

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE  LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.  MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)  LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE  SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	1 de 20

*República de Colombia*



*Gobernación de Santander*

# MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE          LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.          MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)          LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE          SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	2 de 20

## TABLA DE CONTENIDO

1. OBJETIVO .....	3
2. ALCANCE .....	3
3. RESPONSABILIDADES .....	3
4. DEFINICIONES .....	3
5. CONDICIONES GENERALES .....	4
6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO .....	5
7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS .....	6
8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA .....	6
9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA .....	6
10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA .....	7
10.1 EQUIPOS Y MATERIALES .....	7
10.2 REACTIVOS .....	7
10.3 CONTROLES .....	7
10.4 MATERIAL DE REFERENCIA .....	8
11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO .....	8
11.1 ACTIVAR KIT NUEVO .....	8
11.2 CALIBRACIÓN .....	8
12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO .....	14
13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS .....	15
14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS .....	16
15. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS .....	17
16. DOCUMENTOS DE REFERENCIA .....	17
17. NORMATIVIDAD APLICABLE .....	17
18. CONTROL DE CAMBIOS .....	18
19. ANEXOS .....	19

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE  LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.  MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)  LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE  SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	3 de 20

## 1. OBJETIVO

Describir el procedimiento para la determinación de *Listeria monocytogenes* a partir de muestras de alimentos y ambientes por el método automatizado Vidas® utilizando el reactivo VIDAS® L. monocytogenes Xpress (LMX) Protocolos con certificación NF validation (BIO-12/27-02/10)

## 2. ALCANCE

Este procedimiento puede emplearse para la detección directa de *Listeria monocytogenes* en productos de alimentación humana y en muestras ambientales; aplica para todos los alimentos que por su origen, naturaleza, composición y manipulación pueden ser susceptibles de contaminación con *Listeria monocytogenes*.

## 3. RESPONSABILIDADES

Será responsabilidad del profesional asignado, según cronograma de análisis de muestras, verificar que este procedimiento se lleve a cabo según está consignado en este documento.

El personal del área deberá dar cumplimiento a lo consignado en el MANUAL DE ROLES Y RESPONSABILIDADES DEL PERSONAL DEL LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA MI-GS-MA-30

## 4. DEFINICIONES

***Listeria monocytogenes*** es una bacteria Gram positiva y catalasa positiva, anaerobia facultativa, no esporógena, con forma de bacilos cortos, a veces cocoides. Su tamaño consiste entre 0,5 a 2 micras de largo por 0,5 micras de ancho. Es un microorganismo psicotrofo y su rango de crecimiento oscila entre 0°C a 45°C siendo las condiciones óptimas entre 30°C y 37°C, capaz de producir β-hemólisis en agar sangre. Es una bacteria oportunista. Puede multiplicarse fuera del huésped, aún con bajas exigencias en cuanto a nutrientes. Comparada con otras bacterias patógenas que no producen esporas y que son transmitidas por los alimentos, *Listeria monocytogenes* presenta la particularidad de resistir distintas condiciones de estrés como congelación, secado, acidez y frío, pudiéndose adaptar a éstas mediante la producción de biofilos

***Listeriosis*** enfermedad producida por *Listeria monocytogenes*, una de las enfermedades más importantes adquirida en el 99% de los casos por el consumo de alimentos contaminados. La enfermedad puede manifestarse de manera no invasiva, también conocida como gastroenteritis febril leve, con aparición de los siguientes síntomas: diarrea, náuseas, fiebre, dolor de cabeza, fatiga y mialgia dentro de las 9 a 32 horas.

También puede ocurrir como enfermedad invasiva en adultos y embarazadas produciendo meningitis, septicemia y abortos, como algunas de las características

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE  LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.  MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)  LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE  SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	4 de 20

más importantes. En la forma invasiva los síntomas aparecen entre las 2 y 6 semanas y se asocia con la población inmunocomprometida, recién nacidos, fetos, mujeres embarazadas, ancianos y enfermos terminales.

## 5. CONDICIONES GENERALES

Las muestras se deben analizar en cuarto de siembra y en cabina de seguridad biológica (CSB).

El personal debe realizar el lavado de las manos antes y después de la actividad laboral.

Utilizar los elementos de protección personal (EPPs) requeridos según el riesgo de exposición en el área, tales como: Bata de laboratorio desechable, Cubrebocas, Guantes de nitrilo, Gorro desechable, Gafas de bioseguridad. Los EPPs se pueden contaminar durante la actividad, por lo tanto, se debe restringir el uso al área de trabajo para evitar la propagación de microorganismos hacia áreas ajenas al laboratorio, la verificación de los EPPs podrá realizarse en cualquier instante y se registrará en la LISTA DE CHEQUEO DE BIOSEGURIDAD, MANEJO Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS MI-GS-RG-713

El uso de esta prueba es para control microbiológico exclusivamente, se deben cumplir con las normas de bioseguridad.

Los reactivos utilizados contienen compuestos de origen animal. El origen y/o el estado sanitario de los animales no pueden garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible; se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (no ingerir; no inhalar).

Este kit puede generar niveles de *L. monocytogenes* suficientes como para inducir abortos en mujeres embarazadas y causar la muerte en personas inmunodeprimidas y ancianos, por lo que se recomienda evitar que estos grupos manipulen este organismo.

Debe prestarse especial atención a la esterilización del material contaminado antes de su eliminación.

Los reactivos del kit contienen un conservante (azida sódico) susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre, formando nitruros metálicos explosivos; por lo cual siempre se debe descartar en el recipiente designado para descarte de químicos, si por accidente cae por el desagüe algún líquido que contiene nitrato sódico, las tuberías deben lavarse con agua para evitar su acumulación.

Deben realizarse tareas de limpieza y descontaminación en el instrumento con

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE  LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.  MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)  LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE  SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	5 de 20

regularidad.

No utilice los dispositivos SPR si la bolsa está dañada o el cierre hermético está abierto.

No utilizar STR (cartuchos) visiblemente alterados (hoja de aluminio o plástico dañados).

No utilizar los reactivos después de su fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.

No mezclar reactivos (o productos desechables) de lotes diferentes, mezclar reactivos (o productos desechables) de lotes diferentes.

Los reactivos de la prueba VIDAS® solo deben emplearse con instrumentos de la gama VIDAS®

## 6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO

VIDAS® L. monocytogenes Xpress (LMX) es un ensayo cualitativo automatizado para su uso en los equipos de la familia VIDAS® para la detección específica de *Listeria monocytogenes* en productos de alimentación humana y muestras medioambientales mediante la técnica ELFA (ensayo de fluorescencia ligado a enzima).

El SPR (Solid Phase Receptacle, o recipiente de fase sólida) sirve a la vez de fase sólida y de dispositivo de pipeteo. El interior del cono SPR está recubierto de anticuerpos *anti-L. monocytogenes* adsorbidos a su superficie.

Los reactivos del test están listos para ser utilizados y previamente distribuidos en los cartuchos de reactivos de un solo uso sellados.

El instrumento realiza automáticamente todos los pasos del test. El medio de reacción es expulsado y aspirado cíclicamente hacia dentro y fuera del dispositivo SPR varias veces. Parte del caldo de enriquecimiento se dispensa en el cartucho. Los antígenos presentes se unirán a los anticuerpos que recubren el interior del dispositivo SPR. Los componentes no fijados se eliminan durante las etapas de lavado. Los anticuerpos conjugados con la fosfatasa alcalina son aspirados y expulsados cíclicamente del cono SPR y se enlazan a los antígenos de *L. monocytogenes* que, a su vez, están unidos a la pared del cono SPR. Mediante nuevos pasos de lavado, se elimina el conjugado no ligado.

Durante la etapa de detección final, el sustrato (4-metil-umbeliferil fosfato) se somete a una sucesión de aspiraciones/expulsiones en el dispositivo SPR. La enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE          LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.          MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)          LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE          SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	6 de 20

fluorescente (4-metil-umbeliferona) cuya fluorescencia se mide a 450 nm. Al final de la prueba, el instrumento analiza automáticamente los resultados y genera un valor de la prueba para cada muestra. Este valor se compara con un conjunto de estándares (umbrales) almacenados en el equipo Vidas y que se corren previamente: El equipo automáticamente interpreta cada resultado (positivo, negativo).

## 7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

La prueba se ha evaluado en una gran cantidad de productos. Dada la gran variedad de productos y procedimientos de fabricación, se recomienda comprobar que la composición de las matrices analizadas no afecta a la fiabilidad de los resultados.

El sistema VIDAS® Heat and Go se ha evaluado con una gran cantidad de matrices alimentarias. Dada la gran variedad de matrices alimentarias y procedimientos de fabricación, al poner en funcionamiento el sistema, se recomienda verificar que, en el paso de calentamiento, la muestra no se coagule ni se precipite notablemente en el pocillo para la muestra, ya que esto podría provocar que se tome un volumen incorrecto de muestra en el dispositivo SPR.

**Nota:** No utilice VIDAS® Heat and Go en muestras de ovoproductos y de carne de ave de corral.

## 8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras serán recolectadas por el personal capacitado y con las competencias para esta actividad, ver MANUAL DE LA UNIDAD DE VIGILANCIA DE FACTORES DE RIESGO DEL AMBIENTE Y EL CONSUMO PARA TOMA, REMISIÓN, TRANSPORTE, ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS MI-GS-MA-58 capítulo 9.2. Toma, Recepción, Conservación Y Transporte De Muestras De Alimentos Y Bebidas Alcohólicas.

## 9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra se conserva de acuerdo a la naturaleza del producto manteniendo las temperaturas de almacenamiento correspondientes. Ver MANUAL DE LA UNIDAD DE VIGILANCIA DE FACTORES DE RIESGO DEL AMBIENTE Y EL CONSUMO PARA TOMA, REMISIÓN, TRANSPORTE, ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS MI-GS-MA-58. Cuadro 2. LABORATORIO DE ALIMENTOS: Obtención, envío y conservación de muestras para análisis Microbiológico y Fisicoquímico de alimentos

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	7 de 20

## 10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA

### 10.1 EQUIPOS Y MATERIALES

- Balanza analítica
- Cabina de Bioseguridad
- Cabina de Flujo laminar
- Equipo VIDAS®.
- Homogeneizador de muestras
- Incubadora a 37 °C
- Incubadora de 35 °C
- VIDAS® Heat and Go
- Asas Bacteriológicas
- Autoclave
- Cajas de Petri de 90 mm o 100 mm
- Equipo Vitek ®
- Frasco schott 200 ml
- Micropipeta de 100 -1000 uL
- Microscopio
- pH- metro
- Pipetas graduadas de capacidad nominal 10 ml graduadas
- Pipeteador
- Puntas desechables
- Refrigerador
- Tubos de vidrio 16x150

### 10.2 REACTIVOS

- Agar Listeria basado en Ottaviani Agosti
- Agar Oxford
- Agar Palcam
- Bolsa tipo Stomacher® con filtro
- Caldo LMX 225 ml
- Suplemento para Caldo LMX (LMX SUPP)
- Tarjetas para identificación de Gram positivos para Vitek (GP)
- VIDAS® L. monocytogenes Xpress (LMX)

### 10.3 CONTROLES

Los controles y los estándares vienen con el kit de VIDAS® L. monocytogenes Xpress (LMX) estos deben ser utilizados al inicio del kit y cada 28 días o cuando se

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	8 de 20

inicie un lote diferente.

## 10.4 MATERIAL DE REFERENCIA

Cepas de Referencia:

*Listeria monocytogenes* ATCC 19115

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 o ATCC 6538

## 11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

### 11.1 ACTIVAR KIT NUEVO

Dar click en el ícono  y luego en  cuando aparezca otra pantalla, dar click en el código QR  Utilizando el lector de código de barras externo, escanee el código de barras impreso en la etiqueta del kit de reactivos.  esperar a que todos los ítems se carguen  posteriormente dar click en save.

### 11.2 CALIBRACIÓN

La calibración se debe efectuar cada vez que se abre un nuevo lote de reactivos, o después de 28 días, esta se realiza con los estándar y controles incluido en el kit VIDAS® L. monocytogenes Xpress (LMX). Con esta operación se obtienen curvas de calibración específicas del equipo y se compensan las pequeñas variaciones que pueden darse en la señal de ensayo a lo largo de la vida útil del kit.

### MONTAJE DE CALIBRACIÓN

Después de haber activado el nuevo kit o transcurridos los 28 días se debe efectuar la calibración en el equipo esta se realizará de la siguiente manera:

Saque el kit de reactivo VIDAS® L. monocytogenes Xpress (LMX) para que se atempere por 30 minutos, este contiene:

El estándar, identificado como S1, debe analizarse por duplicado. El valor del estándar debe estar dentro del rango del RFV (valor de fluorescencia relativo) indicado en los datos MLE. Si esto no es así, repita la calibración. Control positivo, debe identificarse como “C1”. control negativo, debe identificarse como “C2”.

Si es necesario, mezcle el estándar y los controles mediante un agitador tipo vortex

**Nota:** No caliente el estándar ni los controles

Marque 4 tiras o cartuchos como S1-S1-C1 y C2, Dispense 0,25 mL del respectivo vial por ejemplo, al cartucho marcado con S1 dispensar 0.25 mL del vial del kit LMX que está identificado con S1 y así sucesivamente para cada uno

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	9 de 20

Inserte en el equipo los cartuchos y los SPR® (Los conos) (Imagen 1). Asegúrese de que las etiquetas de color con el código de ensayo que llevan los SPR® y los cartuchos de reactivos coinciden con la prueba a realizar.

**Imagen 1.** Cartuchos y conos del kit de VIDAS LMX Xpress



## INICIAR LA PRUEBA

Hacer click en el número que está en la posición donde se dejaron los estándares y controles se colocará en rojo



Posteriormente en la partesuperior de click



y aparecerá



dar click



y automáticamente el equipo realizará todos los pasos del ensayo. Los resultados se obtienen en aproximadamente 80 minutos.

Cuando el ensayo haya finalizado, retire del equipo los SPR® descártelos en un contenedor de paredes rígidas identificado como material Biológico y los cartuchos deposítelos en la caneca roja.

## Protocolo general para productos alimenticios humanos (Excepto quesos de leche Cruda) (anexo1)

1. Precaliente el caldo de enriquecimiento (LMX BROTH) a  $+37 \pm 1$  °C antes de su uso.
2. Depositar en condiciones asépticas en una bolsa de homogenización con filtro: 25 g o 25 mL de muestra.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	10 de 20

- Asépticamente añada 500 uL del suplemento para el caldo LMX homogenizado con ayuda de un agitador tipo vórtex antes de cada serie de muestras. (ver preparación, conservación y durabilidad en el inserto según la presentación) al frasco de caldo de enriquecimiento (LMX Broth) que contiene 225 ml previamente calentado.

En caso de que la muestra provenga de una enfermedad transmitida por alimentos y la cantidad sea menor de 25 g / 25ml, realice los cálculos necesarios para la cantidad de caldo de enriquecimiento a utilizar y para el suplemento colóquelo en la siguiente proporción: 20 µL (± 5 %) por 1 g o 1 mL de muestra (p. ej. 100 µL de suplemento para 45 ml de caldo LMX por 5 g de muestra).

- Añada de manera aséptica la mezcla de caldo LMX y suplemento a la bolsa de homogenización que contiene los 25 g/ml de la muestra.
- Mezclar con un homogeneizador de palas
- Incube durante 26-30 horas a +37 °C ± 1 °C.

**Nota:** El caldo de enriquecimiento después de incubado se puede conservar durante 72 horas entre +2 °C y +8 °C antes de realizar la prueba VIDAS®. Ponga el caldo de enriquecimiento a temperatura ambiente antes de la etapa de calentamiento

- Después de la incubación, mezcle manualmente el contenido de la bolsa del homogeneizador
- Coloque a calentar el VIDAS® Heat and Go (imagen 2) para que alcance la temperatura.

**Imagen 2.** Instrumento VIDAS® Heat and Go



- Transfiera 0,25 mL del caldo de enriquecimiento al pocillo del cartucho que está contenido En el reactivo VIDAS® L. monocytogenes Xpress (LMX) el cual debe estar atemperado 30 minutos antes de su uso y no se debe reutilizar.
- Coloque la tira a Calentar durante 5 ± 1 minutos en el VIDAS® Heat and Go el cual debe estar previamente calentado.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	11 de 20

11. Retire el cartucho y deje que se enfríe durante al menos 10 minutos.

**Nota:** No utilice VIDAS® Heat and Go en muestras de ovoproductos y de carne de ave de corral; para estas pruebas puede utilizar baño maría verificando que no se coagulen.

Si no se cuenta con VIDAS® Heat and Go utilizar el baño maría de la siguiente manera:

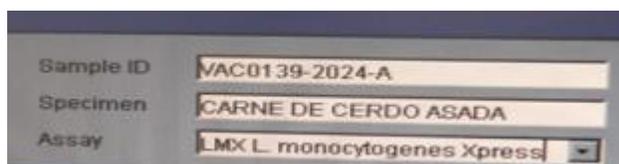
- Transfiera de 1 a 2 mL de caldo de enriquecimiento a un tubo.
- Selle el tubo.
- Calentar durante  $5 \pm 1$  minutos entre  $+95 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $+100 \text{ }^\circ\text{C}$ .
- Enfríe el tubo.
- Mezcle el caldo hervido mediante un agitador tipo vórtex y transfiera 0,25 mL al pocillo para la muestra de la tira VIDAS®.

12. Registre las muestras en el computador auxiliar del equipo VIDAS®

**Imagen 3.** Pantalla principal VIDAS



En la pantalla principal (imagen 3) dar click en el icono  y aparecerá la siguiente pantalla para introducir las muestras



- Seleccione la prueba. (Assay) La prueba que dice LMX L. monocytogenes Xpress
- Introduzca la información necesaria en el campo. (Sample ID)

**IMPORTANTE:** No utilice el código de barras de la tira de reactivos como ID de muestra. Coloque el número de radicado de la muestra tal cual como aparece en la base de datos de recepción de muestras de Alimentos, pero tenga en cuenta adicional la unidad que está procesando (ej: VSP-0010-2024-A) Haga clic en

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	12 de 20

Create (Crear) o pulse <F10>.

- La solicitud de prueba se muestra en la lista de trabajo o en una sección predefinida, en función del modo de registro seleccionado (la casilla Reserve [Reservar] está seleccionada o deseleccionada).

**Nota:** El cursor para introducir la siguiente solicitud de prueba se coloca de forma automática en el cuadro de texto Sample ID (Identificación de la muestra).

- Posteriormente las muestras aparecerán en la pantalla

**Imagen 4** Pantalla de muestras registradas



13. Inserte en el equipo los cartuchos en la misma posición en que se muestran en la pantalla del computador del equipo VIDAS® y los SPR® (Los conos) Asegúrese de que las etiquetas de color con el código de ensayo que llevan los SPR® y los cartuchos de reactivos coinciden con la prueba a realizar

14. De click en el número que aparece en el lado izquierdo de cada cargue este se colocará en rojo posteriormente inicie el ensayo. El equipo realizará automáticamente todos los pasos del ensayo. Los resultados se obtienen en aproximadamente 80 minutos.

15. Cuando el ensayo haya finalizado, retire del equipo los SPR® descártelos en un contenedor de paredes rígidas identificado como material Biológico y los cartuchos deposítelos en la caneca roja.

### Protocolo para quesos de leche cruda (anexo 2)

Para el cargue de muestras y manejo del equipo se realizará de igual forma, únicamente cambia el procedimiento de la muestra, tal y como se indica a continuación:

1. Precaliente el caldo de preenriquecimiento a  $+37 \pm 1$  °C antes de su uso.
2. Depositar en condiciones asépticas en una bolsa de homogeneización con

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE          LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.          MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)          LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE          SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	13 de 20

filtro: 25 g de muestra y 225 mL de caldo LMX (caldo de preenriquecimiento).

3. Añada de manera aséptica 500 µL ( $\pm$  5%) de suplemento del caldo LMX  
**Nota:** Homogenice el suplemento con ayuda de un agitador tipo vórtex antes de cada serie de muestras.
4. Mezclar con un homogeneizador de palas
5. Añada 225 mL de caldo LMX precalentado y sin suplemento y mezcle manualmente.  
**Nota:** Si se usa una muestra con un peso inferior a 25 g (X g), añada 18X mL de caldo LMX + 0,02X mL ( $\pm$  5%) de suplemento para caldo LMX
6. Incube durante 20-24 horas a  $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
7. Después de la incubación, mezcle manualmente el contenido de la bolsa del homogeneizador.
8. Transfiera 3 mL de la suspensión a 6 mL de caldo LMX (caldo de enriquecimiento).
9. Incube durante 6-8 horas a  $+37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
10. Después de la incubación, mezcle el caldo de enriquecimiento.

Si se utiliza el baño maría:

- Transfiera de 1 a 2 mL de caldo de enriquecimiento a un tubo.
- Selle el tubo.
- Calentar durante  $5 \pm 1$  minutos entre  $+95\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $+100\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- Enfríe el tubo.
- Mezcle el caldo hervido mediante un agitador tipo vórtex y transfiera 0,25 mL al pocillo para la muestra de la tira VIDAS®.

Si se utiliza VIDAS® Heat and Go:

- Transfiera 0,25 mL del caldo de enriquecimiento al pocillo para la muestra de la tira.
- Caliente durante  $5 \pm 1$  minutos VIDAS® Heat and Go.
- Retire el cartucho y deje que se enfríe durante al menos 10 minutos.  
**Nota:** El caldo de enriquecimiento no calentado se puede conservar durante 72 horas entre  $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$  y  $+8\text{ }^{\circ}\text{C}$  antes de realizar la prueba VIDAS®.
- Ponga el caldo de enriquecimiento a temperatura ambiente antes de la etapa de calentamiento.
- Continúe con el paso 10 Protocolo general para productos alimenticios

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE          LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.          MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)          LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE          SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	14 de 20

humanos (Excepto quesos de leche Cruda)

## Muestras ambientales

Para las muestras medioambientales, el dispositivo de recogida debe humedecerse primero con un diluyente estéril como el agua de peptona tamponada que contenga un agente neutralizador adecuado, para el procesamiento de las muestras. Coloque el dispositivo en el volumen recomendado de caldo LMX con suplemento que cubra el dispositivo de muestreo dependiendo del método utilizado; el suplemento que se agrega al caldo debe ser proporcional a la cantidad del medio utilizado como se explica en el numeral 3 del protocolo general para productos alimenticios humanos (Excepto quesos de leche Cruda) de este manual.

Para las muestras ambientales que vengan en:

- Hisopo agregue 10 mL de caldo LMX
- Esponja: 100 mL
- Paño: 225 mL

Continúe tal y como se indica después del paso 6 del protocolo general para productos alimenticios humanos (Excepto quesos de leche Cruda)

## 12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO

Para comprobar la capacidad del equipo para detectar *Listeria monocytogenes* utilice los siguientes controles una vez por semana cuando haya montaje:

Control positivo: *Listeria monocytogenes* ATCC 19115

Control negativo: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 o ATCC 6538

Para observar la funcionalidad del equipo se deberá pasar el reactivo Quality Control VIDAS® (QCV) una vez al mes a las posiciones que más se usan, este reactivo permite detectar un disfuncionamiento del sistema de pipeteo que puede interferir con el resultado obtenido en el análisis. Permite también verificar la capacidad del sistema óptico para dar lecturas de fluorescencia elevadas.

Para interpretar el QCV se debe tener en cuenta que los valores de la lectura 3 y el valor de prueba 1 deben estar dentro de los rangos aceptables que se indican a continuación; los valores se podrán ver en la pantalla de resultados

El rango aceptable para el valor de prueba 1: el valor de prueba 1 de cada posición debe ser  $\geq$  al valor indicado en la etiqueta del kit (TV1).

Si el resultado de una posición en particular está fuera del rango, deben ejecutarse dos nuevas pruebas de QCV de VIDAS® sucesivamente en todas las posiciones de la sección afectada, si se produce otro resultado no compatible, como mínimo, en la misma sección, independientemente de la posición, no utilice la sección y póngase en

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	15 de 20

contacto con BioMérieux.

Rango aceptable para el valor de lectura 3: la lectura 3 de cada posición debe ser  $\geq 4100$  RFU. Si el resultado de una posición determinada está fuera del rango, ponga el instrumento fuera de línea y póngase en contacto con BioMérieux.

### 13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Para acceder a los resultados se realizará por la ventana Results (Resultados) que permite visualizar los resultados de las pruebas almacenados en la memoria del VIDAS®.

- Haga clic en  que aparece en la ventana principal o en cualquier otra ventana o haga clic en  ubicado en la ventana principal y, a continuación, seleccione el menú Results y aparecerá la siguiente pantalla (imagen 5).

Imagen 5. Pantalla de resultados



Los comandos que se pueden observar en la pantalla de los resultados son los siguientes (imagen 6)

<b>Versión</b>	<b>Elaboración</b>	<b>Revisión Técnica</b>	<b>Revisión de Calidad</b>
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	16 de 20

**Imagen 6** Comandos de la pantalla de resultados

Comando	Descripción
	Finishing date (Fecha de finalización)
	Duration (Duración)
	Actualizar las listas de resultados de las pruebas.
	Seleccionar todos los resultados de pruebas con el mismo número de lote de un procesamiento (de una sola sección o varias secciones, si no se han procesado en modo completo) después de haber seleccionado una prueba.
	Validar y transmitir los resultados seleccionados al sistema informático del laboratorio (SIL).
	Volver a cargar las pruebas seleccionadas en la lista de trabajo para que puedan volver a analizarse.
	Retransmitir los resultados de las pruebas seleccionados al SIL (en caso de que se produjese algún error en la primera transmisión).
	Volver a calcular el resultado de una prueba utilizando la calibración definida por el usuario como referencia.
	Imprimir los resultados de la búsqueda.
	Exportar los resultados seleccionados a un directorio de su elección.

En finishing date introduzca la fecha que desea consultar y con



actualice la pantalla



V	Or	Description	Data ID	Sample	Assay	Result	Unit	DI	Interp	Status	Date
<input checked="" type="checkbox"/>	A	MILK	D06235996	MK5699	LIS	2.77			Positive	Correct	25/09/2008 13:15
<input checked="" type="checkbox"/>	A	PIZZA	D06235997	PZ2583	LIS	2.85			Positive	Correct	25/09/2008 13:15

Y así podrá ver todos los resultados. Registre este resultado del Análisis HOJA DE DATOS PRIMARIOS AREA MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS MI-GS-RG-157.

Todos los valores positivos se deberán confirmar como se explica más adelante en exámenes complementarios

#### 14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS

Los resultados se registrarán de la siguiente manera

Negativo: Informe Ausencia /25g o ml

Positivo después de confirmado: Presencia /25 g o ml.

Los resultados se emitirán en la plantilla que contiene información general del punto

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	17 de 20

de toma, información de la muestra recibida y los análisis realizados. INFORME DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS Y BEBIDAS MI-GS-RG-816.

## 15. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS

Todo resultado positivo se deberá confirmar. La confirmación debe realizarse en un plazo de 72 horas desde la finalización de la incubación, utilizando el caldo de enriquecimiento no calentado y conservado entre +2 °C y +8 °C.

Para realizar la confirmación revise el manual método horizontal para la detección de *Listeria monocytogenes* y *Listeria spp* en alimentos según ISO 11290-1:2017 MI-GS-MA-95 a partir del numeral 10.3 siembra en placa en medios selectivos

En caso de que se obtengan resultados discordantes (positivo con el método VIDAS® L. monocytogenes Xpress LMX y no confirmado mediante una de las opciones descritas anteriormente en el manual, el laboratorio debe seguir los pasos necesarios para garantizar la precisión de los resultados obtenidos, repitiendo la muestra).

Se recomienda, realizar uno de los dos procedimientos complementarios siguientes:

### Para el protocolo general

Transfiera 0,1 mL de caldo de enriquecimiento no calentado en 6 mL de caldo LMX. Incube durante 22-26 horas a 37 °C ± 1 °C.

Realice la confirmación como se ha descrito anteriormente.

### Para el protocolo de queso de leche cruda,

Prolongue la incubación del caldo de enriquecimiento hasta un total de 24 horas a +37 °C ± 1 °C.

Realice la confirmación como se ha descrito anteriormente.

## 16. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Inserto VIDAS® L. monocytogenes Xpress (LMX)  
Manual del usuario del Equipo VIDAS®. Biomerieux

## 17. NORMATIVIDAD APLICABLE

International Organization for Standardization ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria spp*. Part 1: Detection method.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L. MONOCYTOGENES XPRESS (LMX) LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	18 de 20

## 18. CONTROL DE CAMBIOS

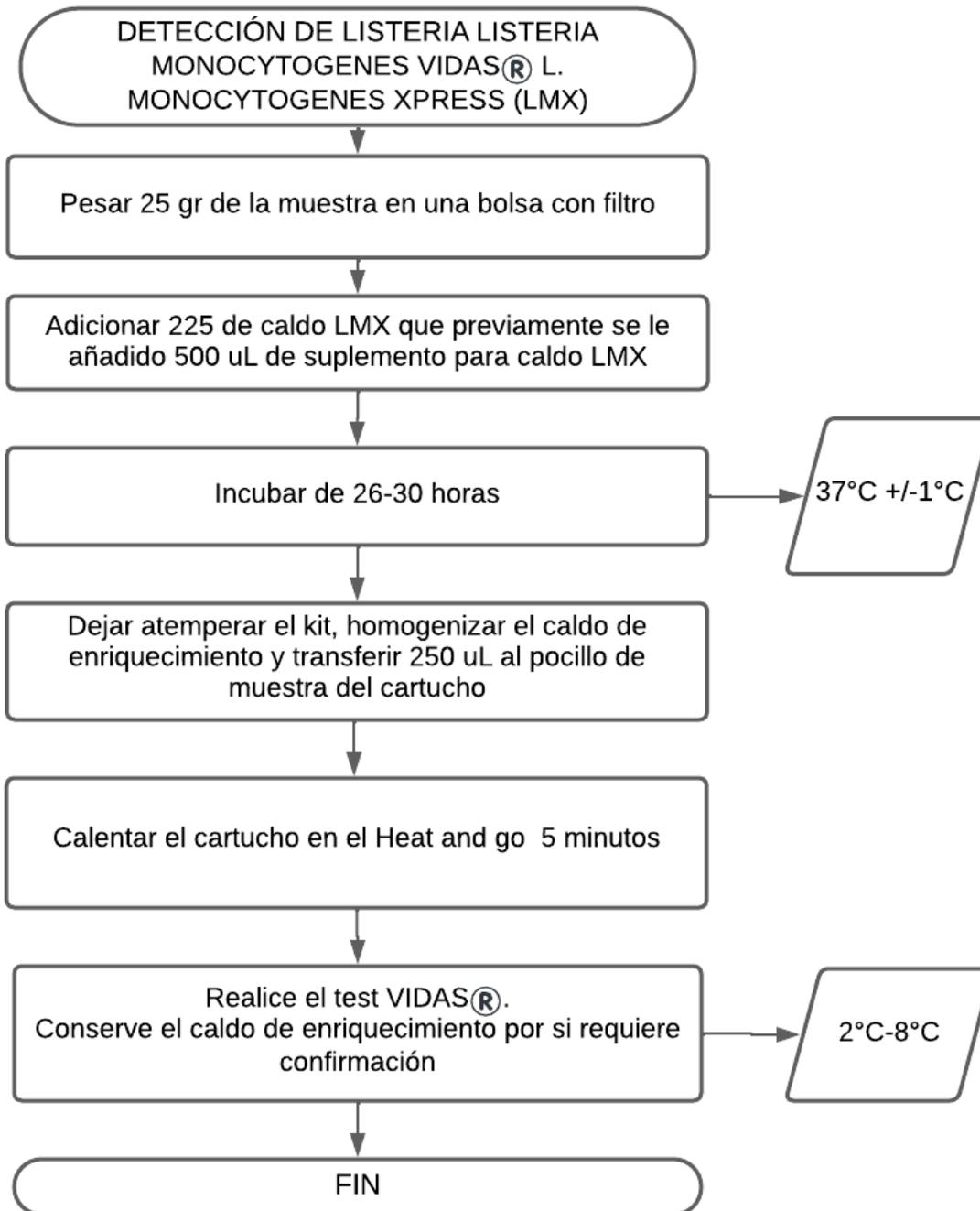
CONTROL DE CAMBIOS				
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	REVISÓ	APROBÓ
0	08/11/2023	Emisión inicial del documento	Alba Rocío Orduz Amézquita <b>Líder Grupo LDSP</b> German Eduardo Marín Cárdenas <b>Director de Salud Integral</b>  Diego Sánchez Báez <b>Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad</b>  César Ernesto Sánchez Aranda <b>Director de Planeación y Mejoramiento en Salud</b>	Javier Alonso Villamizar Suarez <b>Secretario de Salud de Santander</b>
1	30/10/2024	Corrección del título del documento en la portada Corrección de códigos de formatos o guías referenciadas en el manual.	Alba Rocío Orduz Amézquita <b>Líder Grupo LDSP</b>  Zulema Rosalba Galvis Villarreal <b>Directora de Salud Integral</b>  Samuel Andrés Santamaría Hernández <b>Director de planeación y Mejoramiento en Salud</b>	Edwin Antonio Prada Ramírez <b>Secretario de Salud de Santander</b>

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

	<b>MANUAL PARA LA DETECCIÓN DE          LISTERIA MONOCYTOGENES VIDAS® L.          MONOCYTOGENES XPRESS (LMX)          LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE          SALUD PÚBLICA</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-92
		VERSIÓN	1
		FECHA DE APROBACIÓN	30/10/2024
		PÁGINA	19 de 20

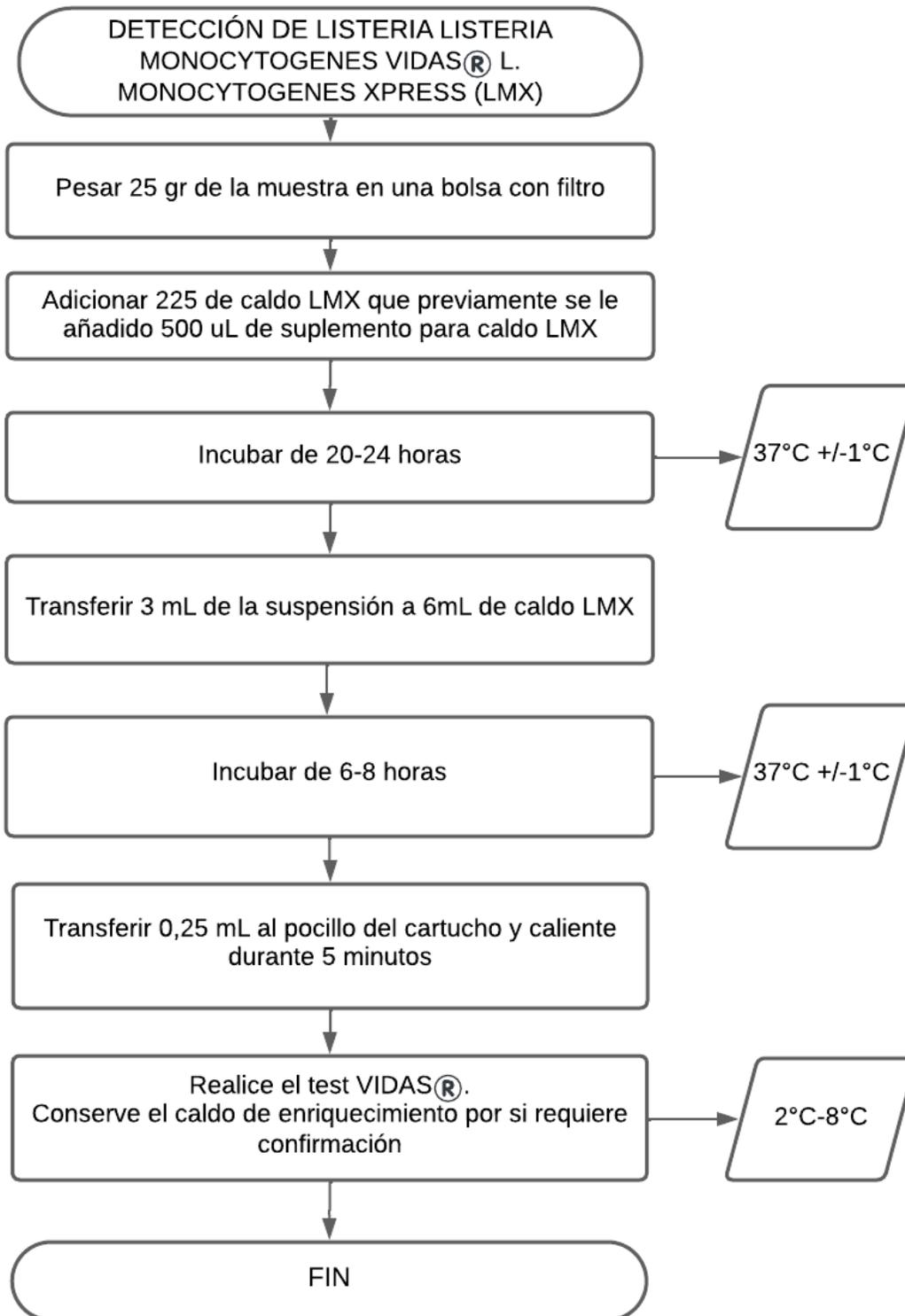
## 19. ANEXOS

**Anexo 1.** Flujoograma del protocolo general para alimentos de consumo humano excepto quesos a base de leche cruda.



Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma

**Anexo 2** Flujoograma del protocolo para quesos a base de leche cruda



Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
1	Sandra Isabel Bohórquez	Aydé López	Jenny Osma