<u>Miljøprøver</u>

1. Overfør svaberprøven til en pose eller beger eller i en flaske (vann).
2. Tilsett Sensilist Broth (1:10 dilution).
    a. Prøvemengden kan være max 10 % av den totale mengden buljong, som betyr at buljongen må dekke prøven. For eksempel kan 1 svaber med mye vanninnhold ta opp buljong og gjøre at fargen blir mindre klar. I sånne tilfeller må det benyttes mer Sensilist buljong eller mindre vann i svaberprøven, for å få tydelig fargeforandring.
3. Homogeniser ved å riste, klemme eller bruk stomacher, uten å lage for mye skum.
4. For korrekt avlesing av fargen, fest en fargeetikett på hver prøve. Merk startfargen på etiketten (fig.1). Fargen må markeres med en gang etter blanding, og fargeforandringen vurderes under inkubering.
5. Inkuber posen eller begeret på 37^{0}C inntil 48 timer, eller inntil synlig fargeforandring til gul farge, se punkt 6.
    a. Les av fargen etter 24 og etter 48 timer.
6. Instruksjon for presumptive positivt resultat av *Listeria monocytogenes* er (fig. 1):
    a. Fargeforandring på minst to nivå mot gul på fargekartet eller inkubering. (f.eks fra Y60R til Y40R). For konfirmering se side 3.
    b. Alle prøver med farge Y10R eller Y.

Kvantitative analyser

<u>Produktprøver</u>

1. Vei opp 10 g prøve i en pose eller et beger eller annen beholder.
2. Tilsett 190 ml Sensilist Broth (1:20 fortynning).
3. Homogeniser ved å riste, klemme eller bruk stomacher, uten å lage for mye skum.
4. Overfør 100 ml til Q-tray kvantifiseringsbrett for å benytte MPN opptelling med brønner på omtrent 1 ml eller 0.1 ml hver.
5. Laminer brettene i DF15 i 4-6 sek ved 90°C.
6. For korrekt avlesing av fargen, fest en fargeetikett på hver prøve. Merk startfargen på etiketten (fig.1). Fargen må markeres med en gang etter blanding, og fargeforandringen vurderes under inkubering.

Sensilist AS | www.sensilist.com

7. Inkuber platen på 37^{0}C inntil 48 timer, eller inntil synlig fargeforandring til gul farge, se punkt 7.
    a. Les av fargen etter 24 og 48 timer.
8. Instruksjon for presumptive positivt resultat av *Listeria monocytogenes* er (fig. 1):
    a. Fargeforandring på minst to nivå mot gul på fargekartet eller inkubering. (f.eks fra Y60R til Y40R). For konfirmering se eget punkt side 3.
    b. Alle prøver med farge Y10R eller Y.
9. Oppformering av *L. monocytogenes* med MPN:
    a. Hvis du bruker et kvantifiseringsbrett for MPN avlesing, må du lese av presumptive positive brønner og bruk MPN tabellen egnet for riktig antall brønner på brettet.
    b. Hvis du har et 96 brønns brett, bruk MPN tabell for det antallet.

Konfirmering av presumptive positive prøver.

1. Konfirmer tilstedeværelse av kolonier i henhold til ISO 11290, biokjemiske metoder, eller ISO 16140-6:2019 validert konfirmeringsmetode.
2. Bruk en steril 10µl podenål og ta ut prøve fra den presumptive positive brønnen (gul), prøveposen eller fra begeret over på en ALOA eller tilsvarende skål.
3. Inkuber på 37°C±1°C i totalt 48t ± 2t. Hvis koloniene med presumptive *Listeria monocytogenes* eller *Listeria* spp er tydelige etter 24t ± 2t, kan inkuberingen stoppes på dette stadiet.

Sensilist AS | www.sensilist.com

FLYTSKJEMA AV METODEN

Kvalitativ metode, deteksjonsnivå 1 cfu/25 g, prøvemengde 25 gram

1. •Vei 25 g prøve i en pose/beger med 225 ml Sensilist Broth. Homogeniser.
2. •Inkuber på 37°C inntil 48 t eller til fargeforandring
3. •Fargeforandring fra rød til gul indikerer tilstedeværelse av presumptive Listeria
4. •Konfirmering

Kvantitative, deteksjonsnivå 0,2 cfu/g, prøvemengde 10 gram.

1. •Vei 10 g prøve i en pose/flaske med 190 ml Sensilist Broth. Homogeniser.
2. •Overfør 100 ml til et kvantifiseringsbrett med brønner.
3. •Inkuber på 37°C i 48 t eller inntil fargeforandring
4. •Fargeforandring fra rød til gul indikerer tilstedeværelse av presumptive Listeria
5. •Konfirmering

FORHOLDSREGLER OG BEGRENSING AV METODEN

1. Deteksjonsgrense for kvalitative analyser er 0.04 cfu/g, prøvemengde 25 g.
2. Deteksjonsgrense for kvantitative analyser er 0.2 cfu/g, prøvemengde 10 g.
3. Sensilist kan ikke benyttes til følgende fiskeprodukter:
    a. Syrlige marinerte produkter.
    b. Majones og fløtebaserte produkter.
    c. Produkter med tilsatt melkesyrebakterier
    d. Skalldyr
    e. Sild og makrell
    f. Rå blekksprutringer

Analysesertifikat (CoA)

Analysesertifikat for Sensilist Broth finner du på hjemmesiden www.sensilist.com

Revisjonsnummer	Dato	Endring	Godkjent av
1.0 Dokument 08.01.03 Metodebeskrivelse	11.07.2024	Første utgave	Kvalitetsleder
2.0 Dokument 08.01.03 Metodebeskrivelse	14.11.2025	Endret teksten på prinsipp og noen justeringer på teksten ellers i dokumentet	Kvalitetsleder