Product Instructions

- (EN) Neogen Molecular Detection Assay 2Q - Quantitative *Salmonella* Screening Kit
- (FR) Kit Neogen de détection moléculaire 2Q – Kit de dépistage de quantification des *Salmonella*
- (DE) Kit Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – Salmonellen, quantitativ
- (ES) Kit Neogen de Ensayo de Detección Molecular 2Q - Quantificación de *Salmonella*
- (PT) Kit Neogen Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - Quantitativa de *Salmonella*
- (JA) Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q - サルモネラ属菌定量検査スクリーニング キット
- (ZH) Neogen分子检测分析2Q - 定量 *沙门氏菌* 筛选试剂盒
- (TH) ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน
- (KO) Neogen 분자 검출 분석 2Q - 정량 *살모넬라* 스크리닝 키트

Quantitative *Salmonella*

NEOGEN®

Product Instructions

Neogen Molecular Detection Assay 2Q - Quantitative *Salmonella* screening kit

Product Description and Intended Use

The Neogen® Molecular Detection Assay 2Q - Quantitative *Salmonella* (MDA2QSAL96) kit is used with Neogen® Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500) and the Neogen® Molecular Detection System for rapid quantification of *Salmonella* in enriched chicken carcass rinses and raw ground poultry samples. The Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Kit and a model application accessed through Neogen® Molecular Detection System Software. The resulting output obtained in the Neogen® Molecular Detection System Software is used to assess the quantity of *Salmonella* in chicken carcass rinses and raw ground poultry matrices.

The assay uses loop-mediated isothermal amplification to rapidly amplify nucleic acid sequences with high specificity and sensitivity, combined with bioluminescence to detect the amplification. Presumptive positive results are reported in real-time. Results that are below the limit of detection will be displayed as negative after the assay is completed. Presumptive positive results should be confirmed using your preferred method or as specified by local regulations[1, 2, 3].

The Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* is intended for use in a laboratory environment by professionals trained in laboratory techniques. Neogen has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, Neogen has not documented this product for testing pharmaceutical, cosmetics, clinical, or veterinary samples. The Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* has not been evaluated with all possible food products, processes, testing protocols, or with all possible strains of bacteria. As with all test methods, the source, formulation, and quality of enrichment medium can influence the results. Factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, and laboratory technique may also influence results. Neogen recommends evaluation of the method including enrichment medium, in the user's environment using a sufficient number of samples with particular foods and microbial challenges to ensure that the method meets the user's criteria.

Neogen has evaluated the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* with Neogen® Buffered Peptone Water (BPW), Neogen® neutralizing Buffered Peptone Water (nBPW) and Neogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500).

The Neogen Molecular Detection Instrument is intended for use with samples that have undergone heat treatment during the assay lysis step, which is designed to destroy organisms present in the sample.

Samples that have not been properly heat treated during the assay lysis step may be considered a potential biohazard and should NOT be inserted into the Neogen Molecular Detection Instrument.

Neogen Food Safety is certified to ISO (International Organization for Standardization) 9001 for design and manufacturing.

The Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* test kit contains 96 tests, described in Table 1.

Table 1. Kit Components

Item	Identification	Quantity	Contents	Comments
Lysis Solution (LS) tubes	Pink solution in clear tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	580 µL of LS per tube	Racked and ready to use
Quantitative *Salmonella* Reagent tubes	Green tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	Lyophilized specific amplification and detection mix	Ready to use
Extra caps	Green caps	96 (12 strips of 8 caps)		Ready to use
Reagent Control (RC)	Clear flip-top tubes	16 (2 pouches of 8 individual tubes)	Lyophilized control DNA, amplification, and detection mix	Ready to use

The Negative Control, not provided in the kit, is a sterile enrichment medium, e.g., BPW, nBPW or QRED500. Do not use water as a Negative Control.

Safety

The user should read, understand, and follow all safety information in the instructions for the Neogen Molecular Detection System and the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella*. Retain the safety instructions for future reference.

⚠ **WARNING:**	Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in death or serious injury and/or property damage.
⚠ **CAUTION:**	Indicates a hazardous situation, which, if not avoided, could result in minor or moderate injury and/or property damage.
NOTICE:	Indicates a potentially hazardous situation which, if not avoided, could result in property damage.

⚠ WARNING

The Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* protocol DOES NOT have interruption points. Samples must be fully analyzed after the sample has been enriched (See protocols in Table 2).

Do not use the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* in the diagnosis of conditions in humans or animals.

The user must train its personnel in current proper testing techniques: for example, Good Laboratory Practices, ISO/IEC 17025[(4)], or ISO 7218[(5)].

To reduce the risks associated with a Below the Limit of Quantitation (LOQ) result leading to the release of contaminated product:

- Do not interpret results below the LOQ of the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* assay as a negative *Salmonella* result. Results below the LOQ results do not indicate the complete absence of *Salmonella*, only that the level of *Salmonella*, if present, is below the LOQ for this method.
- Follow the protocol and perform the tests exactly as stated in the product instructions.
- Always use a calibrated micropipette.
- Use the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* with foods that have been validated internally or by a third party.

- Store the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* as indicated on the package and in the product instructions.
- Always use the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* by the expiration date.
- Do not use the sample enrichments outlined in these product instructions in the Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* (MDA2SAL96) **QUALITATIVE** assay. The enrichments included in these product instructions have been developed specifically for this **QUANTITATIVE** assay.

To reduce the risks associated with exposure to chemicals and biohazards:

- Perform pathogen testing in a properly equipped laboratory under the control of trained personnel. Incubated enrichment media and equipment or surfaces that have come into contact with incubated enrichment media may contain pathogens at levels sufficient to cause risk to human health.
- This procedure uses/detects pathogenic microorganisms and/or their metabolic products above a certain level. Care should be taken to avoid ingestion or inhalation of potentially infectious aerosols or contact with the skin. Always follow standard laboratory safety practices, including wearing appropriate protective apparel and eye protection while handling reagents and contaminated samples.
- Avoid contact with the contents of the enrichment media and reagent tubes after amplification.
- Dispose of enriched samples according to current industry standards.
- Samples that have not been properly heat treated during the assay lysis step may be considered a potential biohazard and should NOT be inserted into the Neogen Molecular Detection Instrument.
- To reduce the risks associated with cross-contamination while preparing the assay:
- Always wear gloves (to protect the user and prevent the introduction of nucleases).

To reduce the risks associated with environmental contamination:

Follow current industry standards for disposal of contaminated waste.

⚠ CAUTION

To reduce the risks associated with exposure to hot liquids:

- Do not exceed the recommended temperature setting on heater.
- Do not exceed the recommended heating time.

Use an appropriate, calibrated thermometer to verify the Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert temperature (e.g., a partial immersion thermometer or digital thermocouple thermometer, not a total immersion thermometer). The thermometer must be placed in the designated location in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert.

NOTICE

To reduce the risks associated with cross-contamination while preparing the assay:

- Change gloves prior to reagent pellet hydration.
- Use of sterile, aerosol barrier (filtered), molecular biology grade pipette tips is recommended.
- Use a new pipette tip for each sample transfer.
- Use Good Laboratory Practices during centrifugation processing steps and to transfer the sample from the enrichment to the lysis tube. To avoid pipettor contamination, the user may choose to add an intermediate transfer step. For example, the user can transfer each enriched sample into a sterile tube.
- Use a molecular biology workstation containing germicidal lamp where available. Periodically decontaminate laboratory benches and equipment (pipettes, cap/decap tools, etc.) with a 1–5% (v:v in water) household bleach solution or DNA removal solution.

To reduce the risks associated with a false-positive result:

- Never open tubes post amplification.
- Always dispose of the contaminated tubes by soaking in a 1–5% (v:v in water) household bleach solution for 1 hour and away from the assay preparation area.
- Never autoclave reagent tubes post amplification.
- Always use a calibrated micropipette.

Consult the Safety Data Sheet for additional information and local regulations for disposal.

If you have questions about specific applications or procedures, please visit our website at neogen.com or contact your local Neogen representative or authorized distributor.

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at neogen.com, or contact your local Neogen representative or authorized distributor for more information.

When selecting a test method, it is important to recognize that external factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, laboratory technique, and the sample itself may influence results.

It is the user's responsibility in selecting any test method or product to evaluate a sufficient number of samples with the appropriate matrices and microbial challenges to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria.

It is also the user's responsibility to determine that any test methods and results meet its customers' and suppliers' requirements.

As with any test method, results obtained from use of any Neogen Food Safety product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.

To help customers evaluate the method for various food matrices, Neogen has developed the Neogen® Molecular Detection Matrix Control kit. When needed, use the Matrix Control (MC) to determine if the matrix has the ability to impact the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* results. Test several samples, representative of the matrix, i.e. samples obtained from different origin, during any validation period when adopting the Neogen method or when testing new or unknown matrices or matrices that have undergone raw material or process changes.

A matrix can be defined as a type of product with intrinsic properties such as composition and process. Differences between matrices may be as simple as the effects caused by differences in their processing or presentation, for example, raw vs. pasteurized; fresh vs. dried, etc.

Limitation of Warranties / Limited Remedy

EXCEPT AS EXPRESSLY STATED IN A LIMITED WARRANTY SECTION OF INDIVIDUAL PRODUCT PACKAGING, NEOGEN DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any Neogen Food Safety Product is defective, Neogen or its authorized distributor will, at its option, replace or refund the purchase price of the product. These are your exclusive remedies. You must promptly notify Neogen within sixty days of discovery of any suspected defects in a product and return it to Neogen. Please contact your Neogen Food Safety representative or authorized Neogen distributor for any further questions.

Limitation of Neogen Liability

NEOGEN WILL NOT BE LIABLE FOR ANY LOSS OR DAMAGES, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO LOST PROFITS. In no event shall Neogen's liability under any legal theory exceed the purchase price of the product alleged to be defective.

Storage and Disposal

Store the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Kit components at 2–8°C. Do not freeze. Keep the kit away from light during storage. After opening the kit, check that the foil pouch is undamaged. If the pouch is damaged, do not use it. After opening, unused reagent tubes should always be stored in the re-sealable pouch with the desiccant inside to maintain stability of the lyophilized reagents. Store resealed pouches at 2–8°C for no longer than 60 days. Do not use Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* past the expiration date. Expiration date and lot number are noted on the outside label of the box. After use, the enrichment medium and the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* tubes can potentially contain pathogenic materials. When testing is complete, follow local regulations for the disposal of contaminated waste. Consult the Safety Data Sheet for additional information.

Instructions for Use

Follow all instructions carefully. Failure to do so may lead to inaccurate results.

Periodically decontaminate laboratory benches and equipment (pipettes, cap/decap tools, etc.) with a 1–5% (v:v in water) household bleach solution or DNA removal solution.

The user should complete the Neogen Molecular Detection System operator qualification (OQ) training, as described in the "Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System" document [6].

See Section "Specific Instructions for validated methods" for specific requirements:

Quantification of *Salmonella* in raw ground chicken/turkey

1. Weigh 325 g of raw ground chicken or turkey and place in a sterile bag
2. Add 400 mL of buffered peptone water (BPW).
3. Homogenize thoroughly by stomaching at 180 rpm for 1 minute.
4. Transfer 30 mL of the raw ground chicken or turkey homogenate into a sample bag.
5. Add 30 mL of Neogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500) (refer to Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media Technical Specification Sheet)[7], that has been pre-warmed to 42°C. This is referred to as the 'Sample'.
6. Incubate the 'Sample' following enrichment conditions in table 2.
7. After enrichment, remove the Sample from the incubator and mix well.
8. Immediately after mixing, aliquot 1.5 mL of the Sample into a 2 mL microcentrifuge tube with conical bottom.
9. Centrifuge in a mini centrifuge at 7,000 x g for 5 minutes to pellet particulates.
10. Carefully discard the supernatant without disturbing the pellet. Gently, invert the tube and tap on paper towel to remove the any remaining excess of supernatant.
11. Resuspend the pellet in 300 µL of QRED500.
12. Vortex until the pellet is completely resuspended in the QRED500.
13. Analyze 50 µL of the resuspended pellet sample (from 12) with the Neogen Molecular Detection Assay 2Q - Quantitative *Salmonella*.

Quantification of *Salmonella* in chicken carcass rinses

1. Place one chicken carcass into a sterile poultry rinse bag.
2. Add 400 mL of Neogen neutralizing buffered peptone water (nBPW) or buffered peptone water (BPW) through the chicken canal (See Table 2).
3. Mix the content for 1 minute to rinse the carcass.
4. Transfer 30 mL of the rinse into a sample bag.
5. Add 30 mL of Neogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500) (refer to Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media Technical Specification Sheet)(6), that has been pre-warmed to 42°C. This is referred to as the 'Sample'.
6. Incubate the Sample following enrichment conditions in table 2.
7. After enrichment, remove the Sample from the incubator and mix well.
8. Immediately after mixing, aliquot 1.5 mL of the Sample into a 2 mL microcentrifuge tube with conical bottom.
9. Centrifuge in a mini centrifuge at 5,000 x g for 5 minutes to pellet particulates.
10. Carefully discard the supernatant without disturbing the pellet. Gently, invert the tube and tap on paper towel to remove any remaining excess of supernatant.
11. Resuspend the pellet in 100 µL (microliters) of QRED500.
12. Vortex until the pellet is completely resuspended in the QRED500.
13. Analyze 50 µL of the resuspended pellet sample (from 12) with the Neogen Molecular Detection Assay 2Q - Quantitative *Salmonella*.

Table 2 present guidance for general enrichment protocols for chicken carcass rinses and raw ground poultry samples. It is the user's responsibility to validate alternate sampling protocols or dilution ratios to ensure this test method meets the user's criteria.

Table 2. General enrichment protocols.

Sample Matrix	Sample Size	Homogenization (first step)	Enrichment	Enrichment Temp	Enrichment Time	Pellet resuspension	Sample Analysis Volume[(a)]
Raw ground chicken	325 g	400 mL BPW	30 mL homogenate + 30 mL QRED	42 ± 1°C	6 hours	300 µL	50 µL
Raw ground turkey	325 g	400 mL BPW	30 mL homogenate + 30 mL QRED	42 ± 1°C	5 hours	300 µL	50 µL
Chicken carcass rinse	30 mL	400 mL nBPW	30 mL nBPW rinse + 30 mL QRED	42 ± 1°C	6 hours	100 µL	50 µL
Chicken carcass rinse	30 mL	400 mL BPW	30 mL BPW rinse + 30 mL QRED	42 ± 1°C	5 hours	100 µL	50 µL

(a) Volume of sample transferred to Lysis Solution tubes. Refer to step 4.5 of Lysis section.

Preparation of the Neogen® Molecular Detection Speed Loader Tray

1. Wet a cloth or disposable towel with a 1–5% (v:v in water) household bleach solution and wipe the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray.
2. Rinse the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray with water.
3. Use a disposable towel to wipe the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray dry.
4. Ensure the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray is dry before use.

Preparation of the Neogen® Molecular Detection Chill Block Insert

Place the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert directly on the laboratory bench. Use the block at ambient laboratory temperature (20–25°C).

Preparation of the Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert

Place the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert in a dry double block heater unit. Turn on the dry block heater unit and set the temperature to allow the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert to reach and maintain a temperature of 100 ±1°C.

NOTE: Depending on the heater unit, allow approximately 30 minutes for the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert to reach temperature. Using an appropriate, calibrated thermometer (e.g., a partial immersion thermometer, digital thermocouple thermometer, not a total immersion thermometer) placed in the designated location, verify that the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ±1°C.

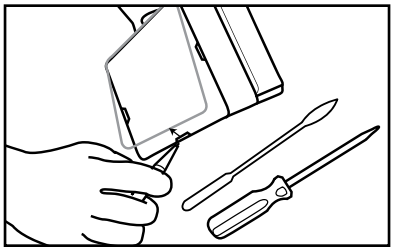
Preparation of the Neogen Molecular Detection Instrument

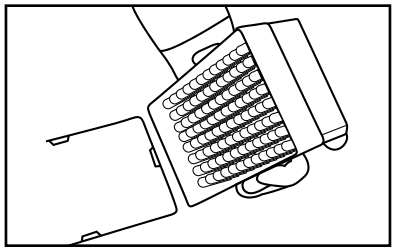
1. Launch the Neogen Molecular Detection Software and log in. Contact your Neogen Food Safety representative to ensure you have the most updated version of the software that includes Quantitative Assays.
2. Turn on the Neogen Molecular Detection Instrument.
3. Create or edit a run with data for each sample. Refer to the Neogen Molecular Detection System User Manual and the MDA2QSAL96 Software Technical Bulletin for details.

NOTE: The Neogen Molecular Detection Instrument must reach and maintain a temperature of 60°C before inserting the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray with reaction tubes. This heating step takes approximately 20 minutes and is indicated by an ORANGE light on the instrument's status bar. When the instrument is ready to start a run, the status bar will turn GREEN.

Lysis

1. Remove the bottom of Neogen Lysis Solution Rack with a screwdriver or spatula before placing it in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert.

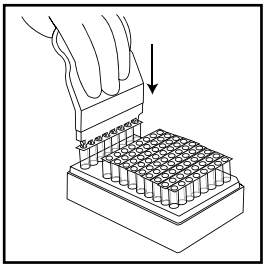
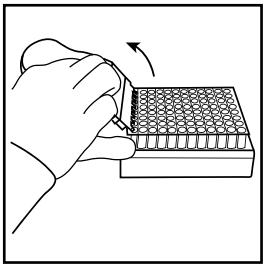
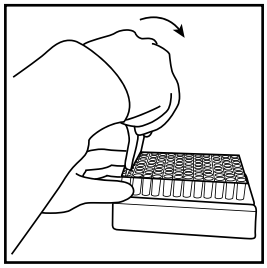
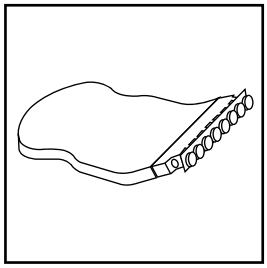
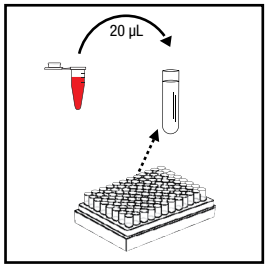




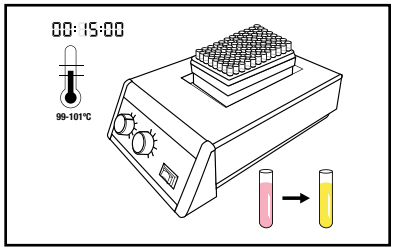
2. Allow the Lysis Solution (LS) tubes to warm up by setting the rack at room temperature (20–25 °C) overnight (16–18 hours). Alternatives to equilibrate the LS tubes to room temperature are to set the LS tubes on the laboratory bench for at least 2 hours, incubate the LS tubes in a 37 ±1°C incubator for 1 hour or place them in a dry double block heater for 30 seconds at 100°C.
3. Invert the capped tubes to mix. Proceed to the next step within 4 hours.
4. One LS tube is required for each sample and the Negative Control (NC) sample (sterile enrichment medium).
   4.1 LS tube strips can be cut to desired LS tube number. Select the number of individual LS tubes or 8-tube strips needed. Place the LS tubes in an empty rack.
   4.2 Use the Neogen® Molecular Detection Cap/Decap Tool-Lysis to decap one LS tube strip.
   4.3 To avoid cross-contamination, decap one LS tubes strip at a time and use a new pipette tip for each transfer step.
   4.4 Discard the LS tube cap.
   4.5 Transfer 50 µL of the resuspended pellet sample into a LS tube.

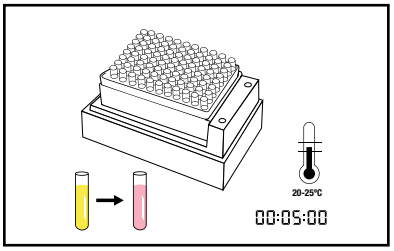
Transfer **50 µL** of each resuspended pellet sample into an individual LS tube **first**. Transfer the NC **last**.

5. Repeat steps 2 to 5 until each individual sample has been added to a corresponding LS tube in the strip.

6. Repeat steps 1 to 5 as needed, for the number of samples to be tested.
7. When all samples have been transferred, transfer 50 µL of NC (sterile QRED500) into a LS tube. Do not use water as a NC.
8. Verify that the temperature of the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ±1°C.
9. Place the uncovered rack of LS tubes in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert and heat for 15 ±1 minutes. During heating, the LS solution will change from pink (cool) to yellow (hot).
   Samples that have not been properly heat treated during the assay lysis step may be considered a potential biohazard and should NOT be inserted into the Neogen Molecular Detection Instrument.
10. Remove the uncovered rack of LS tubes from the heating block and allow to cool in the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert at least 5 minutes and a maximum of 10 minutes. The Neogen Molecular Chill Block Insert, used at ambient temperature without the Molecular Detection Chill Block Tray, should sit directly on the laboratory bench. When cool, the lysis solution will revert to a pink color.
11. Remove the rack of LS tubes from the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert.



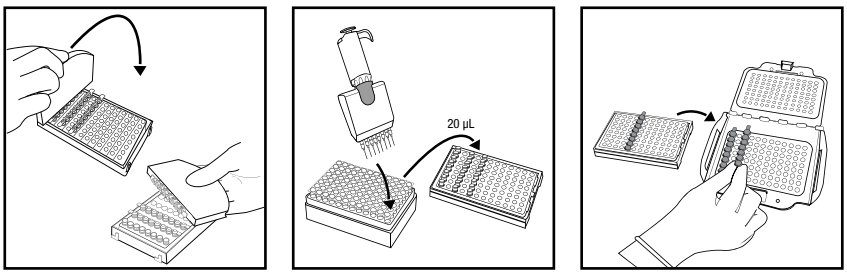


Amplification

1. One Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* is required for each sample and the NC.
   1.1 Reagent tube strips can be cut to desired tube number. Select the number of individual Reagent tubes or 8-tube strips needed.
   1.2 Place Reagent tubes in an empty rack.
   1.3 Avoid disturbing the reagent pellets from the bottom of the tubes.
2 Select one Reagent Control (RC) tube and place it in the rack.
3. To avoid cross-contamination, decap one Reagent Tube strip at a time and use a new pipette tip for each transfer step.
4. Transfer each of the lysates as described below:

Transfer 20 µL of each sample lysate into individual Reagent tubes first followed by the NC. Hydrate the RC tube last.

5. Use the Neogen Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to decap the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent tubes, one Reagent tube strip at a time. Discard cap.
   5.1 Transfer 20 µL of sample lysate from the upper ½ of the liquid (avoid precipitate) in the Neogen Lysis Solution Tube into corresponding Reagent Tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.
   5.2 Repeat step 5.1 until all individual Sample lysate has been added to a corresponding Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent tube in the strip.
   5.3 Cover the Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent tubes with the provided extra caps and use the rounded side of the Neogen Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to apply pressure in a back and forth motion ensuring that the cap is tightly applied.
   5.4 Repeat steps 5.1 to 5.3 as needed, for the number of samples to be tested.
   5.5 When all sample lysates have been transferred, vortex the capped reagents tubes for 2 seconds for mixing, and then spin-down for 10 seconds in a mini-centrifuge to make sure all the liquid is at the bottom of the tube.
   5.6 Transfer 20 µL of NC lysate into a Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent tube and another 20 µL of NC lysate into a RC tube. Dispense at an angle to avoid disturbing the pellets. Mix by gently pipetting up and down 5 times.
6. Load capped tubes into a clean and decontaminated Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray. Close and latch the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray lid.



7. Review and confirm the configured run in the Neogen Molecular Detection Software Quantitative Assays.
8. Click the Start button in the software and select instrument for use. The selected instrument's lid automatically opens.
9. Place the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray into the Neogen Molecular Detection Instrument and close the lid to start the assay. Results are provided within 60 minutes, although positives may be detected sooner.

10. After the assay is complete, remove the Neogen Molecular Detection Speed Loader Tray from the Neogen Molecular Detection Instrument and dispose of the tubes by soaking in a 1-5% (v:v in water) household bleach solution for 1 hour and away from the assay preparation area.

NOTICE: To minimize the risk of false positives due to cross-contamination, never open reagent tubes containing amplified DNA. This includes Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* Reagent, Neogen Reagent Control, and Neogen Matrix Control Tubes. Always dispose of sealed reagent tubes by soaking in a 1-5% (v:v in water) household bleach solution for 1 hour and away from the assay preparation area.

Results and Interpretation

The results are determined by the analysis of unique curve parameters by the software.

References:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella*, September 2023 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.14. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, Carcass, and Environmental Sponges. Effective Date: 05 June 2023.
3. ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuff – General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Neogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500) Technical Specification Sheet.

Explanation of Symbols

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved. Neogen, is a registered trademark of Neogen Corporation. Patent: neogen.com/patents.

NEOGEN®

Instructions sur les produits

Kit Neogen de détection moléculaire 2Q – Kit de dépistage de quantification des *Salmonella*

Description du produit et utilisation prévue

Le kit Neogen® de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* (MDA2QSAL96) est utilisé avec les milieux déshydratés à enrichissement rapide pour la quantification (QRED500) Neogen® et le système de détection moléculaire Neogen® pour la quantification rapide des *Salmonella* dans les rinçages de carcasses de poulet enrichies et les échantillons de volaille hachée crue. Le kit Neogen® de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* et une application modèle accessible via le logiciel Neogen® Molecular Detection System Software. Les résultats obtenus dans le logiciel Neogen® Molecular Detection System Software sont utilisés pour évaluer la quantité de *Salmonella* dans les rinçages de carcasses de poulet et les matrices de volaille hachée crue.

Le test utilise l'amplification isotherme médiée par les boucles pour amplifier rapidement des séquences d'acides nucléiques avec une spécificité et une sensibilité élevées, en association avec la bioluminescence pour détecter l'amplification. Les résultats positifs présumés sont signalés en temps réel. Les résultats inférieurs à la limite de détection seront affichés comme négatifs une fois l'analyse terminée. Les résultats présumés positifs doivent être confirmés à l'aide de votre méthode préférée ou selon les réglementations locales[1, 2, 3].

Le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* est destiné à une utilisation en laboratoire par des professionnels formés aux techniques de laboratoire. Neogen n'a pas documenté l'utilisation de ce produit dans des secteurs autres que l'alimentation ou les boissons. Ainsi, Neogen n'a pas documenté ce produit pour le test d'échantillons pharmaceutiques, cosmétiques, cliniques ou vétérinaires. Le kit de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* de Neogen n'a pas été évalué avec tous les produits alimentaires, procédés alimentaires et protocoles de test possibles, ni avec toutes les souches de bactéries possibles. Comme pour toutes les méthodes de test, la source, la formulation et la qualité du milieu d'enrichissement peuvent influencer les résultats. Des facteurs tels que les méthodes d'échantillonnage, les protocoles de test, la préparation des échantillons, la manipulation et les techniques de laboratoire peuvent également influencer les résultats. Neogen recommande d'évaluer la méthode, y compris le milieu d'enrichissement, dans l'environnement de l'utilisateur en utilisant un nombre suffisant d'échantillons avec des aliments particuliers et des défis microbiens pour s'assurer que la méthode répond aux critères de l'utilisateur.

Neogen a évalué le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* avec de l'eau peptonée tamponnée Neogen® (BPW), de l'eau peptonée tamponnée neutralisante Neogen® (nBPW) et des milieux déshydratés à enrichissement rapide pour la quantification de Neogen (QRED500).

L'instrument de détection moléculaire Neogen est destiné à une utilisation avec des échantillons ayant été soumis à un traitement thermique lors de la phase de lyse de l'analyse, qui vise à détruire les organismes présents dans l'échantillon.

Les échantillons qui n'ont pas été traités thermiquement lors de la phase de lyse de l'analyse peuvent être considérés comme présentant un risque biologique potentiel et ne doivent PAS être insérés dans l'instrument de détection moléculaire Neogen.

Neogen Food Safety est certifiée ISO (International Organization for Standardization) 9001 en termes de conception et de fabrication.

Le kit de test Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* contient 96 tests, décrits dans le tableau 1.

Tableau 1. Composants du kit

Élément	Identification	Quantité	Contenu	Commentaires
Tubes de solution de lyse (LS)	Solution rose dans des tubes transparents	96 (12 barrettes de 8 tubes)	580 µl de LS par tube	Sur portoir et prêts à l'emploi
Quantification de *Salmonella* Tubes de réactifs	Tubes verts	96 (12 barrettes de 8 tubes)	Mélange d'amplification et de détection spécifiques lyophilisé	Prêt à l'emploi
Bouchons supplémentaires	Bouchons verts	96 (12 barrettes de 8 bouchons)		Prêt à l'emploi
Contrôle de réactif (RC)	Tubes transparents à rabat	16 (2 sachets de 8 tubes individuels)	ADN témoin lyophilisé, mélange d'amplification et de détection	Prêt à l'emploi

Le témoin négatif, non fourni dans le kit, est un milieu d'enrichissement stérile, p. ex. BPW, nBPW ou QRED500. Ne pas utiliser de l'eau comme témoin négatif.

Sécurité

L'utilisateur doit lire, comprendre et respecter toutes les consignes de sécurité figurant dans les instructions relatives au système de détection moléculaire Neogen et au kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella*. Conservez les consignes de sécurité pour référence ultérieure.

⚠ **AVERTISSEMENT :**	Indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner la mort ou des blessures graves et/ou des dommages matériels.
⚠ **ATTENTION :**	Indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des dommages corporels et/ou matériels légers et/ou moyennement graves.
MISE EN GARDE :	Indique une situation potentiellement dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des dommages matériels.

⚠ AVERTISSEMENT

Le protocole Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* N'A PAS de points d'interruption. Les échantillons doivent être entièrement analysés après avoir été enrichis (voir les protocoles dans le tableau 2).

Ne pas utiliser le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* pour diagnostiquer des maladies chez l'homme ou l'animal.

L'utilisateur doit former son personnel aux techniques de test actuelles appropriées : par exemple, les Bonnes Pratiques de Laboratoire, ISO/IEC 17025[4] ou ISO 7218[5].

Pour réduire les risques associés à un résultat inférieur à la limite de quantification (LQ) entraînant la commercialisation d'un produit contaminé :

- Ne pas interpréter les résultats inférieurs à la LQ du test Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* comme un résultat négatif pour les *Salmonella*. Les résultats inférieurs à la LQ n'indiquent pas l'absence totale de *Salmonella*, mais seulement que la concentration de *Salmonella*, le cas échéant, est inférieure à la LQ pour cette méthode.
- Suivre le protocole et effectuer les tests exactement comme indiqué dans les instructions du produit.
- Toujours utiliser une micropipette étalonnée.
- Utiliser le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* avec des aliments qui ont été validés en interne ou par un tiers.

- Conserver le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* conformément aux indications figurant sur l'emballage et dans les instructions du produit.
- Toujours utiliser le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* avant la date d'expiration.
- Ne pas utiliser les enrichissements d'échantillons décrits dans les instructions du kit Neogen® de détection moléculaire 2 de quantification des *Salmonella* (MDA2SAL96) à des fins **QUALITATIVES**. Les enrichissements inclus dans les instructions de ce kit ont été développés spécifiquement pour ce test de **QUANTIFICATION**.

Pour réduire les risques liés à l'exposition aux produits chimiques et aux risques biologiques :

- Effectuer les tests d'agents pathogènes dans un laboratoire correctement équipé sous le contrôle d'un personnel qualifié. Les milieux d'enrichissement incubés et l'équipement ou les surfaces qui ont été en contact avec des milieux d'enrichissement incubés peuvent contenir des agents pathogènes à des niveaux suffisants pour présenter un risque pour la santé humaine.
- Cette procédure utilise/détecte les micro-organismes pathogènes et/ou leurs produits métaboliques au-delà d'un certain niveau. Des précautions doivent être prises pour éviter l'ingestion ou l'inhalation d'aérosols potentiellement infectieux ou le contact avec la peau. Toujours suivre les pratiques de sécurité standard en laboratoire, y compris le port de vêtements de protection appropriés et d'une protection oculaire lors de la manipulation d'échantillons contaminés et de réactifs.
- Éviter tout contact avec le contenu des milieux d'enrichissement et des tubes de réactifs après l'amplification.
- Éliminer les échantillons enrichis conformément aux normes du secteur en vigueur.
- Les échantillons qui n'ont pas été traités thermiquement lors de la phase de lyse de l'analyse peuvent être considérés comme présentant un risque biologique potentiel et ne doivent PAS être insérés dans l'instrument de détection moléculaire Neogen.
- Pour réduire les risques associés à une contamination croisée lors de la préparation de l'analyse :
- Toujours porter des gants (pour protéger l'utilisateur et empêcher l'introduction de nucléases).

Pour réduire les risques liés à la contamination de l'environnement :

Respecter les normes en vigueur concernant l'élimination des déchets contaminés.

⚠ ATTENTION

Pour réduire les risques liés à l'exposition à des liquides chauds :

- Ne pas dépasser la température recommandée sur l'appareil de chauffage.
- Ne pas dépasser le temps de chauffe recommandé.

Utiliser un thermomètre approprié et calibré pour vérifier la température du bloc thermique de détection moléculaire Neogen® (par exemple, un thermomètre à immersion partielle ou un thermomètre à thermocouple numérique, pas un thermomètre à immersion totale). Le thermomètre doit être placé à l'endroit prévu dans le support du bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen.

MISE EN GARDE

Pour réduire les risques associés à une contamination croisée lors de la préparation de l'analyse :

- Changer de gants avant l'hydratation des pastilles de réactifs.
- Il est recommandé d'utiliser des embouts de pipette stériles, avec barrière contre les aérosols (à filtre), de qualité biologie moléculaire.
- Utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque transfert d'échantillon.
- Utiliser les bonnes pratiques de laboratoire lors des étapes de centrifugation et pour transférer l'échantillon de l'enrichissement au tube de lyse. Pour éviter la contamination par la pipette, l'utilisateur peut choisir d'ajouter une étape de transfert intermédiaire. Par exemple, l'utilisateur peut transférer chaque échantillon enrichi dans un tube stérile.
- Utiliser un poste de travail de biologie moléculaire équipé d'une lampe germicide, le cas échéant. Décontaminer périodiquement les paillasses et le matériel de laboratoire (pipettes, outils de capsulage/décapsulage, etc.) avec une solution d'eau de Javel à 1 à 5 % (v:v dans de l'eau) ou une solution d'élimination de l'ADN.

Pour réduire les risques liés à un résultat faussement positif :

- Ne jamais ouvrir les tubes après l'amplification.
- Éliminer toujours les tubes contaminés en les faisant tremper dans une solution d'eau de Javel à 1 à 5 % (v:v dans l'eau) pendant une heure et en les éloignant de la zone de préparation de l'essai.
- Ne jamais stériliser en autoclave les tubes de réactifs après l'amplification.
- Toujours utiliser une micropipette étalonnée.

Consulter la fiche de données de sécurité pour plus d'informations et les réglementations locales en matière de mise au rebut.

Si vous avez des questions au sujet d'applications ou de procédures spécifiques, veuillez visiter notre site Web à l'adresse neogen.com ou contacter votre représentant ou votre distributeur Neogen agréé local.

Responsabilité de l'utilisateur

Les utilisateurs sont tenus de se familiariser avec les instructions et les informations sur les produits. Visiter notre site Web à l'adresse neogen.com ou contacter votre représentant ou votre distributeur agréé Neogen local pour plus d'informations.

Lors du choix d'une méthode de test, il est important d'admettre que des facteurs externes tels que les méthodes d'échantillonnage, les protocoles de test, la préparation et la manipulation des échantillons, les techniques de laboratoire et l'échantillon lui-même peuvent influer sur les résultats.

Lors du choix de tout produit ou méthode de test, il est de la responsabilité de l'utilisateur d'évaluer un nombre suffisant d'échantillons avec les matrices et les défis microbiens appropriés pour vérifier que la méthode de test choisie répond à ses critères.

Il est également de la responsabilité de l'utilisateur de déterminer si les méthodes de test et les résultats répondent aux exigences de ses clients et fournisseurs.

Comme pour toute méthode de test, les résultats obtenus par l'utilisation d'un produit Neogen Food Safety ne constituent pas une garantie de la qualité des matrices ou procédés testés.

Afin d'aider les clients à évaluer la méthode pour diverses matrices alimentaires, Neogen a mis au point le kit de contrôle de matrice pour système de détection moléculaire Neogen®. Si nécessaire, utiliser le contrôle de matrice de détection moléculaire (MC) pour déterminer si la matrice peut avoir un impact sur les résultats du test Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella*. Tester plusieurs échantillons représentatifs de la matrice, c'est-à-dire des échantillons d'origine différente, pendant toute période de validation lors de l'adoption de la méthode Neogen ou lors du test de matrices nouvelles ou inconnues ou de matrices ayant subi des changements en termes de matières premières ou de procédé.

Une matrice peut être définie comme un type de produit présentant des propriétés intrinsèques telles que la composition et le procédé. Les différences entre les matrices peuvent être aussi simples que les effets causés par les différences de traitement ou de présentation, par exemple, cru ou pasteurisé, frais ou séché, etc.

Limitation des garanties / Recours limité

SAUF MENTION EXPRESSE DANS UNE SECTION DE GARANTIE LIMITÉE DE L'EMBALLAGE D'UN PRODUIT INDIVIDUEL, NEOGEN DÉCLINE TOUTE GARANTIE EXPRESSE ET IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE DE QUALITÉ MARCHANDE OU D'ADÉQUATION À UN USAGE PARTICULIER. Si un produit Neogen Food Safety est défectueux, Neogen ou son distributeur agréé remplacera ou remboursera le prix d'achat du produit, à sa discrétion. Ce sont vos recours exclusifs. Vous devez informer rapidement Neogen dans les soixante jours suivant la découverte de tout défaut suspecté dans un produit et retourner ce dernier à Neogen. Veuillez contacter votre représentant de Neogen Food Safety ou votre distributeur agréé de Neogen pour toute question supplémentaire.

Limitation de la responsabilité de Neogen

NEOGEN NE SERA PAS RESPONSABLE DES PERTES OU DOMMAGES, QU'ILS SOIENT DIRECTS, INDIRECTS, SPÉCIAUX, ACCESSOIRES OU CONSÉCUTIFS, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, LES PERTES DE PROFITS. En aucun cas, la responsabilité de Neogen en vertu d'une théorie juridique ne pourra excéder le prix d'achat du produit prétendument défectueux.

Stockage et mise au rebut

Conserver les composants du kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas le congeler. Conserver le kit à l'abri de la lumière. Après avoir ouvert le kit, vérifier que le sachet en aluminium n'est pas endommagé. Si le sachet est endommagé, ne pas l'utiliser. Après ouverture, les tubes de réactifs non utilisés doivent toujours être conservés dans le sachet refermable avec le déshydratant à l'intérieur pour maintenir la stabilité des réactifs lyophilisés. Conserver les sachets refermés entre 2 et 8° C pendant 60 jours au maximum. Ne pas utiliser le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* après la date d'expiration. La date d'expiration et le numéro de lot sont indiqués sur l'étiquette extérieure de la boîte. Après utilisation, le milieu d'enrichissement et les tubes Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* peuvent potentiellement contenir des matériaux pathogènes. Une fois le test terminé, respecter les réglementations locales du secteur pour l'élimination des déchets contaminés. Consulter la fiche de données de sécurité pour plus d'informations.

Mode d'emploi

Suivre attentivement toutes les instructions. Leur non-respect peut fausser les résultats.

Décontaminer périodiquement les paillasses et le matériel de laboratoire (pipettes, outils de capsulage/décapsulage, etc.) avec une solution d'eau de Javel à 1 à 5 % (v:v dans de l'eau) ou une solution d'élimination de l'ADN.

L'utilisateur doit suivre la formation de qualification destinée à l'opérateur du système de détection moléculaire Neogen, comme décrit dans le document Protocoles et instructions de qualification de l'installation (IQ)/qualification opérationnelle (OQ) du système de détection moléculaire Neogen [6].

Voir la section Instructions spécifiques pour les méthodes validées pour connaître les exigences spécifiques :

Quantification des *Salmonella* dans le poulet et la dinde hachés crus

1. Peser 325 g de poulet ou de dinde crus hachés et les placer dans un sac stérile.
2. Ajouter 400 ml d'eau peptonée tamponnée (BPW).
3. Homogénéiser soigneusement en mélangeant à 180 tr/min pendant 1 minute.
4. Transférer 30 ml de l'homogénat de poulet ou de dinde haché cru dans un sac à échantillons.
5. Ajouter 30 ml de milieu déshydraté à enrichissement rapide pour la quantification de Neogen (QRED500) (voir la fiche technique du milieu déshydraté à enrichissement rapide pour la quantification)[7], qui a été préchauffé à 42 °C. C'est ce qu'on appelle l'échantillon.
6. Incuber l'échantillon en suivant les conditions d'enrichissement du tableau 2.
7. Après l'enrichissement, retirer l'échantillon de l'incubateur et bien mélanger.
8. Immédiatement après le mélange, aliquoter 1,5 ml de l'échantillon dans un tube de microcentrifugation de 2 ml à fond conique.
9. Centrifuger dans une mini-centrifugeuse à 7 000 x g pendant 5 minutes pour éliminer les particules.
10. Jeter soigneusement le surnageant sans agiter les granulés. Retourner doucement le tube et le tapoter sur du papier absorbant pour éliminer l'excédent de surnageant.
11. Remettre en suspension les granulés dans 300 µl de QRED500.
12. Agiter jusqu'à ce que les granulés soient complètement remis en suspension dans le QRED500.
13. Analyser 50 µl de l'échantillon remis en suspension (voir point 12) avec le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella*.

Quantification des *Salmonella* dans les rinçages de carcasses de poulet

1. Placer une carcasse de poulet dans un sachet de rinçage stérile pour volaille.
2. Ajouter 400 ml d'eau peptonée tamponnée neutralisante de Neogen (nBPW) ou d'eau peptonée tamponnée (BPW) par le canal du poulet (voir tableau 2).
3. Mélanger le contenu pendant 1 minute pour rincer la carcasse.
4. Transférer 30 ml du liquide de rinçage dans un sachet à échantillons.
5. Ajouter 30 ml de milieu déshydraté à enrichissement rapide pour la quantification de Neogen (QRED500) (voir la fiche technique du milieu déshydraté à enrichissement rapide pour la quantification)(6), qui a été préchauffé à 42 °C. C'est ce qu'on appelle l'« échantillon ».
6. Incuber l'échantillon en suivant les conditions d'enrichissement du tableau 2.
7. Après l'enrichissement, retirer l'échantillon de l'incubateur et bien mélanger.
8. Immédiatement après le mélange, aliquoter 1,5 ml de l'échantillon dans un tube de microcentrifugation de 2 ml à fond conique.
9. Centrifuger dans une mini-centrifugeuse à 5 000 x g pendant 5 minutes pour éliminer les particules.
10. Jeter soigneusement le surnageant sans agiter les granulés. Retourner doucement le tube et le tapoter sur du papier absorbant pour éliminer l'excédent de surnageant.
11. Remettre en suspension les granulés dans 100 µl (microlitres) de QRED500.
12. Agiter jusqu'à ce que les granulés soient complètement remis en suspension dans le QRED500.
13. Analyser 50 µl de l'échantillon remis en suspension (voir point 12) avec le kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella*.

Le tableau 2 présente des directives pour les protocoles généraux d'enrichissement pour le rinçage des carcasses de poulet et les échantillons de volaille hachée crue. Il incombe à l'utilisateur de valider d'autres protocoles d'échantillonnage ou taux de dilution afin de s'assurer que cette méthode de test répond à ses critères.

Tableau 2. Protocoles d'enrichissement généraux.

Matrice d'échantillon	Taille d'échantillon	Homogénéisation (première étape)	Enrichissement	Température d'enrichissement	Durée d'enrichissement	Remise en suspension des granulés	Volume d'analyse de l'échantillon[a]
Poulet haché cru	325 g	BPW 400 ml	30 ml d'homogénat + 30 ml de QRED	42 ± 1 °C	6 heures	300 µl	50 µl
Dinde hachée crue	325 g	BPW 400 ml	30 ml d'homogénat + 30 ml de QRED	42 ± 1 °C	5 heures	300 µl	50 µl
Rinçage de la carcasse de poulet	30 ml	nBPW 400 ml	30 ml de rinçage nBPW + 30 ml de QRED	42 ± 1 °C	6 heures	100 µl	50 µl
Rinçage de la carcasse de poulet	30 ml	BPW 400 ml	30 ml de rinçage BPW + 30 ml de QRED	42 ± 1 °C	5 heures	100 µl	50 µl

a) Volume de l'échantillon transféré dans les tubes de la solution de lyse. Se reporter à l'étape 4.5 de la section Lyse.

Préparation du plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen®

1. Mouiller un chiffon ou une serviette jetable avec une solution d'eau de Javel à 1 à 5 % (v:v dans l'eau) et essuyer le plateau du chargeur rapide de détection moléculaire de Neogen.
2. Rincer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen avec de l'eau.
3. Essuyer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen à l'aide d'une serviette jetable.
4. Veiller à ce que le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen soit sec avant de l'utiliser.

Préparation du support du bloc réfrigérant pour système de détection moléculaire Neogen®

Placer le support du bloc réfrigérant pour système de détection moléculaire Neogen directement sur la paillasse du laboratoire. Utiliser le bloc à température ambiante de laboratoire (20 à 25 °C).

Préparation du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen®

Placer le support du bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen dans une unité de traitement thermique à sec à double bloc. Allumer l'unité de traitement thermique à sec à double bloc et régler la température de sorte que le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen atteigne une température de 100 ± 1 °C et la maintienne.

REMARQUE : selon l'unité de traitement thermique, attendre environ 30 minutes pour que le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen atteigne la température. Utiliser un thermomètre étalonné approprié (p. ex., un thermomètre à immersion partielle ou un thermomètre à thermocouple numérique, pas un thermomètre à immersion totale) placé à l'emplacement désigné pour vérifier que le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen est à une température de 100 ± 1 °C.

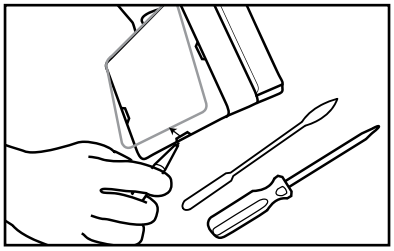
Préparation de l'instrument de détection moléculaire de Neogen

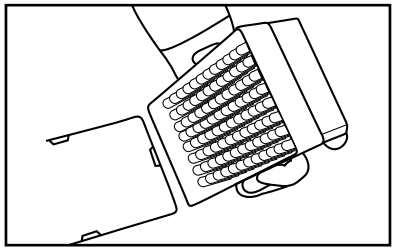
1. Lancer le logiciel Neogen Molecular Detection Software et se connecter. Contacter le représentant de Neogen Food Safety pour s'assurer que la version la plus récente du logiciel est utilisée qui comprend les analyses quantitatives.
2. Allumer l'instrument de détection moléculaire Neogen.
3. Créer ou modifier une analyse avec des données pour chaque échantillon. Se reporter au manuel de l'utilisateur du système de détection moléculaire de Neogen et au bulletin technique du logiciel MDA2QSAL96 pour plus de détails.

REMARQUE : l'instrument de détection moléculaire Neogen doit atteindre et maintenir une température de 60 °C avant d'insérer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen avec des tubes de réaction. Cette étape de chauffage prend environ 20 minutes et est indiquée par un voyant ORANGE sur la barre d'état de l'instrument. Lorsque l'instrument est prêt à démarrer une analyse, la barre d'état devient VERTE.

Lyse

1. Retirer le fond du portoir de solution de lyse de Neogen à l'aide d'un tournevis ou d'une spatule avant de le placer dans le bloc thermique de détection moléculaire de Neogen.

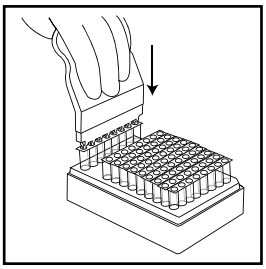
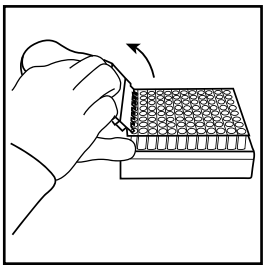
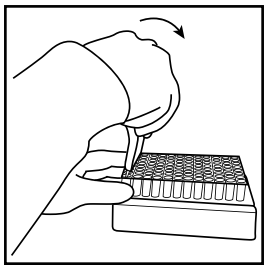
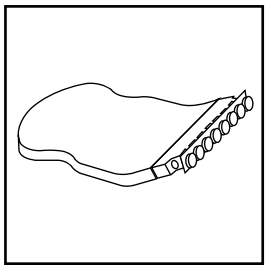
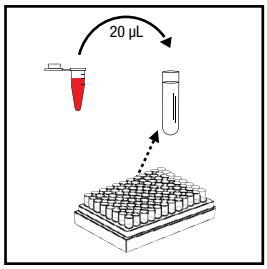




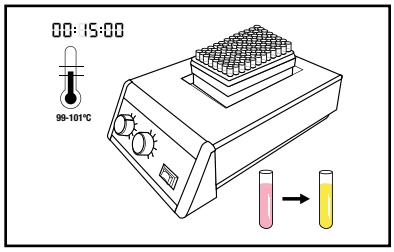
2. Laisser les tubes de la solution de lyse (LS) se réchauffer en laissant le portoir à température ambiante (20 à 25 °C) pendant la nuit (16 à 18 heures). Pour équilibrer les tubes de LS à la température ambiante, vous pouvez les placer sur la paillasse du laboratoire pendant au moins 2 heures, les incuber dans un incubateur à 37 ± 1 °C pendant 1 heure ou les placer dans une unité de traitement thermique à sec à double bloc pendant 30 secondes à 100 °C.
3. Retourner les tubes fermés pour mélanger. Passer à l'étape suivante dans les 4 heures.
4. Un tube de LS est nécessaire pour chaque échantillon et pour l'échantillon de témoin négatif (NC) (milieu d'enrichissement stérile).
   4.1 Les barrettes de tubes LS peuvent être coupées au nombre de tubes LS souhaité. Sélectionner le nombre de tubes LS individuels ou de bandes de 8 tubes nécessaires. Placer les tubes LS dans un portoir vide.
   4.2 Utiliser l'outil de pose/retrait de bouchons de lyse pour système de détection moléculaire Neogen® pour ouvrir une barrette de tubes de LS.
   4.3 Pour éviter toute contamination croisée, déboucher une seule barrette de tubes de LS à la fois et utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque étape de transfert.
   4.4 Jeter le capuchon du tube de LS.
   4.5 Transférer 50 µl de l'échantillon de granulés remis en suspension dans un tube de LS.

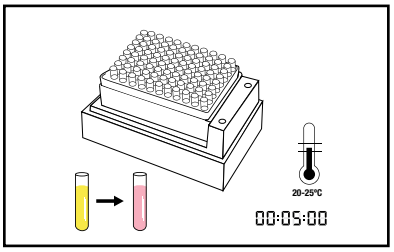
Transférer **d'abord 50 µl** de chaque échantillon de granulés remis en suspension dans un tube de LS individuel. Transférer le témoin négatif (NC) **en dernier**.

5. Répéter les étapes 2 à 5 jusqu'à ce que chaque échantillon individuel ait été ajouté à un tube de LS correspondant dans la barrette.

6. Répéter les étapes 1 à 5 si nécessaire, pour le nombre d'échantillons à tester.
7. Lorsque tous les échantillons ont été transférés, transférer 50 µl de NC (QRED500 stérile) dans un tube de LS. Ne pas utiliser de l'eau comme témoin négatif.
8. Vérifier que la température du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen est à 100 ± 1 °C.
9. Placer le portoir non couvert de tubes de LS dans le support du bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen et le chauffer pendant 15 ± 1 minute. Pendant le chauffage, la LS passe du rose (froid) au jaune (chaud).
   Les échantillons qui n'ont pas été traités thermiquement lors de la phase de lyse de l'analyse peuvent être considérés comme présentant un risque biologique potentiel et ne doivent PAS être insérés dans l'instrument de détection moléculaire Neogen.
10. Retirer le portoir non couvert des tubes de LS du bloc chauffant et le laisser refroidir dans le support de bloc réfrigérant pour système de détection moléculaire Neogen pendant au moins 5 minutes et un maximum de 10 minutes. Utilisé à température ambiante sans le plateau de bloc réfrigérant pour système de détection moléculaire, le support du bloc réfrigérant pour système de détection moléculaire Neogen doit reposer directement sur la paillasse de laboratoire. Lorsqu'elle est refroidie, la solution de lyse reprend une couleur rose.
11. Retirer le portoir de tubes de LS du support de bloc réfrigérant pour système de détection moléculaire Neogen.





Amplification

1. Un test Neogen de détection moléculaire 2Q pour la quantification des *Salmonella* est requis pour chaque échantillon et le NC.
   1.1 Les barrettes de tubes de réactif peuvent être coupées au nombre de tubes souhaité. Sélectionner le nombre de tubes de réactifs individuels ou de bandes de 8 tubes nécessaires.
   1.2 Placer les tubes de réactif dans un portoir vide.
   1.3 Éviter d'agiter les granulés de réactif au fond des tubes.

2 Sélectionner un tube de contrôle de réactif (RC) et le placer dans le portoir.

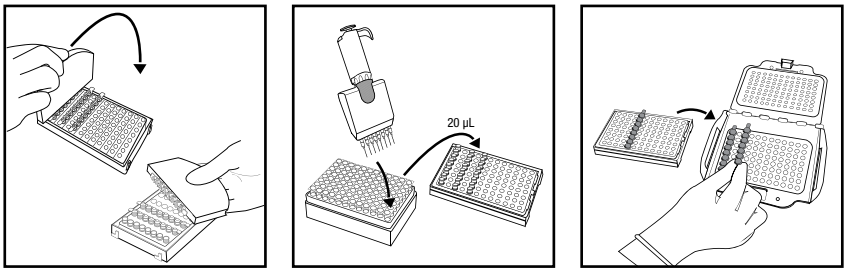
3. Pour éviter toute contamination croisée, déboucher une seule barrette de tubes de réactif à la fois et utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque étape de transfert.

4. Transférer chacun des lysats comme décrit ci-dessous :

Transférer d'abord 20 µl de chaque lysat d'échantillon dans des tubes de réactif individuels, puis dans le NC. Hydrater le tube RC en dernier.

5. Utiliser l'outil de pose/retrait de bouchons de réactif pour système de détection moléculaire Neogen pour ouvrir les tubes de réactif du kit Neogen de détection moléculaire 2Q pour la quantification des *Salmonella* (une barrette de tubes de réactif à la fois). Éliminer le bouchon.
   5.1 Transférer 20 µl de lysat d'échantillon à partir du ½ supérieur du liquide (éviter le précipité) dans le tube de solution de lyse de Neogen dans le tube de réactif correspondant. Verser de biais pour éviter d'agiter les granulés. Mélanger en pipetant doucement de haut en bas 5 fois.
   5.2 Répéter l'étape 5.1 jusqu'à ce que tous les lysat d'échantillon individuels aient été ajoutés à un tube de réactif correspondant du kit Neogen de détection moléculaire 2Q pour la quantification des *Salmonella* de la barrette.
   5.3 Couvrir les tubes de réactif du kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella* avec les bouchons supplémentaires fournis et utiliser le côté arrondi de l'outil de pose/retrait de bouchons de réactif pour système de détection moléculaire Neogen pour appliquer une pression avec un mouvement de va-et-vient afin de vous assurer que le bouchon est parfaitement en place.
   5.4 Répéter les étapes 5.1 à 5.3 si nécessaire, pour le nombre d'échantillons à tester.
   5.5 Lorsque tous les lysats d'échantillon ont été transférés, agiter les tubes de réactif bouchés pendant 2 secondes pour les mélanger, puis les essorer pendant 10 secondes dans une mini-centrifugeuse afin de s'assurer que tout le liquide se trouve au fond du tube.
   5.6 Transférer 20 µl de lysat de témoin négatif dans un tube de réactif du kit Neogen de détection moléculaire 2Q pour la quantification des *Salmonella* et 20 µl supplémentaires de lysat de témoin négatif dans un tube RC. Verser de biais pour éviter d'agiter les granulés. Mélanger en pipetant doucement de haut en bas 5 fois.

6. Charger les tubes fermés dans un plateau propre et décontaminé de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen. Fermer et verrouiller le couvercle du plateau de chargement rapide de détection moléculaire de Neogen.



7. Réviser l'analyse et la confirmer dans le logiciel de détection moléculaire Neogen (analyses quantitatives).

8. Cliquer sur le bouton Démarrer dans le logiciel et sélectionner l'instrument à utiliser. Le couvercle de l'instrument sélectionné s'ouvre automatiquement.

9. Placer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen dans l'instrument de détection moléculaire Neogen et fermer le couvercle pour commencer l'analyse. Les résultats sont fournis dans les 60 minutes, bien que les résultats positifs puissent être détectés plus tôt.

10. Une fois l'analyse terminée, retirer le plateau de chargement rapide de l'instrument de détection moléculaire Neogen et faire tremper les tubes contaminés dans une solution d'eau de Javel ménagère à 1-5 % (v:v dans l'eau) pendant une heure et à un emplacement éloigné de la zone de préparation de l'analyse.

MISE EN GARDE : pour réduire le risque de faux positifs dus à une contamination croisée, ne jamais ouvrir les tubes de réactif contenant de l'ADN amplifié. Il s'agit notamment des tubes de réactif, de contrôle de réactif Neogen, ainsi que des tubes de contrôle de matrice Neogen du kit Neogen de détection moléculaire 2Q de quantification des *Salmonella*. Éliminer toujours les tubes de réactif scellés en les faisant tremper dans une solution d'eau de Javel ménagère à 1-5 % (v:v dans l'eau) pendant une heure et à un emplacement éloigné de la zone de préparation du test.

Résultats et interprétation

Les résultats sont déterminés par l'analyse des paramètres uniques de la courbe par le logiciel.

Références :

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapitre 5 : *Salmonella*, version, septembre 2023.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.14. Isolement et identification des *Salmonella* dans la viande, la volaille, les œufs pasteurisés, les carcasses et les éponges environnementales. Date d'entrée en vigueur : 05 juin 2023.
3. ISO 6579. Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.
4. ISO/IEC 17025. Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais.
5. ISO 7218. Microbiologie des aliments – Exigences générales et recommandations.
6. Protocoles et instructions de Neogen pour la qualification de l'installation (QI) et la qualification opérationnelle (QO) du système de détection moléculaire de Neogen.
7. Fiche technique des milieux déshydratés à enrichissement rapide pour la quantification de Neogen (QRED500).

Explication des symboles

info.neogen.com/symbols

Sécurité alimentaire Neogen

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 États-Unis
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Écosse, Royaume-Uni

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Irlande

© Neogen Corporation 2024. Tous droits réservés. Neogen est une marque déposée de Neogen Corporation. Patent: neogen.com/patents.

NEOGEN®

Produktanweisungen

Kit Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ

Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Der Kit Neogen® Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ (MDA2QSAL96) wird mit Neogen® Dehydrierte Medien für die quantitative Schnellanreicherung (QRED500) und Neogen® Molekulares Nachweissystem für die schnelle Quantifizierung von *Salmonellen* in angereicherten Spülungen der Hühnerschlachtkörper und rohen Geflügelhackproben verwendet. Der Kit umfasst Neogen® Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ sowie eine Modellanwendung, auf die mittels der Software Neogen® Molekulares Detektionssystem zugegriffen werden kann. Das mittels der Software Neogen® Molekulares Detektionssystem erzielte Ergebnis wird verwendet, um die Menge an *Salmonellen* in den Spülungen der Hühnerschlachtkörper und rohen Geflügelhackmatrices zu bestimmen.

Der Test verwendet die Loop-vermittelte isothermale Amplifikation zur schnellen Vervielfältigung von Nukleinsäuresequenzen mit hoher Spezifität und Sensitivität, kombiniert mit Biolumineszenz zur Detektion der Amplifikation. Vermutlich positive Ergebnisse werden in Echtzeit gemeldet. Ergebnisse, die unterhalb der Nachweisgrenze liegen, werden nach Abschluss des Tests als negativ angezeigt. Vermutlich positive Ergebnisse müssen mit Ihrer bevorzugten Methode bestätigt werden, wie in den örtlichen Bestimmungen angegeben.[1, 2, 3]

Der Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ ist vorgesehen für die Verwendung in einer Laborumgebung durch Fachkräfte, die in Labortechniken geschult sind. Neogen hat die Verwendung dieses Produkts in anderen Branchen als der Lebensmittel- oder Getränkeindustrie nicht dokumentiert. Zum Beispiel hat Neogen dieses Produkt nicht für die Prüfung von Pharma-, Kosmetik-, klinischen oder veterinärmedizinischen Proben dokumentiert. Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ wurde nicht mit allen möglichen Lebensmitteln, Verarbeitungsmethoden für Lebensmittel, Testprotokollen oder Bakterienstämmen geprüft. Wie bei allen Testmethoden können Quelle, Formel und Qualität des Anreicherungsmediums die Ergebnisse beeinflussen. Faktoren wie Probenahmemethoden, Testprotokolle, Probenvorbereitung, Handhabung und Labortechnik können die Ergebnisse ebenfalls beeinflussen. Neogen empfiehlt, die Methode einschließlich des Anreicherungsmediums in der Umgebung des Benutzers unter Verwendung einer ausreichenden Anzahl von Proben mit bestimmten Lebensmitteln und mikrobiellen Herausforderungen zu bewerten, um sicherzustellen, dass die Methode die Kriterien des Benutzers erfüllt.

Neogen hat den Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ mit Neogen® Gepuffertes Peptonwasser (BPW), Neogen® Neutralisierendes gepuffertes Peptonwasser (nBPW) und Neogen Dehydrierte Medien für die quantitative Schnellanreicherung (QRED500) evaluiert.

Das molekulare Detektionsgerät von Neogen ist für die Verwendung mit Proben vorgesehen, die im Rahmen des Nachweises während des Lyseschritts wärmbehandelt wurden, um die in der Probe vorhandenen Organismen zu zerstören.

Proben, die im Rahmen des Nachweises während des Lyseschritts nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, sind als potenziell biogefährlich einzustufen und dürfen NICHT in das molekulare Detektionsgerät von Neogen eingesetzt werden.

Neogen Food Safety ist gemäß der Norm ISO 9001 der International Organization for Standardization für Design und Fertigung zertifiziert.

Der Kit Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ enthält 96 Tests, die in Tabelle 1 beschrieben sind.

Tabelle 1. Komponenten des Kits

Artikel	Merkmale	Menge	Inhalt	Kommentare
Röhrchen für Lyselösung (LS)	Rosa Lösung in transparenten Röhrchen	96 (12 Streifen mit 8 Röhrchen)	580 µl LS pro Rohr	In Gestell und gebrauchsfertig
Reagenzröhrchen für die Quantifikation von *Salmonellen*	Grüne Röhren	96 (12 Streifen mit 8 Röhrchen)	Lyophilisierte spezifische Amplifikations- und Detektionsmischung	Gebrauchsfertig
Zusätzliche Kappen	Grüne Kappen	96 (12 Streifen je 8 Kappen)		Gebrauchsfertig
Reagenzkontrolle (RC)	Transparente Röhrchen mit Flip-Top	16 (2 Beutel je 8 einzelne Röhrchen)	Lyophilisierte Kontroll-DNA, Amplifikations- und Detektionsmischung	Gebrauchsfertig

Die Negativkontrolle (nicht im Kit enthalten) ist ein steriles Anreicherungsmedium, z. B. BPW, nBPW oder QRED500. Verwenden Sie kein Wasser als Negativkontrolle.

Sicherheit

Der Benutzer muss alle Sicherheitsinformationen in den Anweisungen für das molekulare Detektionssystem von Neogen und Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ lesen, verstehen und befolgen. Bewahren Sie die Sicherheitsanweisungen zur späteren Referenz auf.

⚠ **WARNUNG:**	Weist auf eine Gefahrensituation hin, die zu Tod oder schwerwiegenden Verletzungen und/oder Sachschäden führen kann, wenn sie nicht vermieden wird.
⚠ **VORSICHT:**	Weist auf eine Gefahrensituation hin, die zu leichten oder mittelschweren Verletzungen und/oder Sachschäden führen kann, wenn sie nicht vermieden wird.
HINWEIS:	Weist auf eine mögliche Gefahrensituation hin, die zu Sachschäden führen kann, wenn sie nicht vermieden wird.

⚠ WARNUNG

Das Protokoll von Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ hat KEINE Unterbrechungspunkte. Die Proben müssen nach der Anreicherung der Probe vollständig analysiert werden (siehe Protokolle in Tabelle 2).

Verwenden Sie die Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ nicht zur Diagnose von Erkrankungen bei Mensch oder Tier.

Der Benutzer muss sein Personal in aktuellen ordnungsgemäßen Testtechniken schulen: beispielsweise Gute Laborpraxis, ISO/IEC 17025[4] oder ISO 7218[5].

Um die mit Ergebnissen unterhalb der Bestimmungsgrenze (LOQ) verbundenen Risiken, die zu einer Freisetzung kontaminierter Produkte führen können, zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Interpretieren Sie Ergebnisse unterhalb des LOQ des Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ nicht als negative *Salmonellen-Ergebnisse*. Ergebnisse unterhalb der LOQ deuten nicht auf die völlige Abwesenheit von *Salmonellen* hin, sondern nur darauf, dass der Salmonellengehalt, falls vorhanden, unter der LOQ für diese Methode liegt.
- Befolgen Sie das Protokoll und führen Sie die Tests genau gemäß den Angaben in den Produktanweisungen durch.
- Verwenden Sie immer eine kalibrierte Mikropipette.
- Verwenden Sie den Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ mit Lebensmitteln, die intern oder von Dritten validiert wurden.

- Lagern Sie Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ wie auf der Verpackung und in den Produktanweisungen angegeben.
- Verwenden Sie Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ immer vor dem Verfalldatum.
- Verwenden Sie die in dieser Produktanweisung beschriebenen Probenanreicherungen des Kits Neogen® Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen* nicht zu **QUALITATIVEN** Zwecken. Die in dieser Produktanweisung enthaltenen Anreicherungen wurden speziell für diesen **QUANTITATIVEN** Test entwickelt.

Um die mit einer Exposition gegenüber Chemikalien und Biogefährdung verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Führen Sie Erregertests in einem ordnungsgemäß ausgestatteten Labor unter der Aufsicht von geschultem Personal durch. Inkubierte Anreicherungsmedien und Geräte oder Oberflächen, die mit inkubierten Anreicherungsmedien in Berührung gekommen sind, können Krankheitserreger in ausreichenden Mengen enthalten, um ein Risiko für die menschliche Gesundheit darzustellen.
- Bei diesem Verfahren werden pathogene Mikroorganismen und/oder deren Stoffwechselprodukte oberhalb eines bestimmten Levels eingesetzt/nachgewiesen. Es sollte darauf geachtet werden, dass das Verschlucken oder Einatmen von potenziell infektiösen Aerosolen oder der Kontakt mit der Haut vermieden wird. Befolgen Sie immer die Standardsicherheitspraktiken des Labors, einschließlich des Tragens geeigneter Schutzkleidung und eines geeigneten Augenschutzes bei der Handhabung von Reagenzien und kontaminierten Proben.
- Vermeiden Sie den Kontakt mit dem Inhalt des Anreicherungsmediums und der Reagenzröhrchen nach der Amplifikation.
- Entsorgen Sie angereicherte Proben gemäß aktueller branchenweiter Standards.
- Proben, die im Rahmen des Nachweises während des Lyseschritts nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, sind als potenziell biogefährlich einzustufen und dürfen NICHT in das molekulare Detektionsgerät von Neogen eingesetzt werden.
- Um die mit einer Kreuzkontamination bei der Vorbereitung des Nachweises verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:
- Tragen Sie stets Handschuhe (um den Benutzer zu schützen und die Einführung von Nukleasen zu vermeiden).

Um die mit einer Umweltkontamination verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

Befolgen Sie die aktuellen Industriestandards für die Entsorgung von kontaminierten Abfällen.

⚠ VORSICHT

Um die mit einer Exposition gegenüber heißen Flüssigkeiten verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Überschreiten Sie nicht die empfohlene Temperatureinstellung am Heizelement.
- Überschreiten Sie nicht die empfohlene Heizzeit

Verwenden Sie ein geeignetes, kalibriertes Thermometer zur Prüfung der Temperatur des Neogen® Heizblockeinsatzes für molekulare Detektion (z. B. ein Einstechthermometer oder Digitalthermometer mit Thermoelement, kein Tauchthermometer). Das Thermometer muss in die vorgesehene Position im Neogen Heizblockeinsatz für molekulare Detektion eingesetzt werden.

HINWEIS

Um die mit einer Kreuzkontamination bei der Vorbereitung des Nachweises verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Wechseln Sie die Handschuhe vor der Hydrierung der Reagenz-Pellets.
- Es wird empfohlen, sterile Pipettenspitzen mit Aerosolbarriere (gefiltert) in Molekularbiologiequalität zu verwenden.
- Verwenden Sie für jeden Probentransfer eine neue Pipettenspitze.
- Wenden Sie gute Laborpraxis während der Zentrifugationsverarbeitungsschritte und um die Probe von der Anreicherung in das Lyseröhrchen zu überführen an. Um eine Kontamination der Pipette zu vermeiden, kann der Benutzer einen Zwischentransferschritt hinzufügen. Beispielsweise kann der Benutzer jede angereicherte Probe in ein steriles Röhrchen überführen.

- Verwenden Sie eine Werkbank für Molekularbiologie mit einer Entkeimungslampe, sofern verfügbar. Dekontaminieren Sie Laborwerkbänke und Geräte (Pipetten, Capper/Decapper usw.) regelmäßig mit einer 1–5%igen (v:v in Wasser) Bleichmittellösung oder Lösung zur DNA-Entfernung.

Um die mit falsch-positiven Ergebnissen verbundenen Risiken zu reduzieren, beachten Sie Folgendes:

- Öffnen Sie niemals Röhrchen nach der Amplifikation.
- Entsorgen Sie die kontaminierten Röhrchen stets durch einstündiges Einweichen in einer 1–5%igen (v:v in Wasser) Bleichmittellösung abseits des Nachweis-Vorbereitungsbereichs.
- Autoklavieren Sie niemals Reagenzröhrchen nach der Amplifikation.
- Verwenden Sie immer eine kalibrierte Mikropipette.

Beachten Sie das Sicherheitsdatenblatt für weitere Informationen sowie örtliche Vorgaben für die Entsorgung.

Wenn Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie unsere Website unter neogen.com oder der wenden Sie sich an den Neogen-Vertriebsmitarbeiter oder autorisierten Händler vor Ort.

Verantwortung des Benutzers

Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, sich mit den Produktanweisungen und -informationen vertraut zu machen. Besuchen Sie unsere Website unter neogen.com, oder wenden Sie sich an Ihren lokalen autorisierten Neogen-Vertriebsmitarbeiter oder -Händler, um weitere Informationen zu erhalten.

Bei der Auswahl einer Testmethode ist es wichtig zu berücksichtigen, dass externe Faktoren wie Probenahmemethoden, Testprotokolle, Probenvorbereitung, Handhabung, Labortechnik und die Probe selbst die Ergebnisse beeinflussen können.

Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, bei der Auswahl einer Testmethode oder eines Testprodukts eine ausreichende Anzahl von Proben mit den entsprechenden Matrices und mikrobiellen Belastungstests zu bewerten, um sicherzustellen, dass die gewählte Testmethode die Kriterien des Benutzers erfüllt.

Es liegt auch in der Verantwortung des Benutzers, festzustellen, ob alle Testmethoden und -ergebnisse den Anforderungen seiner Kunden und Lieferanten entsprechen.

Wie bei jeder anderen Testmethode stellen die mit einem Produkt von Neogen Food Safety gewonnen Ergebnisse keine Garantie für die Qualität der getesteten Matrices oder Prozesse dar.

Um Kunden bei der Evaluierung der Methode für unterschiedliche Lebensmittelmatrices zu unterstützen, hat Neogen das Kit Neogen® Matrixkontrolle für molekulare Detektion entwickelt. Verwenden Sie bei Bedarf die Matrixkontrolle (MC) für molekulare Detektion, um zu ermitteln, ob die Matrix die Ergebnisse des Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ beeinflussen kann. Testen Sie mehrere Proben, die für die Matrix repräsentativ sind, d. h. Proben unterschiedlichen Ursprungs, während eines beliebigen Validierungszeitraums bei Einführung der Neogen-Methode oder beim Testen unbekannter Matrices oder Matrices, deren Rohmaterial oder Verfahren sich geändert hat.

Eine Matrix kann definiert werden als Produkttyp mit intrinsischen Eigenschaften wie Zusammensetzung und Verfahren. Unterschiede zwischen Matrices können einfache Auswirkungen von Unterschieden in Verarbeitung oder Präsentation sein, wie roh oder pasteurisiert, frisch oder getrocknet usw.

Beschränkte Gewährleistung/Beschränkter Rechtsbehelf

SOFERN NICHT AUSDRÜCKLICH IN EINEM ABSCHNITT ZUR BESCHRÄNKTEN GEWÄHRLEISTUNG AUF DER VERPACKUNG INDIVIDUELLER PRODUKTE ANDERWEITIG ANGEGEBEN, SCHLIESST NEOGEN JEGLICHE AUSDRÜCKLICHE UND STILLSCHWEIGENDE GEWÄHRLEISTUNG AUS, EINSCHLIESSLICH UNTER ANDEREM DIE GEWÄHRLEISTUNG DER MARKTGÄNGIGKEIT ODER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK. Wenn ein Produkt von Neogen Food Safety defekt ist, wird Neogen oder sein autorisierter Vertriebspartner nach eigenem Ermessen das Produkt ersetzen oder seinen Kaufpreis erstatten. Dies sind Ihre ausschließlichen Rechtsbehelfe. Sie müssen Neogen unverzüglich innerhalb von sechzig Tagen nach Entdeckung vermuteter Mängel an einem Produkt benachrichtigen und das Produkt an Neogen zurücksenden. Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren Neogen Food Safety-Vertriebsmitarbeiter oder autorisierten Vertreter für Neogen.

Haftungsbeschränkung für Neogen

NEOGEN SCHLIESST DIE HAFTUNG FÜR ETWAIGE VERLUSTE ODER DIREKTE, INDIREKTE, BESONDERE, ZUFÄLLIGE ODER FOLGESCHÄDEN AUS, EINSCHLIESSLICH UNTER ANDEREM ENTGANGENE PROFITE. In keinem Fall übersteigt die Haftung von Neogen nach einer beliebigen Rechtstheorie den Kaufpreis des Produkts, das mutmaßlich fehlerhaft ist.

Lagerung und Entsorgung

Lagern Sie die Komponenten des Kits Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ bei 2–8 °C. Nicht einfrieren. Lagern Sie das Kit dunkel. Überprüfen Sie nach dem Öffnen des Kits, ob der Folienbeutel unbeschädigt ist. Bei beschädigtem Beutel nicht verwenden. Nach dem Öffnen müssen unbenutzte Reagenzröhrchen immer im wiederverschließbaren Beutel mit dem Trockenmittel aufbewahrt werden, um die Stabilität der lyophilisierten Reagenzien zu erhalten. Wiederverschlossene Beutel maximal 60 Tage lang bei 2–8 °C lagern. Verwenden Sie Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ nicht nach dem Verfalldatum. Das Verfalldatum und die Losnummer sind auf dem äußeren Etikett des Kartons vermerkt. Nach Gebrauch können das Anreicherungsmedium und die Röhrchen mit Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ potenziell krankheitserregende Materialien enthalten. Wenn die Tests abgeschlossen sind, befolgen Sie die Bestimmungen vor Ort für die Entsorgung kontaminierter Abfälle. Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

Gebrauchsanweisung

Befolgen Sie alle Anweisungen sorgfältig. Andernfalls kann es zu ungenauen Ergebnissen kommen.

Dekontaminieren Sie Laborwerkbänke und Geräte (Pipetten, Capper/Decapper usw.) regelmäßig mit einer 1–5%igen (v:v in Wasser) Bleichmittellösung oder Lösung zur DNA-Entfernung.

Der Benutzer muss die Bedienerqualifikationsschulung (QC) für das molekulare Detektionssystem von Neogen absolvieren, wie im Dokument „Installationsqualifikation (IQ)/Betriebsqualifikation (BQ). Protokolle und Anweisungen für das Neogen Molekulare Detektionssystem”[6] beschrieben.

Spezifische Anforderungen sind dem Abschnitt „Spezifische Anweisungen für validierte Methoden“ zu entnehmen:

Quantifizierung von *Salmonellen* in rohem Hühner-/Putenhackfleisch

1. Wiegen Sie 325 g rohes Hühner- oder Putenhackfleisch ab und geben Sie es in einen sterilen Beutel.
2. Fügen Sie 400 ml gepuffertes Peptonwasser (BPW) hinzu.
3. 1 Minute lang bei 180 U/min gründlich homogenisieren.
4. Übertragen Sie 30 ml des rohen Hackfleisch- oder Putenhomogenats in einen Probenbeutel.
5. Fügen Sie 30 ml Neogen Dehydrierte Medien für die quantitative Schnellanreicherung (siehe Technisches Datenblatt für Neogen Dehydrierte Medien für die quantitative Schnellanreicherung)[7], das auf 42 °C vorgewärmt wurde. Dies wird als „Probe” bezeichnet.
6. Die „Probe” wird gemäß den Anreicherungsbedingungen in Tabelle 2 inkubiert.
7. Nach der Anreicherung die Probe aus dem Inkubator nehmen und gut mischen.
8. Aliquotieren Sie unmittelbar nach dem Mischen 1,5 ml der Probe in ein 2 ml Mikrozentrifugenröhrchen mit konischem Boden.
9. Zentrifugieren Sie in einer Minizentrifuge bei 7.000 x g für 5 Minuten, um Partikel zu pelletieren.
10. Entsorgen Sie den Überstand vorsichtig, ohne das Pellet zu stören. Drehen Sie die Tube vorsichtig um und klopfen Sie auf das Papiertuch, um den restlichen Überstand zu entfernen.
11. Resuspendieren Sie das Pellet in 300 µl QRED500.
12. Vortexen, bis das Pellet wieder vollständig im QRED500 aufgewirbelt ist.
13. Analysieren Sie 50 µl der resuspendierten Pelletprobe (ab 12) mit dem Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ.

Quantifizierung von *Salmonellen* in Spülungen von Hühnerschlachtkörpern

1. Legen Sie einen Hühnerschlachtkörper in einen sterilen Geflügelspülbeutel.
2. Geben Sie 400 ml Neogen Neutralisierendes gepuffertes Peptonwasser (nBPW) oder Gepuffertes Peptonwasser (BPW) durch den Hühnerkanal (siehe Tabelle 2).
3. Mischen Sie den Inhalt 1 Minute lang, um den Schlachtkörper abzuspülen.
4. Füllen Sie 30 ml der Spülung in einen Probenbeutel um.
5. Fügen Sie 30 ml Neogen Dehydrierte Medien für die quantitative Schnellanreicherung (QRED500) hinzu siehe Technisches Datenblatt für Neogen Dehydrierte Medien für die quantitative Schnellanreicherung)[7], das auf 42 °C vorgewärmt wurde. Dies wird als „Probe" bezeichnet.
6. Die „Probe" wird gemäß den Anreicherungsbedingungen in Tabelle 2 inkubiert.
7. Nach der Anreicherung die Probe aus dem Inkubator nehmen und gut mischen.
8. Aliquotieren Sie unmittelbar nach dem Mischen 1,5 ml der Probe in ein 2 ml Mikrozentrifugenröhrchen mit konischem Boden.
9. Zentrifugieren Sie in einer Minizentrifuge bei 5.000 x g für 5 Minuten, um Partikel zu pelletieren.
10. Entsorgen Sie den Überstand vorsichtig, ohne das Pellet zu stören. Drehen Sie die Tube vorsichtig um und klopfen Sie auf das Papiertuch, um den restlichen Überstand zu entfernen.
11. Resuspendieren Sie das Pellet in 100 µl (Mikroliter) QRED500.
12. Vortexen, bis das Pellet wieder vollständig im QRED500 aufgewirbelt ist.
13. Analysieren Sie 50 µL der resuspendierten Pelletprobe (ab 12) mit dem Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ.

Tabelle 2 enthält Leitlinien für allgemeine Anreicherungsprotokolle für Spülungen von Hühnerkarkassenspülungen und rohen Geflügelhackproben. Es liegt in der Verantwortung des Benutzers, alternative Beprobungsprotokolle oder Verdünnungsverhältnisse zu validieren, um sicherzustellen, dass diese Testmethode den Kriterien des Benutzers entspricht.

Tabelle 2. Allgemeine Anreicherungsprotokolle.

Probenmatrix	Proben-größe	Homogenisierung (erster Schritt)	Anreicherung	Anreicherungs-temperatur	Anreiche-rungsdauer	Resuspension von Pellets	Volumen der Proben-analyse[a]
Rohes Hühnerhackfleisch	325 g	400 ml BPW	30 ml Homogenat + 30 ml QRED	42 ± 1 °C	6 Stunden	300 µl	50 µl
Rohes Putenhackfleisch	325 g	400 ml BPW	30 ml Homogenat + 30 ml QRED	42 ± 1 °C	5 Stunden	300 µl	50 µl
Spülung des Hühnerschlacht-körpers	30 ml	400 ml nBPW	30 ml nBPW Spülung + 30 ml QRED	42 ± 1 °C	6 Stunden	100 µl	50 µl
Spülung des Hühnerschlacht-körpers	30 ml	400 ml BPW	30 ml BPW Spülung + 30 ml QRED	42 ± 1 °C	5 Stunden	100 µl	50 µl

(a) Volumen der Probe, die in Röhrchen der Lyselösung überführt wird. Siehe Schritt 4.5 des Abschnitts Lyse.

Vorbereitung des Neogen® Schnellladefachs für molekulare Detektion

1. Ein Tuch oder Einwegtuch mit 1–5%iger (v:v in Wasser) Bleichmittellösung befeuchten und das Neogen Schnellladefach für molekulare Detektion abwischen.
2. Neogen-Schnellladefach für molekulare Detektion mit Wasser abspülen.
3. Neogen-Schnellladefach für molekulare Detektion mit einem Einwegtuch trocken wischen.
4. Vor Gebrauch sicherstellen, dass das Neogen-Schnellladefach für molekulare Detektion trocken ist.

Vorbereitung des Neogen® Kühlblockeinsatzes für molekulare Detektion

Neogen-Kühlblockeinsatz für molekulare Detektion direkt auf der Laborwerkbank platzieren. Block bei Umgebungstemperatur im Labor (20–25 °C) verwenden.

Vorbereitung des Neogen® Heizblockeinsatzes für molekulare Detektion

Neogen Heizblockeinsatz für molekulare Detektion in einem Doppel-Heizblock platzieren. Den Heizblock einschalten und die Temperatur so einstellen, dass der Neogen Heizblockeinsatz für molekulare Detektion eine Temperatur von 100 ± 1 °C erreichen und halten kann.

HINWEIS: Je nach Heizgerät ca. 30 Minuten warten, bis der Neogen-Heizblockeinsatz für molekulare Detektion die vorgesehene Temperatur erreicht hat. Mit einem geeigneten, kalibrierten Thermometer (z. B. ein Einstechthermometer oder Digitalthermometer mit Thermoelement, kein Tauchthermometer) an der vorgesehenen Position sicherstellen, dass der Neogen-Heizblockeinsatz für molekulare Detektion eine Temperatur von 100 ± 1 °C erreicht hat.

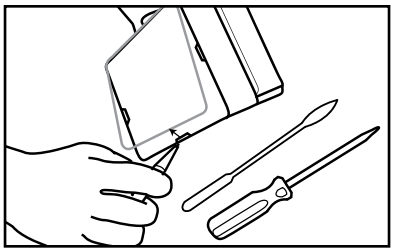
Vorbereitung des molekularen Detektionsgeräts von Neogen

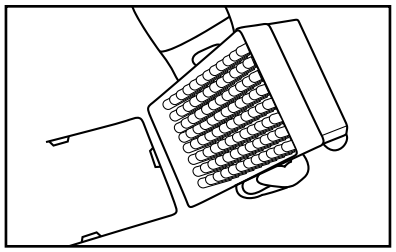
1. Die Neogen Software für molekulare Detektion starten und anmelden. Wenden Sie sich an einen Neogen Food Safety-Vertriebsmitarbeiter, um sicherzustellen, dass Sie über die aktuell Version der Software, die quantitative Tests umfasst, verfügen.
2. Das molekulare Detektionsgerät von Neogen einschalten.
3. Einen Durchgang mit Daten für jede Probe erstellen oder bearbeiten. Weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch für das Neogen Molekulares Detektionssystem und im MDA2QSAL96 Technischer Software-Bulletin.

HINWEIS: Das molekulare Detektionsgerät von Neogen muss eine Temperatur von 60 °C erreichen und halten, bevor das Neogen Schnelladefach für molekulare Detektion mit Reaktionsröhrchen eingesetzt wird. Dieser Heizschritt dauert ca. 20 Minuten und wird durch eine ORANGEFARBENE Anzeige in der Statusleiste des Geräts angezeigt. Wenn das Gerät bereit ist, einen Durchgang zu starten, wird die Statusleiste GRÜN.

Lyse

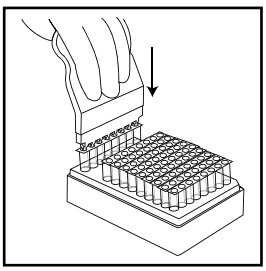
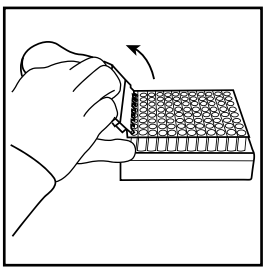
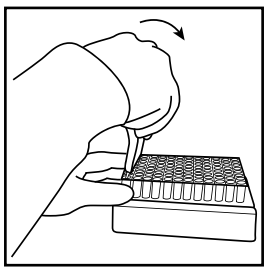
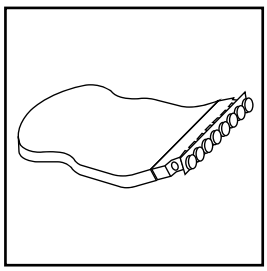
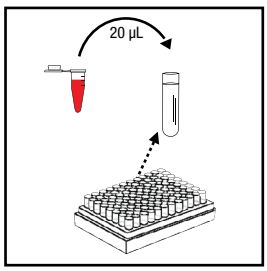
1. Entfernen Sie die Unterseite des Gestells mit der Neogen Lyselösung mit einem Schraubendreher oder Spatel, bevor Sie es in den Neogen Heizblockeinsatze für molekulare Detektion einsetzen.



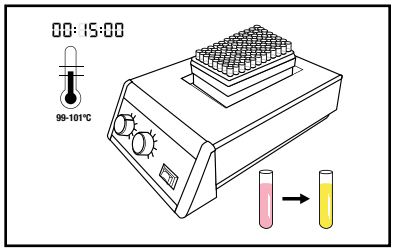


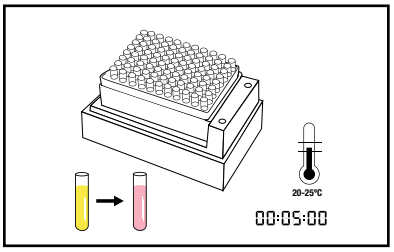
2. Fach mit Röhrchen mit Neogen Lyselösung (LS) über Nacht (16–18 Stunden) auf Raumtemperatur (20–25 °C) aufwärmen lassen. Alternative Möglichkeiten zur Temperaturangleichung der LS-Röhrchen: LS-Röhrchen auf die Laborwerkbank stellen und mindestens 2 Stunden belassen, LS-Röhrchen in einem Inkubator bei 37 ± 1 °C 1 Stunde lang inkubieren oder Röhrchen für 30 Sekunden in ein Doppel-Heizblock bei 100 °C geben.
3. Die verschlossenen Röhrchen zum Mischen umdrehen. Innerhalb von 4 Stunden mit dem nächsten Schritt fortfahren.
4. Für jede Probe und die Negativkontrollprobe (NC) (steriles Anreicherungsmedium) ist ein LS-Röhrchen erforderlich.
   4.1 LS-Röhrchenstreifen können auf die gewünschte Anzahl an LS-Röhrchen zugeschnitten werden. Erforderliche Anzahl einzelner LS-Röhrchen oder Streifen zu 8 Röhrchen auswählen. Legen Sie die LS-Röhren in ein leeres Rack.
   4.2 Verwenden Sie die Neogen® Capper/Decapper für molekulare Detektion – Lyse, um einen LS-Röhrchenstreifen zu öffnen.
   4.3 Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, immer nur einen LS-Röhrchenstreifen öffnen und für jeden Transferschritt eine neue Pipettenspitze verwenden.
   4.4 Entsorgen Sie die Kappe der LS-Röhrchen.
   4.5 Überführen Sie 50 µl der resuspendierten Pelletprobe in ein LS-Röhrchen.

Übertragen Sie **zunächst** 50 µl **jeder resuspendierten Pelletprobe in ein einzelnes LS-Röhrchen**. Überführen Sie die **NC** zuletzt.

5. Schritte 2 bis 5 wiederholen, bis jede einzelne Probe in ein entsprechendes LS-Röhrchen im Streifen gegeben wurde.
6. Schritte 1 bis 5 nach Bedarf für die Anzahl der zu testenden Proben wiederholen.
7. Wenn alle Proben übertragen wurden, überführen Sie 50 µl NC (steril QRED500) in ein LS-Röhrchen. Kein Wasser als NC verwenden.
8. Sicherstellen, dass die Temperatur des Neogen-Heizblockeinsatzes für molekulare Detektion bei 100 ± 1 °C liegt.
9. Das nicht abgedeckte Gestell mit LS-Röhrchen im Neogen-Heizblockeinsatz für molekulare Detektion platzieren und 15 ± 1 Minuten lang aufheizen. Beim Aufheizen wechselt die Farbe der LS-Lösung von rosa (kühl) zu gelb (warm). Proben, die im Rahmen des Nachweises während des Lyseschritts nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, sind als potenziell biogefährlich einzustufen und dürfen NICHT in das molekulare Detektionsgerät von Neogen eingesetzt werden.
10. Das Gestell mit nicht abgedeckten LS-Röhrchen aus dem Heizblock nehmen und mindestens 5 Minuten und maximal 10 Minuten lang im Neogen-Kühlblockeinsatz für molekulare Detektion abkühlen. Der Neogen-Kühlblockeinsatz für molekulare Detektion muss bei Verwendung bei Raumtemperatur ohne das Kühlblockfach für molekulare Detektion direkt auf der Laborwerkbank stehen. Nach dem Abkühlen nimmt die Lyselösung wieder eine rosa Farbe an.
11. Das Gestell mit LS-Röhrchen aus dem Neogen-Kühlblockeinsatz für molekulare Detektion entnehmen.





Amplifikation

1. Für jede Probe sowie die NC ist ein Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ erforderlich.
   1.1 Reagenzröhrchenstreifen können auf die gewünschte Anzahl an Röhrchen zugeschnitten werden. Erforderliche Anzahl einzelner Reagenzröhrchen oder -streifen zu 8 Röhrchen auswählen.
   1.2 Legen Sie die Reagenzröhren in ein leeres Gestell.
   1.3 Die Reagenz-Pellets unten in den Röhrchen nicht in Bewegung bringen.

2 Ein Röhrchen mit Reagenzkontrolle (RC) auswählen und im Gestell platzieren.

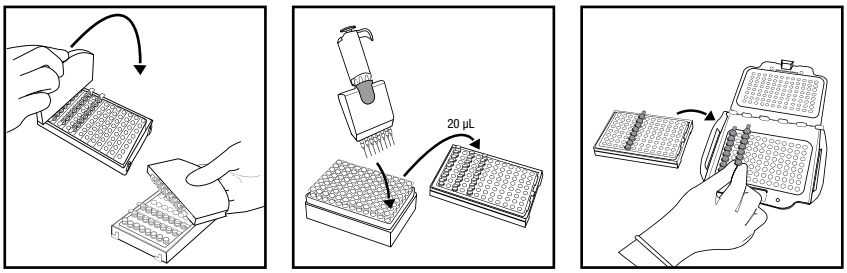
3. Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, immer nur einen Reagenzröhrchenstreifen öffnen und für jeden Transferschritt eine neue Pipettenspitze verwenden.

4. Übertragen Sie jedes der Lysate wie unten beschrieben:

Übertragen Sie zuerst 20 µl jedes Probenlysats in einzelne Reagenzröhrchen, gefolgt von der NC. Hydratisieren Sie das RC-Röhrchen zuletzt.

5. Capper/Decapper für molekulare Detektion – Reagenz zum Öffnen der Röhrchen mit Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ verwenden. Immer nur einen Streifen öffnen. Kappe entsorgen.
   5.1 20 µl Proben-Lysat aus der oberen Hälfte der Flüssigkeit (Ausfällungen vermeiden) im Röhrchen mit Neogen Lyselösung in das entsprechende Reagenzröhrchen. Abgewinkelt einfüllen, um die Pellets nicht in Bewegung zu versetzen. Fünf Mal sanft Auf- und Abpipettieren, um zu mischen.
   5.2 Schritt 5.1 wiederholen, bis alle individuellen Probenlysate in ein entsprechendes Neogen Molekulares Detektionstest 2Q – Quantitative *Salmonellen*-Reagenzröhrchen im Streifen überführt wurde.
   5.3 Die Reagenzröhrchenstreifen mit dem Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ mit den bereitgestellten zusätzlichen Kappen verschließen und durch Hin- und Herbewegen der runden Seite des Neogen-Capper/Decapper für molekulare Detektion – Reagenz Druck auf die Kappe ausüben, damit sie dicht verschließt.
   5.4 Schritte 5.1 bis 5.3 nach Bedarf für die Anzahl der zu testenden Proben wiederholen.
   5.5 Wenn alle Probenlysate übertragen wurden, die verschlossenen Reagenzgläser zum Mischen 2 Sekunden lang vortexen und dann 10 Sekunden lang in einer Mini-Zentrifuge nach unten drehen, um sicherzustellen, dass sich die gesamte Flüssigkeit am Boden des Röhrchens befindet.
   5.6 20 µl NC-Lysat in ein Reagenzröhrchen mit Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ und weitere 20 µl NC-Lysat in ein RC-Röhrchen überführen. Abgewinkelt einfüllen, um die Pellets nicht in Bewegung zu versetzen. Fünf Mal sanft Auf- und Abpipettieren, um zu mischen.

6. Verschlossene Röhrchen in ein sauberes und dekontaminiertes Neogen-Schnellladefach für molekulare Detektion einsetzen. Das Neogen Schnellladefach für molekulare Detektion mit schließen und verriegeln.



7. Den konfigurierten Durchgang in der Neogen-Software für molekulare Detektion (quantitative Tests) prüfen und bestätigen.

8. In der Software auf die Schaltfläche „Start” klicken und das zu verwendende Gerät auswählen. Die Klappe des ausgewählten Geräts öffnet sich automatisch.

9. Das Neogen-Schnellladefach für molekulare Detektion in das molekulare Detektionsgerät von Neogen einsetzen und Klappe schließen, um den Nachweis zu starten. Die Ergebnisse liegen innerhalb von 60 Minuten vor, wobei positive Ergebnisse auch früher erkannt werden können.
10. Nach Abschluss des Nachweises das Neogen-Schnellladefach für molekulare Detektion aus dem molekularen Detektionsgerät von Neogen entnehmen und die Röhrchen durch einstündiges Einweichen in einer 1–5%igen (v:v in Wasser) Bleichmittellösung abseits des Nachweis-Vorbereitungsbereichs entsorgen.

HINWEIS: Um das Risiko falsch-positiver Ergebnisse aufgrund von Kreuzkontamination zu minimieren, niemals Reagenzröhrchen öffnen, die amplifizierte DNA enthalten. Das umfasst die Röhrchen mit der Reagenz, der Neogen Referenzkontrolle sowie der Neogen Matrixkontrolle des Kits Neogen Molekularer Detektionstest 2Q – *Salmonellen*, quantitativ. Versiegelte Reagenzröhrchen stets durch einstündiges Einweichen in einer 1–5%igen (v:v in Wasser) Bleichmittellösung abseits des Nachweis-Vorbereitungsbereichs entsorgen.

Ergebnisse und Interpretation

Die Ergebnisse werden durch die Analyse einzigartiger Kurvenparameter durch die Software ermittelt.

Literatur:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella*, Version, September 2023.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.14. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, Carcass, and Environmental Sponges. Datum des Inkrafttretens: 5. Juni 2023.
3. ISO 6579. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln – Horizontales Verfahren für den Nachweis von *Salmonella* spp.
4. ISO/IEC 17025 Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien.
5. ISO 7218 Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische Untersuchungen.
6. Neogen Installationsqualifikation (IQ)/Betriebsqualifikation (BQ). Protokolle und Anweisungen für das Neogen Molekulare Detektionssystem.
7. Technisches Datenblatt für Neogen Dehydrierte Medien für die quantitative Schnellanreicherung (QRED500).

Erklärung der Symbole

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Schottland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Irland

© Neogen Corporation 2024. Alle Rechte vorbehalten. Neogen ist eine eingetragene Marke von Neogen Corporation. Patent: neogen.com/patents.

NEOGEN®

Instrucciones del producto

Kit Neogen de Ensayo de Detección Molecular 2Q - Quantificación de *Salmonella*

Descripción del producto y uso previsto

El kit de ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen® (MDA2QSAL96) se emplea en conjunto con los medios de cultivo deshidratados para enriquecimiento rápido en pruebas cuantitativas (QRED500) de Neogen®, así como con el sistema de detección molecular para cuantificación rápida de *Salmonella* de Neogen®, en soluciones de enjuague enriquecidos de caparazón de pollo y en muestras de carne molida de aves de corral cruda. El kit de ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen® y una aplicación modelo a la que se accede a través del software del sistema de detección molecular de Neogen®. El resultado obtenido en el software del sistema de detección molecular de Neogen® se utiliza para evaluar la cantidad de *Salmonella* en soluciones de enjuague enriquecidos de caparazón de pollo y matrices de carne molida de aves de corral cruda.

Los ensayos usan amplificación isotérmica mediada por bucle para amplificar rápidamente secuencias de ácido nucleico con especificidad y sensibilidad altas, combinados con bioluminiscencia para detectar la amplificación. Los presuntos resultados positivos se informan en tiempo real. Una vez finalizado el ensayo, aquellos resultados que se encuentren por debajo del límite de detección se muestran como negativos. Los resultados positivos presuntos se deberían confirmar mediante su método de preferencia o según lo especifiquen las regulaciones locales[1, 2, 3].

El ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* está diseñado para que lo utilicen profesionales capacitados en técnicas de laboratorio en un entorno de laboratorio. Neogen no ha documentado el uso de este producto en otras industrias que no sean de alimentos o bebidas. Por ejemplo, Neogen no ha documentado este producto para analizar muestras farmacéuticas, cosméticas, clínicas ni veterinarias. El ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen no se ha evaluado con todos los productos alimenticios, procesos alimentarios y protocolos de prueba posibles ni con todas las cepas posibles de bacterias. Al igual que con todos los métodos de prueba, la fuente, la formulación y la calidad del medio de enriquecimiento pueden ejercer cierta influencia en los resultados. Algunos factores, por ejemplo, los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio, pueden además ejercer cierta influencia en los resultados. Neogen recomienda la evaluación del método incluido el medio de enriquecimiento en el entorno del usuario. Para ello, se recomienda el uso de un número suficiente de muestras con alimentos y desafíos microbianos particulares, a fin de garantizar que el método cumpla con los criterios del usuario.

Neogen ha evaluado el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* con agua con peptona tamponada (Buffered Peptone Water, BPW) de Neogen®, agua con peptona tamponada neutralizante (Neutralizing Buffered Peptone Water, nBPW) de Neogen® y con los medios de cultivo deshidratados para enriquecimiento rápido en pruebas cuantitativas (QRED500) de Neogen.

El instrumento de detección molecular de Neogen está previsto para su uso con muestras que se han sometido a tratamiento de calor durante el paso de lisis del ensayo, que está diseñado para destruir organismos presentes en la muestra.

Las muestras que no se hayan tratado con calor de forma adecuada durante el paso de lisis del ensayo podrían considerarse un riesgo biológico potencial y NO deberían introducirse en el instrumento de detección molecular de Neogen.

Neogen Food Safety cuenta con certificación ISO 9001 de la Organización Internacional de Normalización (International Organization for Standardization, ISO) para diseño y fabricación.

El kit de prueba del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen incluye 96 pruebas, que se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Tubos de solución de lisis (LS)	Solución rosa en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µl de LS por tubo	Separado y listo para usar
Prueba cuantitativa para la detección de *Salmonella* Tubos de reactivos	Tubos de color verde	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mezcla para amplificación y detección específica liofilizada	Listo para usar
Tapas adicionales	Tapas de color verde	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listo para usar
Control de reactivos (RC)	Tubos transparentes con tapa abatible	16 (2 sobres de 8 tubos individuales)	ADN de control liofilizado, mezcla para amplificación y detección	Listo para usar

El control negativo, que no se proporciona en el kit, es un medio estéril de enriquecimiento, p. ej., nBPW o QRED500. No use agua como control negativo.

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y seguir toda la información de seguridad que aparecen en las instrucciones para el sistema de detección molecular de Neogen y el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen. Guarde estas instrucciones de seguridad para consultas futuras.

⚠ **ADVERTENCIA:**	Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría provocar la muerte o lesiones graves o daños a la propiedad.
⚠ **PRECAUCIÓN:**	Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría provocar lesiones leves o moderadas o daños a la propiedad.
AVISO:	Indica una situación potencialmente peligrosa que, si no se evita, podría provocar daños a la propiedad.

⚠ ADVERTENCIA

En el protocolo correspondiente al ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella*, NO se incluyen puntos de interrupción. Una vez que la muestra se encuentre enriquecida, se debe analizar por completo (consulte los protocolos disponibles en la tabla 2).

No utilice el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen para fines de diagnóstico de afecciones en humanos o animales.

El usuario debe capacitar a su personal en técnicas de prueba adecuadas actuales: por ejemplo, buenas prácticas de laboratorio, ISO/IEC 17025[4] o ISO 7218[5].

A fin de reducir los riesgos relacionados con un resultado por debajo del límite de cuantificación (LC) que produce la liberación de producto contaminado, siga estas recomendaciones:

- No interprete los resultados por debajo del LC del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen como un resultado negativo para *Salmonella*. Los resultados por debajo del LC no indican la ausencia absoluta de *Salmonella*; indica únicamente que el nivel de *Salmonella*, si se detecta alguno, se encuentra por debajo del LC para este método.
- Siga el protocolo y realice las pruebas exactamente como se indique en las instrucciones del producto.
- Use siempre una micropipeta calibrada.
- Use el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen con alimentos que se hayan validado internamente o mediante un tercero.
- Almacene el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen según se indica en el paquete y en las instrucciones del producto.

- Siempre use el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen antes de la fecha de vencimiento.
- No use los enriquecimientos de muestra que se describen en estas instrucciones del producto del ensayo de detección molecular 2 de Neogen®, ensayo de detección **CUALITATIVA** de *Salmonella* (MDA2SAL96). Los enriquecimientos incluidos en estas instrucciones del producto se desarrollaron específicamente para este ensayo **CUANTITATIVO**.

Para reducir los riesgos asociados con la exposición a químicos y riesgos biológicos:

- Realice pruebas de patógenos en un laboratorio debidamente equipado y bajo el control de personal capacitado. Los medios de enriquecimiento incubados y los equipos o superficies que han entrado en contacto con esos medios pueden contener patógenos en niveles suficientes para causar riesgos para la salud humana.
- En este procedimiento, se usan o detectan microorganismos patógenos o sus productos metabólicos relacionados que se encuentren por debajo de un determinado nivel. Se debe tener cuidado para evitar la ingestión o inhalación de aerosoles potencialmente infecciosos o el contacto con la piel. Siempre siga las prácticas de laboratorio estándar, incluido el uso de ropa de protección y protección ocular adecuadas mientras manipula reactivos y muestras contaminadas.
- Evite el contacto con el contenido de los medios de enriquecimiento y los tubos de reactivos después de la amplificación.
- Deseche las muestras enriquecidas de acuerdo con los estándares actuales de la industria.
- Las muestras que no se hayan tratado con calor de forma adecuada durante el paso de lisis del ensayo podrían considerarse un riesgo biológico potencial y NO deberían introducirse en el instrumento de detección molecular de Neogen.
- Para reducir los riesgos asociados con la contaminación cruzada mientras prepara el ensayo:
- Siempre use guantes (para proteger al usuario y evitar el ingreso de nucleasas).

Para reducir los riesgos asociados con la contaminación ambiental:

Siga los estándares actuales de la industria para la eliminación de desechos contaminados.

⚠ PRECAUCIÓN

Para reducir los riesgos asociados con la exposición a líquidos calientes:

- No supere el ajuste de temperatura recomendado en el calentador.
- No supere el tiempo de calentamiento recomendado.

Use un termómetro calibrado adecuado para verificar la temperatura del inserto del bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen® (p. ej., un termómetro de inmersión parcial o termómetro termocupla digital, no un termómetro de inmersión total). El termómetro se debe colocar en la ubicación designada en el inserto del bloque de calentamiento para la detección molecular de Neogen.

AVISO

Para reducir los riesgos asociados con la contaminación cruzada mientras prepara el ensayo:

- Cámbiese los guantes antes de la hidratación de los gránulos de reactivos.
- Se recomienda el uso de puntas de pipeta de grado biológico molecular con barrera de aerosol (filtrada) estéril.
- Use una punta de pipeta nueva para cada transferencia de muestra.
- Durante los pasos del proceso de centrifugación, así como para transferir la muestra de enriquecimiento al tubo de lisis, siga las prácticas óptimas de laboratorio. Para evitar la contaminación del pipeteador, el usuario puede optar por añadir un paso de transferencia intermedio. Por ejemplo, el usuario puede transferir cada muestra enriquecida en un tubo estéril.
- Use una estación de trabajo de biología molecular con lámpara germicida cuando esté disponible. Descontamine periódicamente mesas y equipo de laboratorio (pipetas, herramientas de encapuchado/desencapuchado, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1 y el 5 % (v:v en agua) o una solución de extracción de ADN.

Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra tubos después de la amplificación.
- Siempre deseche los tubos contaminados remojándolos en una solución de cloro de uso doméstico entre el 1 % y el 5 % (v:v en agua) durante una hora y alejado del área de preparación del ensayo.
- Nunca ponga autoclave a los tubos de reactivos después de la amplificación.
- Use siempre una micropipeta calibrada.

Consulte la ficha de datos de seguridad para obtener información adicional y conocer las regulaciones locales para el desecho.

Si tiene alguna duda acerca de aplicaciones o procedimientos específicos, visite nuestro sitio web neogen.com, o bien póngase en contacto con el representante o distribuidor autorizado de Neogen más cercano.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de conocer al detalle las instrucciones y la información del producto. Visite nuestro sitio web neogen.com, o bien póngase en contacto con el representante o distribuidor autorizado de Neogen más cercano, a fin de obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que hay factores externos, por ejemplo, los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de muestras, la manipulación, la técnica de laboratorio y la muestra en sí, que pueden ejercer cierta influencia en los resultados.

A la hora de seleccionar cualquier metodología de prueba o producto, es responsabilidad del usuario evaluar una cantidad suficiente de muestras con las matrices y las pruebas de exposición a microbios adecuadas para asegurarse de que la metodología de prueba elegido cumple sus criterios.

También es responsabilidad del usuario determinar que los métodos y resultados de las pruebas cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores.

Como sucede con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de Neogen Food Safety no constituyen una garantía de la calidad de las matrices o procesos probados.

Para ayudar a los clientes a evaluar el método de diversas matrices alimentarias, Neogen ha desarrollado el kit de control de matriz para la detección molecular de Neogen®. Cuando sea necesario, use el control de matriz (CM) para determinar si la matriz tiene la capacidad de afectar los resultados del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen. Pruebe varias muestras, representativas de la matriz, es decir, muestras obtenidas de distinto origen, durante cualquier periodo de validación cuando adopte el método de Neogen o cuando pruebe matrices nuevas o desconocidas que se hayan sometido a cambios de materia prima o proceso.

Se puede definir a una matriz como un tipo de producto con propiedades intrínsecas, tales como composición y proceso. Las diferencias entre matrices pueden ser tan simples como los efectos ocasionados por diferencias en su procesamiento o presentación. Por ejemplo, crudo frente a pasteurizado, fresco frente a seco, etc.

Limitación de garantías / Recurso limitado

A EXCEPCIÓN DE LO ESTABLECIDO EXPRESAMENTE EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA DE EMPAQUE DE PRODUCTO INDIVIDUAL, NEOGEN RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS E IMPLÍCITAS, QUE INCLUYE, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIALIZACIÓN O APTITUD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si algún producto de Neogen Food Safety es defectuoso, Neogen o su distribuidor autorizado, a su elección, reemplazará o reembolsará el precio de compra del producto. Estos son sus remedios exclusivos. Debe notificar de inmediato a Neogen dentro de los sesenta días posteriores al descubrimiento de cualquier defecto sospechoso en un producto y devolverlo a Neogen. Póngase en contacto con su representante de Neogen Food Safety o distribuidor autorizado de Neogen si tuviera cualquier otra pregunta.

Limitación de responsabilidad de Neogen

NEOGEN NO SE HACE RESPONSABLE DE LA PÉRDIDA O LOS DAÑOS DE NINGÚN TIPO, YA SEA DAÑO DIRECTO, INDIRECTO, ESPECIAL, INCIDENTAL O CONSECUENTE, QUE INCLUYE, ENTRE OTRAS, LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS. En ningún caso la responsabilidad de Neogen bajo cualquier teoría legal excederá el precio de compra del producto presuntamente defectuoso.

Almacenamiento y desecho

Guarde los componentes del kit correspondiente al ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. No se debe congelar. Mantenga el kit alejado de la luz durante el almacenamiento. Después de abrir el kit, compruebe que la bolsa de aluminio no esté dañada. Si está dañada, no la use. Después de abrirlos, los tubos de reactivos no utilizados siempre deben almacenarse en la bolsa resellable con el desecante en su interior para mantener la estabilidad de los reactivos liofilizados. Almacene las bolsas reselladas entre 2 y 8 °C durante no más de 60 días. No use el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen si se encuentra vencido. La fecha de vencimiento y el número de lote se indican en la etiqueta exterior de la caja. Después de su uso, el medio de enriquecimiento y los tubos del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen pueden contener materiales potencialmente patógenos. Una vez finalizadas las pruebas, siga los reglamentos locales para la eliminación de desechos contaminados. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad de los materiales.

Instrucciones de uso

Siga todas las instrucciones con atención. De lo contrario, puede dar lugar a resultados inexactos.

Descontamine periódicamente mesas y equipo de laboratorio (pipetas, herramientas de encapuchado/desencapuchado, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1 y el 5 % (v:v en agua) o una solución de extracción de ADN.

El usuario debe completar la capacitación de calificación de operador (CO) del sistema de detección molecular de Neogen, según se describe en el documento “Protocolos e instrucciones de calificación de instalación (CI)/calificación operativa (CO) para el sistema de detección molecular de Neogen” [6].

Consulte la sección “Instrucciones específicas para métodos validados” para conocer los requisitos específicos:

Cuantificación de *Salmonella* en carne molida de aves de corral (pollo/pavo) cruda

1. Pese 325 g de carne molida de pollo o pavo cruda y colóquela en una bolsa estéril.
2. Añada 400 ml de agua con peptona tamponada (BPW).
3. Homogenice la preparación por completo; para ello, ejecute una agitación excéntrica a 180 rpm durante 1 minuto.
4. Transfiera 30 ml del homogeneizado de carne molida de pollo o pavo cruda a una bolsa de muestra.
5. Añada 30 ml de los medios de cultivo deshidratados para enriquecimiento rápido en pruebas cuantitativas (QRED500) de Neogen (consulte la Ficha de especificaciones técnicas para medios de cultivo deshidratados para enriquecimiento rápido en pruebas cuantitativas)[7]. Este sistema de medios debe estar precalentado a 42 °C. En este punto, la solución se conoce como la “muestra”.
6. Incube la muestra de acuerdo con las condiciones de enriquecimiento que se detallan en la tabla 2.
7. Después del paso de enriquecimiento, retire la muestra de la incubadora y mezcle bien.
8. Inmediatamente después de mezclar, separe 1,5 ml de la muestra en un tubo de microcentrífuga de 2 ml con fondo cónico.
9. Centrifugue en una minicentrífuga a 7000 x g durante 5 minutos para sedimentar el material particulado.
10. Deseche con cuidado el sobrenadante, a fin de no alterar el material sedimentado. Con suavidad y cuidado, invierta el tubo y golpee con el dedo la toalla de papel para eliminar cualquier resto de sobrenadante.
11. Vuelva a suspender el material sedimentado en 300 µl de QRED500.
12. Ejecute una agitación excéntrica hasta que el material sedimentado se vuelva a suspender en el QRED500.
13. Con el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen, analice 50 µl de la muestra de material sedimentado resuspendido (a partir de 12).

Cuantificación de *Salmonella* en soluciones de enjuague enriquecidos de caparazón de pollo

1. Coloque un caparazón de pollo en una bolsa estéril de enjuague para aves de corral.
2. Añada 400 ml de agua de peptona tamponada neutralizante (nBPW) o agua de peptona tamponada (BPW) de Neogen a través de la pieza en canal de pollo (consulte la tabla 2).

3. Mezcle el contenido durante 1 minuto para enjuagar el caparazón.
4. Transfiera 30 ml de la solución de enjuague a una bolsa de muestra.
5. Añada 30 ml de los medios de cultivo deshidratados para enriquecimiento rápido en pruebas cuantitativas (QRED500) de Neogen (consulte la Ficha de especificaciones técnicas para medios de cultivo deshidratados para enriquecimiento rápido en pruebas cuantitativas)(6). Este sistema de medios debe estar precalentado a 42 °C. En este punto, la solución se conoce como la *muestra*.
6. Incube la muestra de acuerdo con las condiciones de enriquecimiento que se detallan en la tabla 2.
7. Después del paso de enriquecimiento, retire la muestra de la incubadora y mezcle bien.
8. Inmediatamente después de mezclar, separe 1,5 ml de la muestra en un tubo de microcentrífuga de 2 ml con fondo cónico.
9. Centrifugue en una minicentrífuga a 5000 x g durante 5 minutos para sedimentar el material particulado.
10. Deseche con cuidado el sobrenadante, a fin de no alterar el material sedimentado. Con suavidad y cuidado, invierta el tubo y golpee con el dedo la toalla de papel para eliminar cualquier resto de sobrenadante.
11. Vuelva a suspender el material sedimentado en 100 µl (microlitros) de QRED500.
12. Ejecute una agitación excéntrica hasta que el material sedimentado se vuelva a suspender en el QRED500.
13. Con el ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen, analice 50 µl de la muestra de material sedimentado resuspendido (a partir de 12).

En la tabla 2, se ofrece orientación para los protocolos generales de enriquecimiento aplicables a soluciones de enjuague enriquecidos de caparazón de pollo y en muestras de carne molida de aves de corral cruda. Es responsabilidad del usuario validar protocolos alternativos de muestreo o índices de dilución a fin de garantizar que este método de prueba cumple con sus criterios.

Tabla 2. Protocolos generales de enriquecimiento.

Matriz de muestra	Tamaño de muestra	Homoge-neización (primer paso)	Enrique-cimiento	Temp. de enriqueci-miento	Tiempo de enriqueci-miento	Resuspensión del material particulado	Volu-men de análisis de muestras[(a)]
Carne molida de pollo cruda	325 g	400 ml BPW	30 ml de homogeneizado + 30 ml de QRED	42 °C, ±1 °C	6 horas	300 µL	50 µL
Carne molida de pavo cruda	325 g	400 ml BPW	30 ml de homogeneizado + 30 ml de QRED	42 °C, ±1 °C	5 horas	300 µL	50 µL
Solución de enjuague de caparazón de pollo	30 ml	400 ml nBPW	30 ml de la solución de enjuague nBPW + 30 ml de QRED	42 °C, ±1 °C	6 horas	100 µL	50 µL
Solución de enjuague de caparazón de pollo	30 ml	400 ml BPW	30 ml de la solución de enjuague + 30 ml de QRED	42 °C, ±1 °C	5 horas	100 µL	50 µL

(a) Volumen de muestra transferida a tubos de solución de lisis. Consulte el paso 4.5 de la sección Lisis.

Preparación de la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen®

1. Humedezca un paño o una toalla descartable con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) y enjuague la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen.
2. Enjuague con agua la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen.
3. Use una toalla descartable para secar la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen.
4. Asegúrese de que la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen esté seca antes de usarla.

Preparación del inserto del bloque de enfriamiento para la detección molecular de Neogen®

Coloque el inserto del bloque de enfriamiento para la detección molecular de Neogen directamente sobre una mesa de laboratorio. Utilice el bloque a temperatura ambiente del laboratorio (entre 20 °C y 25 °C).

Preparación del inserto del bloque de calentamiento para la detección molecular de Neogen®

Coloque el inserto del bloque de calentamiento para la detección molecular de Neogen en una unidad doble de bloque de calentamiento seco. Encienda la unidad del bloque de calentamiento seco y ajuste la temperatura para permitir que el inserto del bloque de calentamiento para la detección molecular de Neogen alcance y mantenga una temperatura de 100 ±1 °C.

NOTA: Según la unidad de calentamiento, espere unos 30 minutos para que el inserto del bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen alcance la temperatura. Con un termómetro calibrado adecuado (p. ej., un termómetro de inmersión parcial o termómetro termocupla digital, no un termómetro de inmersión total) colocado en la ubicación designada, verifique que el inserto del bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen esté a 100 ±1 °C.

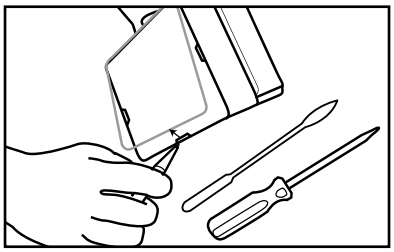
Preparación del instrumento de detección molecular de Neogen

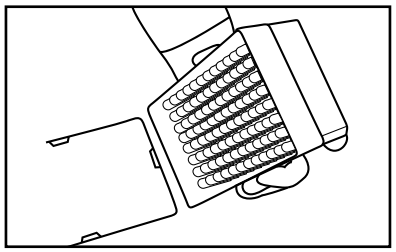
1. Inicie el software de detección molecular de Neogen e inicie sesión. Póngase en contacto con el representante de Neogen Food Safety más cercano, a fin de garantizar que tenga la versión más actualizada del software. La última versión incluye el ensayo cuantitativo.
2. Encienda el instrumento de detección molecular de Neogen.
3. Cree o edite una ejecución con datos para cada muestra. Para obtener más información detallada, consulte el Manual del usuario del sistema de detección molecular de Neogen y el Boletín técnico del software MDA2QSAL96.

NOTA: El instrumento de detección molecular de Neogen debe alcanzar y mantener una temperatura de 60 °C antes de insertar la bandeja de carga rápida para detección molecular de Neogen con tubos de reacción. Este paso de calentamiento dura cerca de 20 minutos y se indica con una luz NARANJA en la barra de estado del instrumento. Cuando el instrumento esté listo para iniciar una ejecución, la barra de estado será VERDE.

Lisis

1. Retire la parte inferior de la gradilla de solución de lisis (Lysis Solution, LS) de Neogen con un destornillador o una espátula antes de colocarla en el inserto de bloque de calor de detección molecular de Neogen.

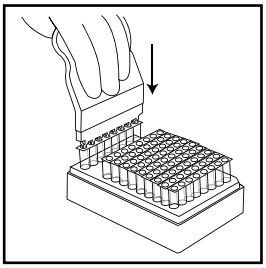
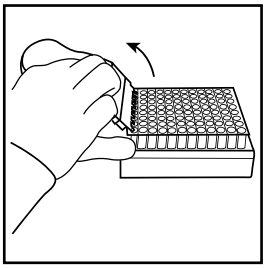
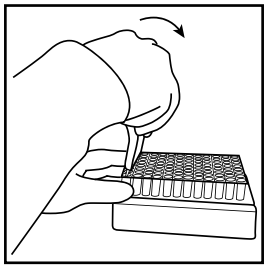
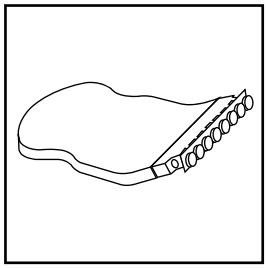
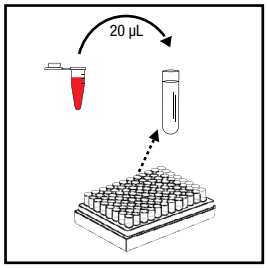




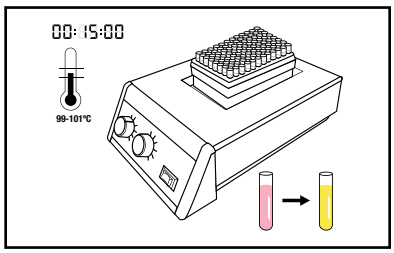
2. Deje que los tubos de la LS de Neogen se calienten. Para ello, colóquelos en una rejilla a temperatura ambiente (entre 20 °C y 25 °C) durante la noche (entre 16 y 18 horas). Las alternativas para equilibrar los tubos de LS a temperatura ambiente consisten en poner los tubos sobre un banco de laboratorio durante al menos 2 horas, incubar los tubos de LS en una incubadora a 37 °C, ±1 °C, durante 1 hora, o bien colocarlos en un bloque de calentamiento seco doble durante 30 segundos a 100 °C.
3. Invierta los tubos tapados para mezclar. Continúe con el siguiente paso dentro de las 4 horas.
4. Se requiere un tubo de LS para cada muestra y la muestra de control negativo (NC) (medio de enriquecimiento estéril).
   4.1 Las tiras de tubo de LS se pueden cortar según la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de tubos individuales de LS o tiras de 8 tubos necesarios. Coloque los tubos de LS en una rejilla vacía.
   4.2 Use la herramienta de encapuchado o desencapuchado de detección molecular de Neogen® para destapar una tira de tubo de solución de LS, una tira a la vez.
   4.3 Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubos de LS a la vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
   4.4 Deseche la tapa del tubo de LS.
   4.5 Transfiera 50 µl de la muestra de material particulado resuspendido a un tubo de LS.

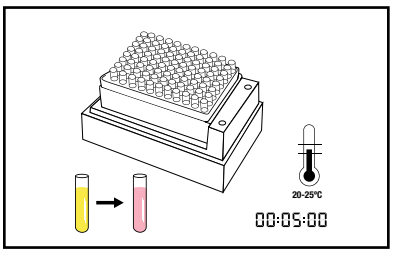
En primer lugar, transfiera **50 µl** de cada muestra material particulado resuspendido a un tubo de LS. Transfiera el NC al **final**.

5. Repita los pasos 2 a 5 hasta que cada muestra individual se haya agregado a un tubo de LS correspondiente en la tira.

6. Repita los pasos 1 a 5 según sea necesario, para la cantidad de muestras que se probarán.
7. Cuando se hayan transferido todas las muestras, transfiera 50 µl de NC (medio estéril QRED500) a un tubo de LS. No use agua como NC.
8. Verifique que la temperatura del inserto de bloque de calentamiento para detección molecular de Neogen sea de 100 ±1 °C.
9. Coloque la gradilla destapada de tubos de LS en el inserto del bloque de calentamiento para detección molecular y caliente durante 15 ±1 minutos. Durante el calentamiento, la solución de LS cambiará de rosa (frío) a amarillo (caliente).
   Las muestras que no se hayan tratado con calor de forma adecuada durante el paso de lisis del ensayo podrían considerarse un riesgo biológico potencial y NO deberían introducirse en el instrumento de detección molecular de Neogen.
10. Retire la gradilla destapada de los tubos de LS del bloque de calentamiento y deje que se enfríe en el inserto del bloque de enfriamiento para detección molecular de Neogen durante al menos 5 minutos y un máximo de 10 minutos. El inserto del bloque de enfriamiento molecular Neogen, utilizado a temperatura ambiente sin la bandeja de bloque de enfriamiento para detección molecular, debe colocarse directamente sobre la mesa del laboratorio. Cuando se enfríe, la solución de lisis volverá a tener un color rosado.
11. Retire la gradilla de los tubos de LS del inserto de bloque de enfriamiento para detección molecular de Neogen.



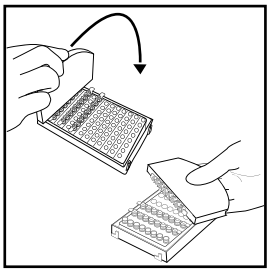


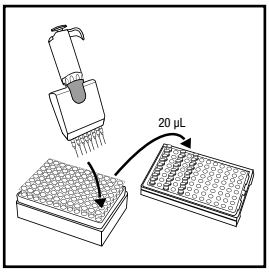
Amplificación

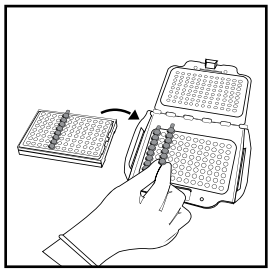
1. Se debe usar un ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* para cada muestra y el NC.
   1.1 Las tiras de tubo de reactivos se pueden cortar según la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de tubos individuales de reactivos o tiras de 8 tubos necesarios.
   1.2 Coloque los tubos de reactivos en una rejilla vacía.
   1.3 Evite tocar los pellets del reactivo de la parte inferior de los tubos.
2 Seleccione un tubo de control de reactivo (RC) y colóquelo en la gradilla.
3. Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubos de reactivos a la vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera cada uno de los lisados, como se describe a continuación:

En primer lugar, transfiera 20 µl de cada muestra de lisado a tubos de reactivos individuales, seguido del NC. Hidrate el tubo de RC al final del proceso.

5. Use la herramienta de encapuchado/desencapuchado para reactivos de detección molecular de Neogen para destapar el tubo de reactivos del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella*, una tira de tubo a la vez. Deseche la tapa.
   5.1 Transfiera 20 µl de lisado de muestra desde la mitad superior del líquido (evitar precipitado) en el tubo de solución de lisis Neogen en el tubo de reactivos pertinente. Distribuya en ángulo para evitar tocar los pellets. Mezcle suavemente aspirando y expulsando el líquido con la pipeta 5 veces.
   5.2 Repita el paso 5.1 hasta que todas las muestras individuales de lisados se hayan agregado a un tubo de reactivos pertinente del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* en la tira.
   5.3 Cubra los tubos de reactivos del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* con las tapas extras provistas y use el lado redondeado de la herramienta de encapuchado/desencapuchado para reactivos de detección molecular a fin de aplicar presión en un movimiento hacia adelante y hacia atrás, asegurándose de que la tapa se coloque bien.
   5.4 Repita los pasos 5.1 a 5.3 según sea necesario, para la cantidad de muestras que se probarán.
   5.5 Cuando se hayan transferido todas las muestras de lisados, ejecute una agitación excéntrica en los tubos de reactivos tapados durante 2 segundos para mezclarlos; a continuación, centrifugue los tubos durante 10 segundos en una minicentrífuga, a fin de asegurarse de que todo el líquido se encuentre esté en el fondo del tubo.
   5.6 Transfiera 20 µl del lisado de NC a un tubo de reactivo pertinente del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella* de Neogen y, a continuación, otros 20 µl de lisado de NC a un tubo de RC. Distribuya en ángulo para evitar tocar los pellets. Mezcle suavemente aspirando y expulsando el líquido con la pipeta 5 veces.
6. Cargue los tubos tapados en una bandeja de carga rápida de detección molecular de Neogen limpia y descontaminada. Cierre bien la tapa de la bandeja de carga rápida para la detección molecular de Neogen.







7. Revise y confirme la ejecución configurada en el software de detección molecular para ensayos cuantitativos de Neogen.
8. Haga clic en el botón Inicio del software y seleccione el instrumento que desea utilizar. La tapa del instrumento seleccionado se abrirá automáticamente.
9. Coloque la bandeja de carga rápida de detección molecular de Neogen en el instrumento de detección molecular de Neogen y cierre la tapa para iniciar el ensayo. Los resultados se proporcionan en 60 minutos, aunque los positivos pueden detectarse antes.

10. Una vez que el ensayo esté completo, quite la bandeja de carga rápida de detección molecular de Neogen del instrumento de detección molecular y deseche los tubos al remojar en una solución de cloro de uso doméstico del 1 y el 5 % (v:v en agua) durante 1 hora y alejado del área de preparación del ensayo.

AVISO: Para reducir al mínimo el riesgo de falsos positivos debido a la contaminación cruzada, nunca abra los tubos de reactivos que contienen ADN amplificado. Esto incluye el tubo de reactivos y los tubos de control de matrices Neogen para control de reactivos del ensayo de detección molecular 2Q cuantitativo para la detección de *Salmonella*. Siempre deseche los tubos de reactivos sellados al remojar en una solución de cloro de uso doméstico del 1 y el 5 % (v:v en agua) durante 1 hora y alejado del área de preparación del ensayo.

Resultados e interpretación

Los resultados se determinan mediante el análisis de una serie de parámetros de curva únicos mediante el uso del software.

Referencias:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Capítulo 5: *Salmonella*, versión de septiembre de 2023.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.14. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, Carcass, and Environmental Sponges. Fecha de vigencia: 5 de junio de 2023.
3. ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuff – General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Neogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500) Technical Specification Sheet.

Explicación de los símbolos

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 EE. UU.
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Escocia, Reino Unido

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Irlanda

© Neogen Corporation 2024. Todos los derechos reservados. Neogen es una marca registrada de Neogen Corporation. Patente: neogen.com/patents.

NEOGEN®

Instruções do produto

Kit Neogen Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - Quantitativa de *Salmonella*

Descrição do produto e uso pretendido

O Ensaio de Detecção Molecular Neogen® 2Q - Kit de *Salmonella* Quantitativa (MDA2QSAL96) é usado com os Meios Desidratados de Enriquecimento Rápido Quantitativo (QRED500) da Neogen® e com o Sistema de Detecção Molecular da Neogen® para quantificação rápida de *Salmonella* em enxágues de carcaça de frango enriquecidos e amostras de aves moídas cruas. O Ensaio de Detecção Molecular da Neogen® 2Q – Kit *Salmonella* Quantitativa e um aplicativo modelo acessado através do software do sistema de detecção molecular da Neogen®. O resultado obtido no Software do Sistema de Detecção Molecular da Neogen® é usado para avaliar a quantidade de *Salmonella* em enxágues de carcaças de frango e matrizes de aves moídas cruas.

O ensaio usa amplificação isotérmica mediada por loop para amplificar rapidamente sequências de ácidos nucleicos com alta especificidade e sensibilidade, combinadas com bioluminescência para detectar a amplificação. Os resultados positivos presuntivos são relatados em tempo real. Os resultados abaixo do limite de detecção serão exibidos como negativos após a conclusão do ensaio. Resultados presumivelmente positivos devem ser confirmados usando o método de sua preferência ou conforme especificado pelas regulamentações locais[1, 2, 3].

O Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2 – *Salmonella* quantitativa destina-se ao uso em ambiente laboratorial por profissionais treinados em técnicas laboratoriais. A Neogen não documentou o uso deste produto em outras indústrias além de alimentos ou bebidas. Por exemplo, a Neogen não documentou este produto para testar amostras farmacêuticas, cosméticas, clínicas ou veterinárias. O Ensaio de Detecção Molecular 2Q – *Salmonella* Quantitativa da Neogen não foi avaliado com todos os possíveis produtos alimentares, processos alimentares, protocolos de testes ou com todas as possíveis cepas de bactérias. Tal como acontece com todos os métodos de teste, a fonte, a formulação e a qualidade do meio de enriquecimento podem influenciar os resultados. Fatores como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparo de amostras, manuseio e técnica laboratorial também podem influenciar os resultados. A Neogen recomenda a avaliação do método, incluindo o meio de enriquecimento, no ambiente do usuário, usando um número suficiente de amostras com alimentos específicos e desafios microbianos para garantir que o método atenda aos critérios do usuário.

A Neogen avaliou o Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa com Água Peptonada Tamponada Neogen® (BPW), Água Peptonada Tamponada Neutralizante Neogen® (nBPW) e Meios Desidratados de Enriquecimento Rápido Quantitativo Neogen (QRED500).

O Instrumento de Detecção Molecular Neogen destina-se ao uso com amostras que foram submetidas a tratamento térmico durante a etapa de lise do ensaio, que é projetada para destruir organismos presentes na amostra.

Amostras que não foram adequadamente tratadas termicamente durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico em potencial e NÃO devem ser inseridas no Instrumento de Detecção Molecular Neogen.

A Neogen Food Safety é certificada pela ISO (International Organization for Standardization) 9001 para projeto e fabricação.

O kit de teste do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa contém 96 testes, descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Componentes do kit

Item	Identificação	Quantidade	Conteúdo	Comentários
Tubos de solução de lise (LS)	Solução rosa em tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de LS por tubo	Montado e pronto para uso
Salmonella quantitativa Tubos de reagente	Tubos verdes	96 (12 tiras de 8 tubos)	Mistura específica liofilizada de amplificação e detecção	Pronto para uso
Tampas extras	Tampas verdes	96 (12 tiras de 8 tampas)		Pronto para uso
Controle de reagente (RC)	Tubos flip-top transparentes	16 (2 bolsas de 8 tubos individuais)	DNA de controle liofilizado, mistura de amplificação e detecção	Pronto para uso

O Controle Negativo, não fornecido no kit, é um meio de enriquecimento estéril, por exemplo, BPW, nBPW ou QRED500. Não utilize água como Controle Negativo.

Segurança

O usuário deve ler, compreender e seguir todas as informações de segurança nas instruções do Sistema de Detecção Molecular Neogen e do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa. Guarde as instruções de segurança para referência futura.

⚠ **AVISO:**	Indica uma situação perigosa que, se não for evitada, poderá resultar em morte ou ferimentos graves e/ou danos materiais.
⚠ **CUIDADO:**	Indica uma situação perigosa que, se não for evitada, poderá resultar em ferimentos leves ou moderados e/ou danos materiais.
OBSERVAÇÃO:	Indica uma situação possivelmente perigosa que, se não for evitada, poderá resultar em danos materiais.

⚠ **AVISO**

O protocolo Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa NÃO possui pontos de interrupção. As amostras devem ser totalmente analisadas após o enriquecimento da amostra (consulte os protocolos na Tabela 2).

Não use o Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa no diagnóstico de doenças em humanos ou animais.

O usuário deve treinar seu pessoal nas técnicas de teste adequadas e atuais: por exemplo, Boas Práticas de Laboratório, ISO/IEC 17025[4] ou ISO 7218[5].

Para reduzir os riscos associados a um resultado abaixo do limite de quantificação que levam à libertação de produtos contaminados:

- Não interprete os resultados abaixo do limite de quantificação do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – ensaio Quantitativo *de Salmonella* como um resultado negativo *de Salmonella*. Os resultados abaixo dos resultados do limite de quantificação não indicam a ausência completa de *Salmonella*, apenas que o nível de *Salmonella*, se presente, está abaixo do limite de quantificação para este método.
- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme indicado nas instruções do produto.
- Sempre use uma micropipeta calibrada.
- Use o Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa com alimentos validados internamente ou por um terceiro.

- Armazene o Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa conforme indicado na embalagem e nas instruções do produto.
- Sempre use o Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa até a data de validade.
- Não use os enriquecimentos de amostra descritos nestas instruções do produto no Ensaio de Detecção Molecular 2 da Neogen® – *Salmonella* (MDA2SAL96) **QUALITATIVO**. Os enriquecimentos incluídos nestas instruções do produto foram desenvolvidos especificamente para este ensaio **QUANTITATIVO**.

Para reduzir os riscos associados à exposição a produtos químicos e aos riscos biológicos:

- Realize testes de patógenos em um laboratório devidamente equipado sob o controle de pessoal treinado. Os meios de enriquecimento incubados e os equipamentos ou superfícies que tenham entrado em contato com meios de enriquecimento incubados podem conter agentes patogênicos a níveis suficientes para causar riscos para a saúde humana.
- Este procedimento utiliza/detecta micro-organismos patogênicos e/ou seus produtos metabólicos acima de um determinado nível. Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão ou inalação de aerossóis potencialmente infecciosos ou contato com a pele. Siga sempre as práticas de segurança laboratoriais padrão, incluindo o uso de vestuário de proteção adequado e proteção para os olhos ao manusear reagentes e amostras contaminadas.
- Evite o contato com o conteúdo do meio de enriquecimento e dos tubos reagentes após a amplificação.
- Descarte amostras enriquecidas de acordo com os padrões atuais do setor.
- Amostras que não foram adequadamente tratadas termicamente durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico em potencial e NÃO devem ser inseridas no Instrumento de Detecção Molecular Neogen.
- Para reduzir os riscos associados à contaminação cruzada ao preparar o ensaio:
- Sempre utilize luvas (para proteger o usuário e evitar a introdução de nucleases).

Para reduzir os riscos associados à contaminação ambiental:

Siga os padrões atuais do setor para descarte de resíduos contaminados.

⚠ CUIDADO

Para reduzir os riscos associados à exposição a líquidos quentes:

- Não exceda a definição de temperatura recomendada no aquecedor.
- Não exceda o tempo de aquecimento recomendado.

Use um termômetro calibrado apropriado para verificar a temperatura do inserto do Bloco de Calor de Detecção Molecular Neogen® (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou um termômetro de termopar digital, não um termômetro de imersão total). O termômetro deve ser colocado no local designado no Inserto do Bloco de Calor para Detecção Molecular Neogen.

OBSERVAÇÃO

Para reduzir os riscos associados à contaminação cruzada ao preparar o ensaio:

- Troque as luvas antes da hidratação dos pellets reagentes.
- Recomenda-se o uso de pontas de pipeta estéreis, com barreira contra aerossóis (filtradas) e de qualidade para biologia molecular.
- Use uma ponta de pipeta nova para cada transferência de amostra.
- Use as Práticas de Laboratório Recomendadas durante as etapas de processamento da centrifugação e para transferir a amostra do enriquecimento para o tubo de lise. Para evitar a contaminação do pipetador, o usuário pode optar por adicionar uma etapa de transferência intermediária. Por exemplo, o usuário pode transferir cada amostra enriquecida para um tubo estéril.

- Use uma estação de trabalho de biologia molecular contendo lâmpada germicida, quando disponível. Descontamine periodicamente as bancadas e equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas para tampar/destampar etc.) com uma solução de alvejante doméstico de 1-5% (v:v em água) ou solução de remoção de DNA.

Para reduzir os riscos associados a um resultado falso-positivo:

- Nunca abra os tubos após a amplificação.
- Elimine sempre os tubos contaminados mergulhando-os em uma solução alvejante doméstica a 1-5% (v:v em água) durante 1 hora e longe da área de preparação do ensaio.
- Nunca realize autoclave de tubos reagentes pós-amplificação.
- Sempre use uma micropipeta calibrada.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter informações adicionais e regulamentações locais para descarte.

Se tiver dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, visite o nosso site em www.neogen.com ou entre em contato com seu representante ou distribuidor local autorizado da Neogen.

Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizar com as instruções e informações do produto. Acesse nosso site em neogen.com ou entre em contato com o representante local ou distribuidor autorizado da Neogen para obter mais informações.

Ao selecionar um método de teste, é importante reconhecer que fatores externos, como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparação da amostra, manuseio e técnica laboratorial e a própria amostra podem influenciar os resultados.

O usuário é responsável por selecionar qualquer método de teste ou produto para avaliar um número suficiente de amostras com as matrizes e desafios microbianos adequados para convencer o usuário de que o método de ensaio escolhido satisfaz os critérios do usuário.

Também é responsabilidade do usuário determinar se quaisquer métodos e resultados de teste satisfazem os requisitos de seus clientes e fornecedores.

Como acontece com qualquer método de teste, os resultados obtidos com o uso de qualquer produto de segurança alimentar da Neogen não constituem garantia da qualidade das matrizes ou processos testados.

Para ajudar os clientes a avaliar o método para diversas matrizes alimentares, a Neogen desenvolveu o kit de Controle da Matriz de Detecção Molecular Neogen®. Quando necessário, use o Controle de Matriz para determinar se a matriz tem a capacidade de afetar os resultados do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa. Teste diversas amostras, representativas da matriz, ou seja, amostras obtidas de origem diferente, durante qualquer período de validação ao adotar o método da Neogen ou ao testar matrizes novas ou desconhecidas ou matrizes que sofreram alterações de matéria-prima ou processo.

Uma matriz pode ser definida como um tipo de produto com propriedades intrínsecas como composição e processo. As diferenças entre matrizes podem ser tão simples como os efeitos causados por diferenças no seu processamento ou apresentação, por exemplo, cru versus pasteurizado; fresco versus seco etc.

Limitação de garantias/recurso limitado

EXCETO CONFORME EXPRESSAMENTE DECLARADO EM UMA SEÇÃO DE GARANTIA LIMITADA DA EMBALAGEM INDIVIDUAL DO PRODUTO, a NEOGEN SE ISENTA DE TODAS AS GARANTIAS EXPRESSAS E IMPLÍCITAS, INCLUINDO, MAS NÃO SE LIMITANDO A, QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU ADEQUAÇÃO A UM USO ESPECÍFICO. Se algum Produto da Neogen Food Safety apresentar defeito, a Neogen ou seu distribuidor autorizado vai, a seu critério, substituir ou reembolsar o preço de compra do produto. Estes são os reparos exclusivos. Você deve notificar imediatamente a Neogen dentro de sessenta dias após a descoberta de qualquer suspeita de defeitos em um produto e devolvê-lo à Neogen. Entre em contato com seu representante da Neogen Food Safety ou distribuidor autorizado da Neogen para qualquer dúvida adicional.

Limitação de responsabilidade da Neogen

NA NEOGEN NÃO SERÁ RESPONSÁVEL POR QUAISQUER PERDAS OU DANOS, SEJAM DANOS DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, INCIDENTAIS OU CONSEQUENCIAIS, INCLUINDO, MAS NÃO SE LIMITANDO A LUCROS CESSANTES. Em nenhuma circunstância, a responsabilidade da Neogen sob qualquer teoria legal excederá o preço de compra do produto alegadamente defeituoso.

Armazenamento e descarte

Armazene os componentes do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa entre 2–8 °C. Não congele. Mantenha o kit longe da luz durante o armazenamento. Depois de abrir o kit, verifique se a bolsa de papel alumínio não está danificada. Se a bolsa estiver danificada, não a use. Após a abertura, os tubos de reagente não utilizados devem ser sempre armazenados na bolsa revedável com o dessecante em seu interior para manter a estabilidade dos reagentes liofilizados. Armazene as embalagens vedadas novamente entre 2 °C a 8 °C por no máximo 60 dias. Nunca use o Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa após a data de validade. A data de validade e o número do lote são anotados na etiqueta externa da caixa. Após o uso, o meio de enriquecimento e os tubos do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa podem conter materiais patogênicos. Quando os testes estiverem concluídos, siga os regulamentos locais para o descarte de resíduos contaminados. Consulte a Ficha Técnica de Segurança para obter informações adicionais.

Instruções de Uso

Siga todas as instruções cuidadosamente. Não fazer isso pode levar a resultados imprecisos.

Descontamine periodicamente as bancadas e equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas para tampar/destampar etc.) com uma solução de alvejante doméstico de 1-5% (v:v em água) ou solução de remoção de DNA.

O usuário deve concluir o treinamento de qualificação de operador (OQ) do Sistema de Detecção Molecular Neogen, conforme descrito no documento "Protocolos e instruções de qualificação de instalação (IQ)/Qualificação operacional (OQ) para o Sistema de Detecção Molecular Neogen" [6].

Consulte a seção "Instruções específicas para métodos validados" para obter requisitos específicos:

Quantificação de *Salmonella* em frango/peru moído cru

1. Pese 325 g de frango ou peru moído cru e coloque em um saco estéril
2. Adicione 400 ml de água peptonada tamponada (BPW).
3. Homogeneíze bem triturando a 180 rpm durante 1 minuto.
4. Transfira 30 ml do homogeneizado de frango ou peru moído cru para um saco de amostra.
5. Adicione 30 ml de Meios Desidratados de Enriquecimento Rápido Quantitativo Neogen (QRED500) (consulte a Folha de Especificações Técnicas dos Meios Desidratados de Enriquecimento Rápido Quantitativo)[7], pré-aquecido a 42 °C. Isso é chamado de 'Amostra'.
6. Incubar a 'amostra' de acordo com as condições de enriquecimento indicadas na tabela 2.
7. Após o enriquecimento, retire a amostra da incubadora e misture bem.
8. Imediatamente após a mistura, aliquote 1,5 ml da amostra em um tubo de microcentrífuga de 2 ml com fundo cônico.
9. Centrifugue em uma minicentrífuga a 7.000 x g por 5 minutos para granular as partículas.
10. Descarte cuidadosamente o sobrenadante sem perturbar os pellets. Delicadamente, inverta o tubo e bata em papel toalha para remover o excesso de sobrenadante restante.
11. Ressuspenda os pellets em 300 µl de QRED500.
12. Use um vórtice até que o pellet esteja completamente ressuspenso no QRED500.
13. Analise 50 µl da amostra de pellets ressuspensos (de 12) com o Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa.

Quantificação de *Salmonella* em enxágues de carcaças de frango

1. Coloque uma carcaça de frango em um saco de enxágue estéril para aves.
2. Adicione 400 ml de água peptonada tamponada neutralizante Neogen (nBPW) ou água peptona tamponada (BPW) através do canal das galinhas (consulte a Tabela 2).
3. Misture o conteúdo por 1 minuto para enxaguar a carcaça.
4. Transfira 30 ml do enxágue para um saco de amostra.
5. Adicione 30 ml de Meios Desidratados de Enriquecimento Rápido Quantitativo Neogen (QRED500) (consulte a Folha de Especificações Técnicas dos Meios Desidratados de Enriquecimento Rápido Quantitativo)(6), pré-aquecido a 42 °C. Isso é chamado de 'Amostra'.
6. Incube a amostra conforme as condições de enriquecimento indicadas na tabela 2.
7. Após o enriquecimento, retire a amostra da incubadora e misture bem.
8. Imediatamente após a mistura, aliquote 1,5 ml da amostra em um tubo de microcentrífuga de 2 ml com fundo cônico.
9. Centrifugue em uma minicentrífuga a 5.000 x g por 5 minutos para granular as partículas.
10. Descarte cuidadosamente o sobrenadante sem perturbar os pellets. Delicadamente, inverta o tubo e bata em papel toalha para remover o excesso de sobrenadante restante.
11. Ressuspenda os pellets em 100 µl (microlitros) de QRED500.
12. Use um vórtice até que o pellet esteja completamente ressuspenso no QRED500.
13. Analise 50 µl da amostra de pellets ressuspensos (de 12) com o Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa.

A Tabela 2 apresenta orientações para protocolos gerais de enriquecimento para enxágues de carcaças de frango e amostras de aves moídas cruas. É responsabilidade do usuário validar protocolos de amostragem alternativos ou taxas de diluição para garantir que este método de teste atenda aos critérios do usuário.

Tabela 2. Protocolos gerais de enriquecimento.

Matriz de amostra	Tamanho da amostra	Homogeneização (primeira etapa)	Enriquecimento	Temperatura de enriquecimento	Tempo de enriquecimento	Ressuspensão de pellets	Volume de análise da amostra[(a)]
Frango moído cru	325 g	400 mL BPW	30 ml de homogeneizado + 30 ml de QRED	42 ± 1 °C	6 horas	300 µL	50 µL
Peru moído cru	325 g	400 mL BPW	30 ml de homogeneizado + 30 ml de QRED	42 ± 1 °C	5 horas	300 µL	50 µL
Enxágue de carcaça de frango	30 mL	400 mL nBPW	30 ml de enxágue nBPW + 30 ml de QRED	42 ± 1 °C	6 horas	100 µL	50 µL
Enxágue de carcaça de frango	30 mL	400 mL BPW	30 ml de enxágue BPW + 30 ml de QRED	42 ± 1 °C	5 horas	100 µL	50 µL

(a) Volume de amostra transferido para tubos de Solução de Lise. Consulte a etapa 4.5 da seção Lise.

Preparação da Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen®

1. Umedeça um pano ou toalha descartável com uma solução de alvejante doméstico de 1-5% (v:v em água) e limpe a Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen.
2. Enxágue a Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen com água.
3. Use uma toalha descartável para secar a Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen.
4. Verifique se a Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen está seca antes de usar.

Preparação do Inserto do Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular Neogen®

Coloque o Inserto do Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular Neogen direto na bancada do laboratório: Use o bloco à temperatura ambiente de laboratório (20-25 °C).

Preparação do Inserto do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen®

Coloque o Inserto do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen em um aquecedor de bloco duplo seco. Ligue a unidade de aquecimento de bloco seco e ajuste a temperatura para permitir que o Inserto do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen atinja e mantenha uma temperatura de 100 ± 1 °C.

OBSERVAÇÃO: dependendo do aquecedor, aguarde aproximadamente 30 minutos para que o Inserto do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen atinja a temperatura. Usando um termômetro calibrado apropriado (por exemplo, um termômetro de imersão parcial, um termômetro de termopar digital, não um termômetro de imersão total) colocado no local designado, verifique se o Inserto do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen está a 100 ± 1 °C.

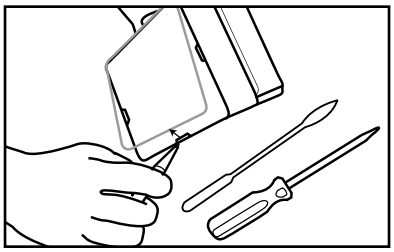
Preparo do Instrumento de Detecção Molecular Neogen

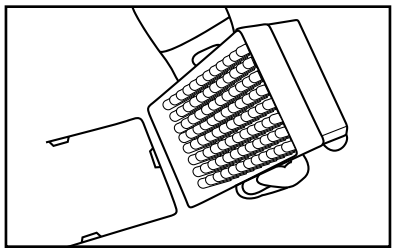
1. Inicie o Software de Detecção Molecular Neogen® e faça login. Entre em contato com seu representante da Neogen Food Safety para garantir que você tenha a versão mais atualizada do software, que inclui os Ensaios Quantitativos.
2. Ligue o Instrumento de Detecção Molecular Neogen.
3. Crie ou edite uma execução com dados para cada exemplo. Consulte o Manual do Usuário do Sistema de Detecção Molecular Neogen e o Boletim Técnico do Software MDA2QSAL96 para obter detalhes.

OBSERVAÇÃO: o Instrumento de Detecção Molecular Neogen deve atingir e manter a temperatura de 60 °C antes de inserir a Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen com tubos de reação. Esta etapa de aquecimento leva aproximadamente 20 minutos e é indicada por uma luz LARANJA na barra de status do instrumento. Quando o instrumento estiver pronto para iniciar uma execução, a barra de status ficará VERDE.

Lise

1. Remova o fundo do Rack de Solução de Lise Neogen com uma chave de fenda ou uma espátula antes de colocá-lo no Inserto do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen.

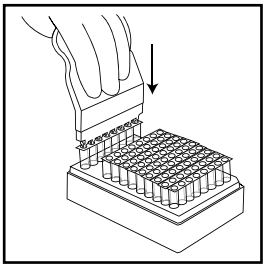
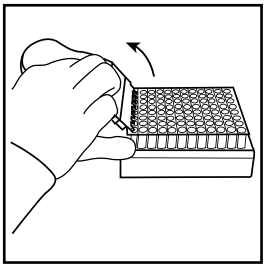
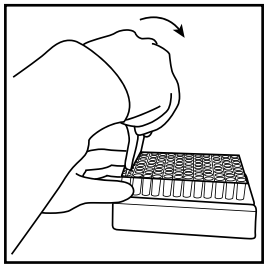
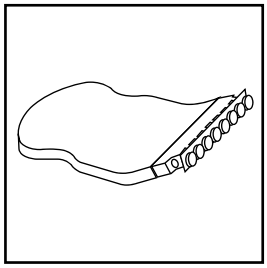
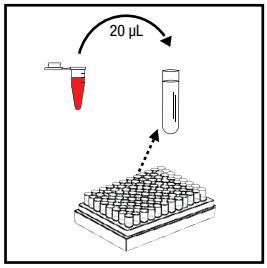




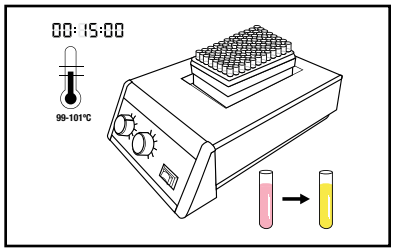
2. Deixe os tubos da Solução de Lise (LS) aquecerem ajustando o rack à temperatura ambiente (20-25 °C) durante a noite (16-18 horas). Alternativas para equilibrar os tubos da LS à temperatura ambiente são colocar os tubos da LS na bancada do laboratório por pelo menos 2 horas, incubar os tubos da LS em uma incubadora a 37 ± 1 °C por 1 hora ou colocá-los em um aquecedor de bloco duplo seco por 30 segundos a 100 °C.
3. Inverta os tubos tampados para misturar. Prossiga para a próxima etapa em até 4 horas.
4. É necessário um tubo da LS para cada amostra e a amostra de Controle Negativo (NC) (meio de enriquecimento estéril).
   4.1 As tiras de tubo da LS podem ser cortadas de acordo com o número de tubo de LS desejado. Selecione o número de tubos individuais da LS ou tiras de 8 tubos necessários. Coloque os tubos da LS em um rack vazio.
   4.2 Use a Ferramenta de Tampar/Destampar de Detecção Molecular Neogen® para destampar uma tira de tubos da LS.
   4.3 Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de tubos da LS de cada vez e use uma nova ponta de pipeta para cada etapa de transferência.
   4.4 Descarte a tampa do tubo LS.
   4.5 Transfira 50 µL da amostra de pellets ressuspensos para um tubo LS.

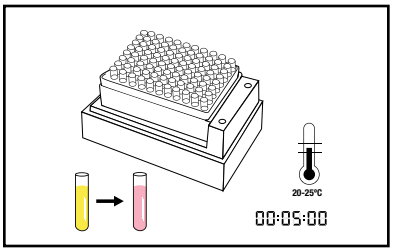
Primeiro, transfira **50 µL** de cada amostra de pellets ressuspensos para um tubo LS individual. Transfira o NC **por último**.

5. Repita as etapas 2-5 até que cada amostra individual tenha sido adicionada a um tubo correspondente da LS na tira.

6. Repita as etapas 1 a 5 conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.
7. Quando todas as amostras tiverem sido transferidas, transfira 50 µL de NC (QRED500 estéril) para um tubo da LS. Não utilize água como NC.
8. Verifique se a temperatura do Inserto do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen está em 100 ± 1 °C.
9. Coloque o rack descoberto de tubos da LS no Inserto do Bloco de Aquecimento de Detecção Molecular Neogen e aqueça por 15 ± 1 minutos. Durante o aquecimento, a solução de LS mudará de rosa (fria) para amarela (quente).
   Amostras que não foram adequadamente tratadas termicamente durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico em potencial e NÃO devem ser inseridas no Instrumento de Detecção Molecular Neogen.
10. Remova o rack descoberto dos tubos da LS do bloco de aquecimento e deixe esfriar no Inserto do Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular Neogen por pelo menos 5 minutos e no máximo 10 minutos. O Inserto do Bloco de Resfriamento Molecular Neogen, usado à temperatura ambiente sem a Bandeja do Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular, deve ficar diretamente na bancada do laboratório. Quando esfriar, a solução de lise reverterá para uma cor rosa.
11. Remova o rack de tubos da LS do Inserto do Bloco de Resfriamento de Detecção Molecular Neogen.



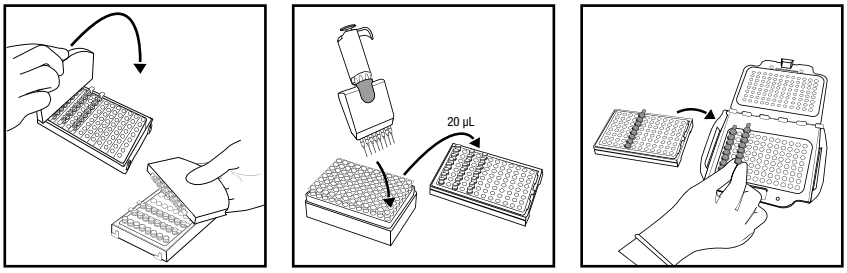


Ampliação

1. Um Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q – *Salmonella* Quantitativa é necessário para cada amostra e o NC.
   1.1 As tiras de tubos de reagente podem ser cortadas de acordo com o número de tubo desejado. Selecione o número de tubos individuais de reagente ou tiras de 8 tubos necessários.
   1.2 Coloque tubos de reagente em um rack vazio.
   1.3 Evite mexer nos pellets de reagentes do fundo dos tubos.
2 Selecione um tubo de controle de reagente (RC) e coloque-o no rack.
3. Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de tubos de reagente de cada vez e use uma nova ponta de pipeta para cada etapa de transferência.
4. Transfira cada um dos lisados como se descreve a seguir:

Transfira 20 µL de cada lisado da amostra para tubos de reagentes individuais, seguido primeiro pelo NC. Hidrate o tubo RC por último.

5. Use a Ferramenta de Tampar/Destampar de Detecção Molecular Neogen - Reagente para destampar os tubos de reagente do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa – uma tira de tubos de cada vez. Descarte a tampa.
   5.1 Transfira 20 µL de lisado de amostra da metade superior do líquido (evite precipitar) no tubo da Solução de Lise Neogen para o tubo de reagente correspondente. Dispense em ângulo para não perturbar os pellets. Misture pipetando com cuidado para cima e para baixo 5 vezes.
   5.2 Repita a etapa 5.1 até que todos os lisados de amostra tenham sido adicionados a um tubo de reagente do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa correspondente na tira.
   5.3 Tampe os tubos de reagente do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa com as tampas extras fornecidas e use o lado arredondado da Ferramenta de Tampar/Destampar de Detecção Molecular Neogen - Reagente para aplicar pressão indo para frente e para trás, garantindo que a tampa fique bem apertada.
   5.4 Repita as etapas 5.1 a 5.3 conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.
   5.5 Quando todos os lisados de amostra tiverem sido transferidos, use um vórtice nos tubos de reagentes tampados por 2 segundos para misturar e, em seguida, centrifugue por 10 segundos em uma minicentrífuga para garantir que todo o líquido esteja no fundo do tubo.
   5.6 Transfira 20 µL de lisado NC para um tubo de reagente do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa e outros 20 µL de lisado NC para um tubo RC. Dispense em ângulo para não perturbar os pellets. Misture pipetando com cuidado para cima e para baixo 5 vezes.
6. Coloque tubos tampados em uma bandeja limpa e descontaminada do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen. Feche e trave tampa da Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen.



7. Revise e confirme a execução configurada nos Ensaios Quantitativos do Software de Detecção Molecular Neogen.
8. Clique no botão Iniciar no software e selecione o instrumento a ser usado. A tampa do instrumento selecionado abre automaticamente.

9. Coloque a Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen no instrumento de detecção molecular Neogen e feche a tampa para iniciar o ensaio. Os resultados são fornecidos dentro de 60 minutos, embora os positivos possam ser detectados mais cedo.
10. Após a conclusão do ensaio, remova a Bandeja do Carregador Rápido de Detecção Molecular Neogen do Instrumento de Detecção Molecular Neogen e descarte os tubos mergulhando-os em uma solução de alvejante doméstico de 1-5% (v:v em água) por 1 hora e longe do área de preparação do ensaio.

OBSERVAÇÃO: para minimizar o risco de falso-positivos devido à contaminação cruzada, nunca abra tubos reagentes contendo DNA amplificado. Isso inclui Reagente do Ensaio de Detecção Molecular Neogen 2Q - *Salmonella* Quantitativa, Controle de Reagente Neogen e Tubos de Controle de Matriz Neogen. Elimine sempre os tubos de reagente vedados mergulhando-os em uma solução alvejante doméstica a 1-5% (v:v em água) durante 1 hora e longe da área de preparação do ensaio.

Resultados e interpretação

Os resultados são determinados pela análise de parâmetros exclusivos da curva realizado pelo software.

Referências:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella*, versão de setembro de 2023.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.14. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, Carcass, and Environmental Sponges. Data de vigência: 05 de junho de 2023.
3. ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuff – General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System.
7. Folha de Especificações Técnicas dos Meios Desidratados de Enriquecimento Rápido Quantitativo (QRED500) da Neogen.

Explicação dos símbolos

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

© Neogen Corporation 2024. Todos os direitos reservados. Neogen é uma marca comercial registrada da Neogen Corporation. Patente: neogen.com/patents.

製品説明

Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q - *サルモネラ属菌*定量検査スクリーニング キット

製品の説明と使用目的

Neogen® 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査 (MDA2QSAL96) キットは、Neogen® 定量迅速増菌粉末培地 (QRED500) および Neogen® 病原菌自動検出システムと一緒に使用することで、増菌された鶏のと体洗浄液および生の鶏ひき肉検体における*サルモネラ*の迅速な定量化を行います。Neogen® 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査キットおよびモデル アプリケーションは、Neogen® 病原菌自動検出システム ソフトウェアからアクセス可能です。Neogen® 病原菌自動検出システムソフトウェアで得られた結果の出力は、鶏のと体洗浄液および生の鶏ひき肉マトリックス中の*サルモネラ*量を評価するために使用されます。

アッセイは、ループ介在等温増幅法を使用して、高い特異性と感度で核酸配列を迅速に増幅させ、生物発光と組み合わせることで増幅を検出します。推定陽性結果は、リアルタイムで報告されます。検出限界を下回る結果は、アッセイ完了後に陰性として表示されます。推定陽性結果は、好ましい方法または地域の規制に従って確認する必要があります [1, 2, 3]。

Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査は、検査室技術のトレーニングを受けた専門家が検査室環境内で使用することを目的としています。Neogen は、食品または飲料以外の業界向けにはこの製品の使用を文書化していません。たとえば、Neogen は、医薬品、化粧品、臨床または獣医検体の検査用にこの製品を文書化していません。Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査は、考えられるすべての食品、食品プロセス、検査プロトコル、または考えられるすべての細菌株を使用して評価されたわけではありません。増菌培地の供給源、配合、品質が結果に影響を与える可能性があります。これは、すべての試験方法に共通する注意事項です。サンプリング方法、検査プロトコル、検体の準備、取り扱い、検査室技術などの要因も結果に影響を与える可能性があります。Neogen は、試験方法がユーザーの基準を満たしていることを確認するために、特定の食品および微生物課題を伴う十分な数の検体を使用して、ユーザーの増菌で濃縮培地を含む試験方法を評価することを推奨します。

Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査は、Neogen® 緩衝ペプトン水 (BPW)、Neogen® 中和緩衝ペプトン水 (nBPW)、Neogen 定量迅速増菌粉末培地 (QRED500) を使用して評価されています。

Neogen 病原菌検出装置には、アッセイのライシス ステップ中に熱処理を行った検体が用いられることになっています。熱処理は、検体中に存在する微生物を分解するために行われます。

アッセイのライシス ステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードとみなされる場合があるので、Neogen 病原菌検出装置内には入れないでください。

Neogen 食品衛生部門は、設計および製造において ISO (国際標準化機構) 9001 の認証を取得しています。

Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査キットには、表 1 に示す 96 の検査が含まれています。

表 1. キットのコンポーネント

項目	特徴	数量	内容	コメント
ライシス溶液 (LS) チューブ	透明なチューブに入ったピンク色の溶液	96 (チューブ 8 本のストリップ 12 本)	チューブ 1 本につき LS は 580 µL	ラック入り、調製済み
*サルモネラ*定量検査試薬チューブ	緑のチューブ	96 (チューブ 8 本のストリップ 12 本)	凍結乾燥された特定の増幅および検出ミックス	調製済み
予備のキャップ	緑のキャップ	96 (キャップ 8 個のストリップ 12 本)		調製済み
試薬コントロール (RC)	透明なフリップトップチューブ	16 (8 本の個々のチューブが入ったパウチ 2 個)	凍結乾燥されたコントロール DNA、増幅および検出ミックス	調製済み

陰性コントロール (キットには含まれていない) は、BPW、nBPW、QRED500 など滅菌済み増菌培地です。水を陰性 コントロールとして使用しないでください。

安全性

ユーザーは説明書に記載されている Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査のすべての安全情報を読み、理解し、従う必要があります。安全上の注意は、後で参照できるように保管しておいてください。

⚠ **警告:**	回避しないと死亡または重傷および/または物的損害につながる可能性のある危険な状況を示します。
⚠ **注意:**	回避しないと軽度または中等度の傷害および/または物的損害につながる可能性のある危険な状況を示します。
注記:	回避しないと物的損害につながる可能性のある潜在的に危険な状況を示します。

⚠警告

Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査プロトコルには中断ポイントはありません。検体は、増菌後に完全に分析されなければなりません (表 2 のプロトコル参照)。

Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査は、ヒトまたは動物の状態の診断に使用しないでください。

ユーザーは、最新の適切な試験技術について担当者を訓練する必要があります(例: Good Laboratory Practices、ISO/IEC 17025[4]、または ISO 7218 [5]。

汚染された製品の放出につながる検出限界を下回る結果に関連するリスクを軽減する方法:

- Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査アッセイの LOQ を下回る結果を、*サルモネラ*陰性の結果として解釈しないでください。 LOQ を下回る結果は、 *サルモネラ*が完全に存在しないことを示すものではなく、 *サルモネラ*が存在する場合、その濃度がこの方法の LOQ を下回っていることを示しているに過ぎません。
- プロトコルに従い、製品の説明書に記載されているとおりに正確に検査を行ってください。
- 常に校正済みのマイクロ ピペットを使用してください。
- Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査は、社内または第三者によって検証された食品について使用してください。

- Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査は、パッケージや製品の説明書に記載されている方法で保管してください。
- Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査は、必ず有効期限までに使用してください。
- Neogen® 病原菌検出アッセイ 2 - *サルモネラ属菌用* (MDA2SAL96) **定性**アッセイでは、本製品の説明書に記載されている検体増菌液を使用しないでください。本製品の説明書に含まれる増菌培地は、本**定量**アッセイのために特別に開発されたものです。

化学物質やバイオハザードへの曝露に関連するリスクを軽減する方法:

- 適切な設備のある検査室で、訓練を受けた担当者の管理の下、病原体検査を実施してください。培養濃縮培地、および培養濃縮培地と接触した機器または表面には、人間の健康に被害を引き起こすのに十分なレベルの病原体が含まれている可能性があります。
- この手順では、所定のレベルを上回っている病原性微生物および/またはその代謝産物を使用/検出します。感染の可能性のあるエアロゾルの摂取や吸入、または皮膚との接触を避けるように注意してください。試薬や汚染された検体を扱う際は、適切な保護服や目の保護具を着用するなど、検査室の標準的な安全慣行に従ってください。
- 増幅後は、増菌培地や試薬チューブの中身に触れることを避けてください。
- 増菌された検体は、現地/地域/国/業界の基準に従って廃棄してください。
- アッセイのライシス ステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードとみなされる場合があるので、 Neogen 病原菌検出装置内には入れないでください。
- アッセイの準備中の二次汚染に関連するリスクを軽減する方法:
- 常に手袋を着用してください (ユーザーを保護し、ヌクレアーゼの混入を防ぐため)。

環境汚染に関連するリスクを軽減する方法:

汚染された廃棄物の処分に関する現行の業界標準に従ってください。

⚠注意

高温の液体への曝露に関連するリスクを軽減する方法:

- ヒーターの設定は推奨温度を超えないようにしてください。
- 推奨加熱時間を超えないようにしてください。

適切な校正済みの温度計 (例: 全浸漬温度計ではなく、部分浸漬温度計またはデジタル熱電対温度計) を使用して Neogen® 病原菌検出ヒートブロックインサートの温度を確認してください。温度計は、Neogen 病原菌検出ヒートブロック インサートの指定された場所に配置する必要があります。

注記

アッセイ準備中の二次汚染に関連するリスクを軽減するには、次の手順に従ってください。

- 試薬ペレットの水和の前に手袋を交換してください。
- 滅菌済み、エアロゾルバリア (フィルタ付き)、分子生物学グレードのピペットチップの使用を推奨。
- 検体を移すたびに新しいピペットチップを使用する。
- 遠心分離の処理ステップでは Good Laboratory Practices を実践して、検体を増菌液からライシスチューブに移してください。ピペッターの汚染を避けるため、ユーザーは中間移送ステップを追加することを選択できます。たとえば、ユーザーは増菌検体を 1 つずつ滅菌チューブに移すことができます。

- 利用可能な場合は、殺菌灯を備えた分子生物学ワークステーションを使用してください。検査台と器具 (ピペット、キャップ/デキャップ ツールなど) の汚染を 1〜5% (v:v) の家庭用漂白剤または DNA 除去溶液で定期的に除去してください。

偽陰性の結果に関連するリスクを軽減する方法:

- 増幅後はチューブを開けてはなりません。
- 汚染されたチューブは必ず 1〜5% (v:v) の家庭用漂白剤溶液に 1 時間浸して、アッセイ準備エリアから離れた場所に廃棄してください。
- 増幅後は試薬チューブをオートクレーブしないでください。
- 常に校正済みのマイクロ ピペットを使用してください。

追加情報および廃棄に関する地域の規制については、安全データシートを参照してください。

特定の用途や手順についてのご不明な点は、当社ウェブサイト (neogen.com) をご覧いただくか、最寄りの Neogen の販売担当者または取り扱い販売店までお問い合わせください。

ユーザーの責任

お客様には、製品説明書および製品情報を熟知していただく責任があります。詳しくは当社ウェブサイト (neogen.com) をご覧いただくか、最寄りの Neogen の担当者または正規販売代理店にお問い合わせください。

試験方法を選択する際には、サンプリング方法、検査プロトコル、検体の準備、取り扱い、実験室技術、検体自体などの外的要因が結果に影響を与える可能性があることを認識することが重要です。

選択した試験方法が基準を満たすことを確認するために、適切なマトリックスと微生物の課題で十分な数の検体を評価することは、任意の試験方法または製品を選択する際のユーザーの責任です。

また、試験方法と結果が顧客とサプライヤーの要件を満たしているかどうかを判断するのもユーザーの責任です。

すべての試験方法に共通の注意事項として、Neogen 食品衛生管理製品を使用して得られた結果は、検査したマトリックスまたはプロセスの品質を保証するものではありません。

お客様がさまざまな食品マトリックスの方法を評価できるように、Neogen は Neogen® 病原菌検出マトリックス コントロール キットを開発しました。必要に応じて、マトリックス コントロール (MC) を使用して、マトリックスが Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌ラ*定量検査の結果に影響を与える可能性があるかどうかを判断します。Neogen の方法を採用する場合、新規または未知のマトリックス、または原材料やプロセスが変更されたマトリックスを検査する場合は、バリデーション期間中に、マトリックスの代表的な検体、つまり出所の異なる検体を複数検査します。

マトリックスは、組成やプロセスなどの固有の特性を持つ製品のタイプとして定義できます。マトリックスの違いは、たとえば、生と低温殺菌の違い、生と乾燥の違いなど、処理や表示方法の違いによる単純な影響に起因することがあります。

保証の制限/限定的な救済

個々の製品パッケージの限定保証セクションに明示的に記載されている場合を除き、Neogen は、商品性または特定の用途への適合性の保証を含み、かつこれに限定されない、すべての明示的および黙示的な保証を否認します。Neogen 食品衛生管理製品に欠陥がある場合、Neogen またはその正規代理店は、その選択により、製品を交換するか、購入代金を返金します。これ以外の救済策はありません。製品の欠陥が疑われる場合は、発見から 60 日以内に速やかに Neogen に連絡して、製品を Neogen に返却してください。ご不明な点がございましたら、Neogen 食品衛生部門の担当者または正規代理店にお問い合わせください。

Neogen の責任の制限

Neogen は、直接的、間接的、特別、偶発的、結果的損害の別を問わず、逸失利益を含み、かつこれに限定されない、いかなる損失または損害についても責任を負いません。いかなる場合も、いかなる法理論の下でも、Neogen の責任は、欠陥があると主張された製品の購入価格を超えることはありません。

保管と廃棄

Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査キットのコンポーネントは、2〜8 °C で保存してください。凍らせないでください。保管中はキットを光から遠ざけてください。キットを開封した後、ホイル パウチに損傷がないことを確認してください。パウチが破損している場合は使用しないでください。開封後は、凍結乾燥試薬の安定性を維持するために、未使用の試薬チューブは必ず乾燥剤を入れた再密封可能なパウチに保管してください。再封したパウチを保管できるのは 2〜8 °Cで 60 日間までです。有効期限を過ぎた Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査は、使用しないでください。有効期限とロット番号は、箱の外側のラベルに記載されています。使用後の Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ*定量検査のチューブには病原性物質が含まれている可能性があります。検査が完了したら、汚染廃棄物の処分に関する地域の規制に従ってください。詳細については、安全性データ シートを参照してください。

使用説明書

すべての指示に注意深く従ってください。従っていない場合、結果が不正確になる可能性があります。

検査台と器具 (ピペット、キャップ/デキャップ ツールなど) の汚染を 1〜5% (v:v) の家庭用漂白剤または DNA 除去溶液で定期的に除去してください。

ユーザーは、「Neogen 病原菌自動検出システムの設置適格性 (IQ)/実施適格性 (OQ) プロトコルと手順」文書 [6] に記載されている Neogen 病原菌自動検出システムオペレーター資格 (OQ) トレーニングを修了する必要があります。

具体的な要件については、「検証された方法に関する具体的な指示」のセクションをご参照ください。

鶏/七面鳥の生ひき肉における *サルモネラ*の定量化

1. 生の鶏または七面鳥のひき肉 325 g を計量し、滅菌バッグに入れます。
2. 緩衝ペプトン水 (BPW) 400 mL を加えます。
3. 180 rpm で 1 分間、ストマッキング処理をおこない、完全に均質化します。
4. 生の鶏または七面鳥のひき肉の懸濁液 30 mL をサンプルバッグに移します。
5. あらかじめ、42 °C に温められた Neogen 定量迅速増菌粉末培地 (QRED500) を 30 mL 加えます (定量迅速増菌粉末培地技術仕様書を参照)[7]。これを「サンプル」と呼びます。
6. 「サンプル」を表 2 の増菌条件に従って培養します。
7. 増菌後、インキュベーターからサンプルを取り出し、よく混合します。
8. 混合した直後に、サンプル 1.5 mL を底が円錐形の 2 mL 微量遠心管に分注します。
9. 7,000 x g のミニ遠心分離機で 5 分間遠心分離し、微粒子をペレット化します。
10. ペレットを乱さないように、上清を慎重に捨てます。遠心管をそっと反転させ、ペーパータオルに軽くたたいて、残っている余分な上清を取り除きます。
11. ペレットを 300 µL の QRED500 に再懸濁します。
12. ペレットが QRED500 に完全に再懸濁されるまで攪拌します。
13. 再懸濁したペレットサンプル 50 µL (12 より) を Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ*定量検査で分析します。

鶏のと体洗浄液における*サルモネラ*の定量化

1. 鶏のと体 1 体を、滅菌された家禽洗浄バッグに入れます。
2. 400 mL の Neogen 中和緩衝ペプトン水 (nBPW)、または緩衝ペプトン水 (BPW) を鶏の消化管から加えます (表 2 を参照)。
3. 中身を 1 分間混ぜ、と体をすすぎます。
4. 洗浄水 30 mL をサンプルバッグに移します。
5. あらかじめ、42 °C に温められた Neogen 定量迅速増菌粉末培地 (QRED500) を 30 mL 加えます (定量迅速増菌粉末培地技術仕様書を参照)(6)。これを「サンプル」と呼びます。
6. サンプルを表 2 の増菌条件に従って培養します。
7. 増菌後、インキュベーターからサンプルを取り出し、よく混合します。
8. 混合した直後に、サンプル 1.5 mL を底が円錐形の 2 mL 微量遠心管に分注します。
9. 5,000 x g のミニ遠心分離機で 5 分間遠心分離し、微粒子をペレット化します。
10. ペレットを乱さないように、上清を慎重に捨てます。遠心管をそっと反転させ、ペーパータオルを軽くたたいて、残っている余分な上清を取り除きます。
11. ペレットを 100 µL (マイクロリットル) の QRED500 に再懸濁します。
12. ペレットが QRED500 に完全に再懸濁されるまで攪拌します。
13. 再懸濁したペレットサンプル 50 µL (12 より) を Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査で分析します。

表 2 は、鶏のと体洗浄液と生の鶏ひき肉検体の一般的な増菌プロトコルのガイダンスを示しています。この試験方法がユーザーの基準を満たしていることを確認するために、代替サンプリング プロトコルまたは希釈倍率を検証するのはユーザーの責任です。

表 2. 一般的な濃縮プロトコル

検体マトリックス	検体サイズ	均質化 (最初のステップ)	増菌	増菌温度	増菌時間	ペレット再懸濁	サンプル分析量[(a)]
鶏の生ひき肉	325 g	400 mL BPW	30 mL 懸濁液 + 30 mL QRED	42 ± 1 °C	6 時間	300 µL	50 µL
七面鳥の生ひき肉	325 g	400 mL BPW	30 mL 懸濁液 + 30 mL QRED	42 ± 1 °C	5 時間	300 µL	50 µL
鶏のと体洗浄液	30 mL	400 mL nBPW	30 mL nBPW 洗浄液 + 30 mL QRED	42 ± 1 °C	6 時間	100 µL	50 µL
鶏のと体洗浄液	30 mL	400 mL BPW	30 mL BPW 洗浄 + 30 mL QRED	42 ± 1 °C	5 時間	100 µL	50 µL

(a) ライシスチューブに移されたサンプルの量。ライシスセクションのステップ 4.5 を参照。

Neogen® 病原菌検出スピード ローダー トレイの準備

1. 布または使い捨てタオルを 1〜5% (v:v) の家庭用漂白剤溶液で濡らし、Neogen 病原菌検出スピード ローダー トレイを拭きます。
2. Neogen® 病原菌検出スピード ローダー トレイを水でゆすぎます。
3. 使い捨てタオルを使用して Neogen 病原菌検出スピード ローダー トレイを拭いて乾かします。
4. 使用する前に、Neogen® 病原菌検出スピード ローダー トレイが乾いていることを確認します。

Neogen® 病原菌検出チル ブロック インサートの準備

Neogen 病原菌検出チル ブロック インサートを実験台の上に直接置きます。ブロックは検査室の常温 (20〜25 °C) で使用してください。

Neogen® 病原菌検出ヒートブロック インサートの準備

Neogen® 病原菌検出ヒートブロック インサートをドライ ダブル ブロック ヒーター ユニットに置きます。ドライ ブロック ヒーター ユニットの電源を入れ、Neogen 病原菌検出熱ブロック インサートが 100 ± 1 ° Cの温度に達して維持されるように温度を設定します。

注: ヒーター ユニットにもよりますが、Neogen 病原菌検出ヒートブロック インサートが指定温度に達するまで、約 30 分待ちます。適切な校正済みの温度計 (例: 全浸漬温度計ではなく、部分浸漬温度計またはデジタル熱電対温度計) を指定場所に置いて使用して、Neogen 病原菌検出熱ブロック インサートの温度が 100 ± 1 °C であることを確認します。

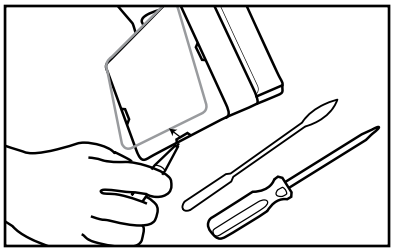
Neogen 病原菌検出装置の準備

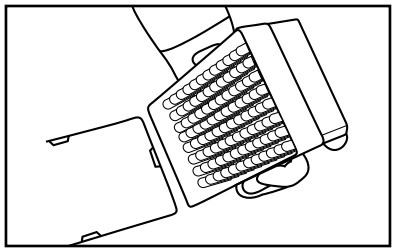
1. Neogen 病原菌検出ソフトウェアを起動し、ログインします。Neogen 食品衛生部門の担当者に連絡して、定量的アッセイを含む最新版のソフトウェアを使用していることを確認してください。
2. Neogen 病原菌検出装置の電源を入れます。
3. 各検体のデータを使用して、ランを作成または編集します。詳細については、Neogen 病原菌自動検出システム ユーザー マニュアルおよび MDA2QSAL96 ソフトウェア技術速報を参照してください。

注: Neogen 病原菌検出装置は、Neogen 病原菌検出スピード ローダー トレイを反応チューブと一緒に挿入する前に 60 °C の温度に達しており、その温度を維持している必要があります。この加熱ステップには約 20 分かかり、完了すると装置のステータス バーがオレンジ色に点灯します。装置でランを開始する準備が整うと、ステータス バーが緑色に変わります。

ライシス

1. Neogen 病原菌検出ヒート ブロック インサートに入れる前に、Neogen ライシス溶液 ラックの底をドライバーまたはヘラで取り外します。

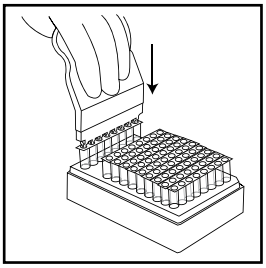
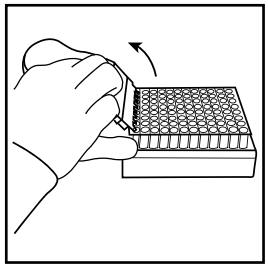
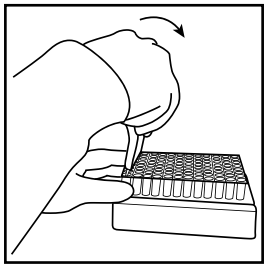
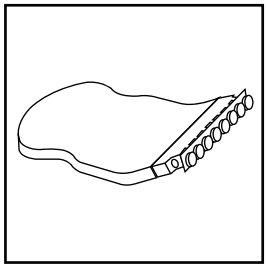
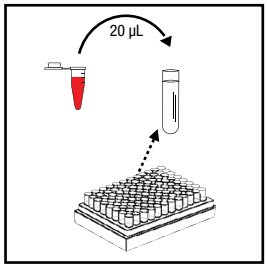




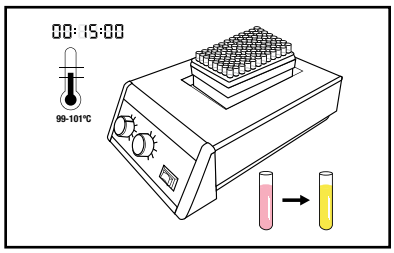
2. ラックを室温 (20〜25 °C) で一晩 (16〜18 時間) 置いて、ライシス溶液 (LS) チューブを温めます。LS チューブを室温と平衡化させるための別の方法として、実験台の上に 2 時間以上置いてから 37 ± 1 °C のインキュベーターで 1 時間培養するか、チューブをドライ ダブルブロック ヒーターに 100 °C で 30 秒間入れることもできます。
3. キャップ付きのチューブを転倒混和します。4 時間以内に次のステップに進んでください。
4. 検体 1 件および陰性 コントロール (NC) 検体 (滅菌増菌培地) 1 件あたり、LS チューブが 1 本必要です。
   4.1 LS チューブ ストリップは、必要とする LS チューブ数に合わせて切断できます。LS チューブの本数を個々で選ぶか、必要な 8 チューブ ストリップ数を選びます。LS チューブを空のラックに入れます。
   4.2 Neogen® 病原菌検出キャップ/デキャップ ツール – ライシス を使用すると、LS チューブ ストリップのキャップを 1 ストリップずつ外すことができます。
   4.3 二次汚染を避けるため、LS チューブ ストリップのキャップは一度に 1 ストリップずつ外し、移し替えステップごとに新しいピペット チップを使用してください。
   4.4 LS チューブキャップを廃棄します。
   4.5 再懸濁したペレット サンプル 50 µL を LS チューブに移します。

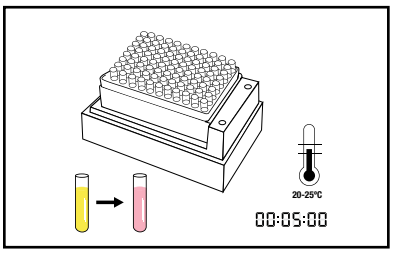
最初に、再懸濁した各ペレット サンプル **50 µL** を個々の LS チューブに移します。NC は**最後に**移し替えてください。

5. 個々の検体がストリップ内の対応する LS チューブに添加されるまで、ステップ 2 から 5 を繰り返します。

6. 必要に応じて、検査する検体の件数分だけステップ 1〜5 を繰り返します。
7. すべてのサンプルを移し終えたら、50 µL の NC (滅菌 QRED500) を LS チューブに移します。水を NC として使用しないでください。
8. Neogen 病原菌検出熱ブロック インサートの温度が、100 ± 1 °C であることを確認します。
9. 覆われていない LS チューブのラックを Neogen 病原菌検出熱ブロック インサートに置き、15 ± 1 分間加熱します。加熱中、LS 溶液はピンク色 (低温) から黄色 (高温) に変化します。
   アッセイのライシス ステップ中に適切な熱処理を行っていない検体は、潜在的バイオハザードとみなされる場合があるので、Neogen 病原菌検出装置内には入れないでください。
10. 覆われていない LS チューブのラックを加熱ブロックから取り出し、Neogen 病原菌検出チル ブロック インサートで少なくとも 5 分間、最長 10 分間冷却します。Neogen 病原菌検出チル ブロック インサートは、Neogen 病原菌検出チル ブロック トレイなしで常温で使用し、実験台に直接置く必要があります。冷えると、ライシス液はピンク色に戻ります。
11. LS チューブのラックを Neogen 病原菌検出チル ブロック インサートから取り出します。



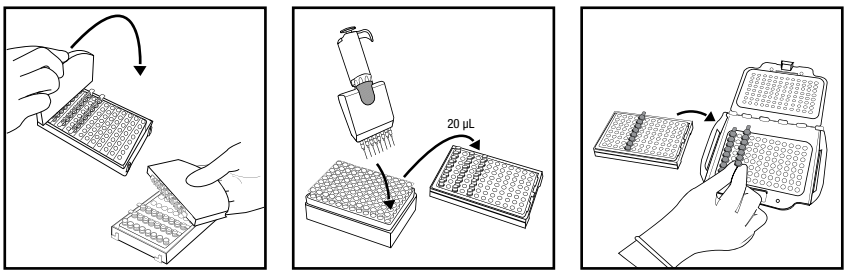


増幅

1. Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ*定量検査は、各サンプルと NC に 1 つ必要です。
   1.1 試薬チューブ ストリップは、必要なチューブ数に合わせて切断できます。個々の試薬チューブの本数を選ぶか、必要な 8 チューブ ストリップ数を選びます。
   1.2 試薬チューブを空のラックに入れます。
   1.3 チューブの底にある試薬ペレットをかき乱さないでください。
2 試薬コントロール (RC) チューブを 1 本選び、ラックに入れます。
3. 二次汚染を避けるため、試薬チューブ ストリップのキャップは一度に 1 ストリップずつ外し、移し替えステップごとに新しいピペット チップを使用してください。
4. 以下の説明のように、各ライシス液を移します。

各検体溶菌液 20 µL を個々の試薬チューブに移し、その後、NC に移します。最後に RC チューブを水和させます。

5. Neogen 病原菌検出キャップ/デキャップ ツール – 試薬を使用して、Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査試薬チューブのキャップを外します。チューブ ストリップは 1 ストリップずつ作業してください。キャップは廃棄します。
   5.1 20 µL の検体溶菌液を Neogen ライシス液チューブの上清 1/2 (沈殿物を避ける) から、対応する試薬チューブに移し替えます。ペレットを乱さないように、斜めに注いでください。上下にピペットで 5 回移して、優しく混和します。
   5.2 すべての検体溶菌液が、ストリップ内の対応する Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査試薬チューブに添加されるまで、ステップ 5.1 を繰り返します。
   5.3 Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査試薬チューブを付属の追加キャップで覆い、Neogen 病原菌検出キャップ/デキャップ ツール – 試薬の丸い側面を使用して圧力を前後にかけ、キャップがしっかり閉まっていることを確認します。
   5.4 必要に応じて、検査する検体の件数分だけステップ 5.1〜5.3 を繰り返します。
   5.5 すべての検体ライシス液を移行したら、キャップをした試薬チューブを 2 秒間攪拌して混合し、ミニ遠心分離機で 10 秒間回してすべての液体がチューブの底にあることを確認します。
   5.6 20 µL の NC 溶菌液を Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査試薬チューブに、また、20 µL の NC ライシス液を RC チューブに移します。ペレットを乱さないように、斜めに注いでください。上下にピペットで 5 回移して、優しく混和します。
6. キャップを付けたチューブを清潔で除染された Neogen 病原菌検出スピード ローダー トレイに載せます。Neogen 病原菌検出スピード ローダー トレイの蓋を閉め、掛け金を下ろします。



7. 構成済みのランを Neogen 病原菌検出ソフトウェア定量アッセイでレビューして確定します。
8. ソフトウェアの [Start (開始)] ボタンをクリックし、使用する装置を選択します。選択した装置の蓋が自動的に開きます。
9. Neogen 病原菌検出スピード ローダー トレイを Neogen 病原菌検出装置に置き、蓋を閉めてアッセイを開始します。結果は 60 分以内に提示されますが、陽性はそれより早く検出される可能性があります。

10. アッセイ完了後、Neogen 病原菌検出スピード ローダー トレイを Neogen 病原菌検出装置から取り出し、チューブを 1〜5% (v:v) の家庭用漂白剤溶液に 1 時間浸して、アッセイ準備エリアから離れた場所に廃棄します。

注記:二次汚染による偽陽性のリスクを最小限に抑えるために、増幅された DNA を入れた試薬チューブは絶対に開けないでください。これには Neogen 病原菌検出アッセイ 2Q – *サルモネラ属菌*定量検査試薬、Neogen 試薬コントロール、および Neogen マトリックス コントロール チューブが含まれます。密封された試薬チューブは必ず 1〜5% (v:v) の家庭用漂白剤溶液に 1 時間浸して、アッセイ準備エリアから離れた場所に廃棄してください。

結果および解釈

結果は、ソフトウェアによる固有の曲線パラメータの分析によって決定されます。

参考文献:

1. US Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. Chapter 5: *Salmonella*, September 2023 Version.
2. US Department of Agriculture (USDA) FSIS Microbiology Laboratory Guidebook 4.14. Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, Carcass, and Environmental Sponges. Effective Date: 05 June 2023.
3. ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuff – General rules for microbiological examination.
6. Neogen 設置適格性 (IQ)/実施適格性 (OQ) プロトコルと Neogen 病原菌自動検出システムの説明書。
7. Neogen 定量迅速増菌粉末培地 (QRED500) 技術仕様書。

記号の説明

info.neogen.com/symbols

Neogen 食品衛生部門

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

NEOGEN Corporation, 620 Lesher Place, Lansing, MI 48912 USA.
© NEOGEN Corporation 2024. All rights reserved.Neogen は、Neogen Corporation の登録商標です。特許:neogen.com/patents.

NEOGEN

产品说明

Neogen分子检测分析 2Q - 定量 *沙门氏菌* 筛选试剂盒

产品说明和预期用途

Neogen® 分子检测分析2Q - 定量 *沙门氏菌*（MDA2QSAL96）试剂盒与Neogen® 定量快速富集脱水介质（QRED500）和Neogen® 分子检测系统一起使用，用于对鸡胴体冲洗液和生碎禽肉样品中的*沙门氏菌*进行 快速量化 。Neogen®分子检测分析2Q – 定量 *沙门氏菌* 试剂盒和通过Neogen®分子检测系统软件访问的模型应用程序。Neogen®分子检测系统软件中获得的结果输出用于评估鸡胴体冲洗液和生碎禽肉基质中的*沙门氏菌*的数量。

该分析利用环介导等温扩增技术以高特异性和灵敏度快速扩增核酸序列，并结合生物发光以检测扩增。实时报告推定阳性结果。分析完成后，低于检测限的结果将显示为阴性。应使用您优选的方法或按照当地法规[1, 2, 3]的规定对推定阳性结果进行确认。

Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*旨在由经过实验室技术培训的专业人员在实验室环境中使用。Neogen 尚未记录该产品在食品或饮料以外的行业中的使用情况。例如，Neogen没有记录该产品用于测试药品、化妆品、临床或兽医样本。Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*尚未针对所有可能的食品产品、工艺、测试方案或所有可能的细菌菌株进行评估。与所有测试方法一样，富集培养基的来源、配方和质量都可能影响结果。采样方法、测试方案、样品制备、处理和实验室技术等因素也可能影响结果。Neogen建议在使用者的环境中使用足够数量的具有特定食品和微生物挑战的样品来评估包括富集培养基在内的方法，以确保该方法符合使用者的标准。

Neogen已用Neogen® 缓冲蛋白胨水（BPW）、Neogen®中和缓冲蛋白胨水（nBPW）以及纽勤定量快速富集脱水培养基（QRED500）评估了Neogen分子检测分析2Q–定量*沙门氏菌*。

Neogen 分子检测仪器适合检测在分析裂解步骤（该步骤旨在破坏样本中存在的生物体）中经过热处理的样本。

在分析裂解步骤中未经适当热处理的样本可能被视为潜在的生物危害，不得将其插入 Neogen 分子检测仪器。

Neogen Food Safety 已通过 ISO(国际标准化组织）9001 设计和制造认证。

Neogen分子检测分析2Q – 定量 *沙门氏菌* 测试试剂盒含有96个测试，描述在表1中。

表1.试剂盒组分

商品	性状	数量	内容物	备注
裂解溶液（LS）管	透明管中的粉红色溶液	96 管（12 联管，每联管 8 管）	每管580 mL的LS	插在管架上，即用型
定量*沙门氏菌*试剂管	绿色管	96 管（12 联管，每联管 8 管）	冻干特异性扩增和检测混合液	即用型
额外盖	绿色盖	96 只盖（12 联盖，每联盖 8 只盖）		即用型
试剂对照（RC）	透明翻盖管	16 管（2 袋，每袋 8 支单独管）	冻干的对照DNA、扩增和检测混合物	即用型

试剂盒中未提供的阴性对照是无菌富集培养基，例如BPW、nBPW或QRED500。请勿使用水作为阴性对照。

安全性

使用者应阅读、理解并遵循Neogen分子检测系统和Neogen分子检测分析 2Q – 定量*沙门氏菌*说明书中的所有安全信息。请留存安全说明以备将来参考。

⚠ **警告：**	表示危险情况，如果不避免，可能会导致死亡或重伤和/或财产损失。
⚠ **注意：**	表示危险情况，如果不避免，可能会导致轻伤或中伤和/或财产损失。
注意：	表示潜在的危险情况，如果不避免，可能会导致财产损失。

⚠ 警告

Neogen分子检测分析2Q – 定量 *沙门氏菌*方案没有中断点。在样品富集后必须对样品进行充分分析（参见表2中的方案）。

请勿将Neogen分子检测分析2Q – 定量 *沙门氏菌*用于诊断人类或动物的疾病。

用户必须对其人员就当前正确的测试技术进行培训：例如，药物非临床研究质量管理规范、ISO/IEC 17025[4] 或 ISO 7218[5]。

为降低与低于定量限（LOQ）结果而导致受污染产品释放的风险：

- 请勿将低于Neogen分子检测分析2Q - 定量 *沙门氏菌* 分析的 LOQ 的结果解释为阴性 *沙门氏菌* 结果。低于LOQ结果的结果并不表示*沙门氏菌*完全不存在，仅表示*沙门氏菌*（如果存在）的水平低于该方法的LOQ。
- 请遵循测试方案并严格按照产品说明中的规定进行测试。
- 始终使用经校准的微量移液器。
- 将Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*与已经过内部或第三方验证的食品一起使用。

- 按照包装上和产品说明中所示储存Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*。
- 始终在有效期之前使用Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*。
- 不在Neogen® 分子检测分析 2 –*沙门氏菌*（MDA2SAL96）**定性**分析中使用这些产品说明书中概述的样品富集。这些产品说明书中包含的富集是专门为这种**定量**分析而开发的。

为了降低接触化学品和生物危害带来的风险：

- 在经过培训的人员的控制下，在设备齐全的实验室中进行病原体测试。孵育后的富集培养基以及与孵育后的富集培养基接触的设备或表面可能含有足以对人体健康造成风险的病原体。
- 该程序使用/检测高于一定水平的病原微生物和/或其代谢产物。应注意避免摄入或吸入可能具有传染性的气溶胶或与皮肤接触。请务必遵循标准的实验室安全管理规范，包括在处理试剂和受污染样本时穿戴适当的防护服和护目镜。
- 扩增后，避免接触富集培养基和试剂管的内容物。
- 根据当前行业标准处理富集的样品。
- 在分析裂解步骤中未经适当热处理的样本可能被视为潜在的生物危害，不得将其插入 Neogen 分子检测仪器。
- 在准备分析时，为了降低交叉污染带来的风险：
- 始终戴手套（以保护使用者并防止核酸酶的引入）。

为了降低环境污染带来的风险：

遵循当前行业标准来处理受污染废物。

⚠ 注意

为了降低接触高温液体带来的风险：

- 请勿超过加热器上建议的温度设置。
- 请勿超过建议的加热时间。

使用适当的、经校准的温度计来验证Neogen®分子检测加热插块的温度（例如，部分浸入式温度计或数字热电偶温度计，而不是全浸入式温度计）。温度计必须放置在 Neogen 分子检测加热插块的指定位置。

注意

在准备分析时，为了降低交叉污染带来的风险：

- 在进行试剂小球水化之前更换手套。
- 建议使用带气溶胶屏障（经过滤处理）的分子生物学级无菌移液器吸头。
- 每次进行样品转移时，请使用新的移液器吸头。
- 在离心处理步骤期间以及将样品从富集转移到裂解管时使用良好实验室规范。为避免移液器污染，用户可以选择增加中间转移步骤。例如，用户可以将每个富集样品转移到无菌管中。
- 在可用的情况下，请使用带有杀菌灯的分子生物学工作站。使用1-5%（于水中 v:v）家用漂白溶液或DNA去除溶液定期净化 实验室工作台和设备（移液器、盖/开盖工具等）。

为了降低假阳性结果带来的风险：

- 切勿在扩增后将管打开。
- 始终通过将被污染的试管浸泡在1-5%（于水中 v:v）家用漂白溶液中1小时来处理这些试管，并远离分析准备区。
- 请勿在扩增后对试剂管进行高压灭菌。
- 始终使用经校准的微量移液器。

有关处置的附加信息和当地法规，请参阅化学品安全技术说明书。

如果您对特定应用或程序有疑问，请访问我们的网站neogen.com或联系您当地的Neogen代表或授权经销商。

用户责任

用户负责熟悉产品说明和信息。请访问我们的网站neogen.com，或联系您当地的Neogen代表或授权经销商以获取更多信息。

当选择测试方法时，重要的是要认识到外部因素（例如采样方法、测试方案、样品制备、处理、实验室技术和样品本身）都可能影响结果。

在选择任何测试方法或产品时，用户有责任对数量足够的样本进行评估，从而让用户确信所选的测试方法符合自己的标准，所用样本需具有适当的基质和微生物挑战。

用户也有责任确定任何测试方法和结果是否都符合客户和供应商的要求。

与任何测试方法一样，使用任何 Neogen Food Safety 产品获得的结果并不构成对所测试基质或工艺质量的保证。

为了帮助客户评估各种食品基质的方法，Neogen开发了Neogen®分子检测基质对照试剂盒。当需要时，使用基质对照（MC）来确定基质是否有能力影响Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*结果。在任何验证期内，当采用 Neogen 方法或测试新基质、未知基质或经历过原材料或工艺变化的基质时，请对基质的几个代表性样本（即从不同来源获得的样本）进行测试。

“基质”可以定义为一种具有固有性质（如成分和工艺）的产品。基质之间的差异可能简单到由其加工或呈现方式的差异引起的影响，例如，生的与巴氏杀菌的；新鲜的与干燥的，等等。

保证限制/有限补救措施

除个别产品包装的有限保证部分明确规定外，NEOGEN 否认所有明示和暗示保证，包括但不限于对适销性或特定用途适用性的任何保证。如果有任何 Neogen Food Safety 产品存在缺陷，Neogen 或其授权经销商将自行选择更换产品还是退还与产品的购买价格相等的费用。这些是您的专属补救措施。您必须在发现产品存在任何可疑缺陷后六十天内立即通知 Neogen，并将其退回给 Neogen。如有任何其他疑问，请联系您的 Neogen Food Safety 代表或 Neogen 授权经销商。

Neogen 责任限制

对于任何损失或损害，无论是直接损害、间接损害、特殊损害、附带损害还是后果性损害，包括但不限于利润损失，NEOGEN 概不负责。在任何情况下，Neogen 在任何法律理论下的责任均不得超过被指控有缺陷的产品的购买价格。

储存与处置

在2–8°C下储存Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*试剂盒组分。请勿冷冻贮藏。在储存期间，保持试剂盒远离光照。打开试剂盒后，请检查铝箔袋是否完好无损。如果袋子损坏，请勿使用。打开后，未使用的试剂管应始终存放在可重复密封的袋子中，袋子内应装有干燥剂，以保持冻干试剂的稳定性。请将重新密封的袋子在 2–8°C 下储存，最长不超过 60 天。请勿使用过期的Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*。有效期和批号标注在包装盒的外标签上。使用后，富集培养基和Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*管可能会含有致病物质。测试完成后，请遵循当地有关处理受污染废物的法规。请参阅安全数据表以获取更多信息。

使用说明

请仔细遵循所有说明。否则可能会导致结果不准确。

使用1-5%(于水中 v:v) 家用漂白溶液或DNA去除溶液定期净化实验室工作台和设备（移液器、盖/开盖工具等）。

使用者应完成Neogen分子检测系统操作员资格（OQ）培训，如在“Neogen分子检测系统的安装资格（IQ） / 操作资格（OQ）方案和说明书”文件[6]中所述。

有关具体要求，请参见“验证方法的具体说明”一节：

生碎鸡肉/火鸡肉中*沙门氏菌*的定量

1. 称量325 g的生碎鸡肉或火鸡肉，并放入无菌袋中
2. 添加400 mL的缓冲蛋白胨水（BPW）。
3. 通过在180 rpm下进行拍打式均质处理1分钟彻底均质化。
4. 将30 mL的生碎鸡肉或火鸡肉匀浆转移到样品袋中。
5. 添加30 mL的已预热至 42°C的Neogen定量快速富集脱水培养基（QRED500）（参考定量快速富集脱水培养基技术规格表）[7]。这被称为“样品”。
6. 按照表 2 中的富集条件孵育“样品”。
7. 富集后，从培养箱中取出样品并充分混合。
8. 混合后，立即将1.5 mL的 样品分装到2 mL锥形底微量离心管中。
9. 在微型离心机中以 7,000 x g 的速度离心5分钟，以使微粒沉淀。
10. 小心地弃掉上清液，不要扰动沉淀。轻轻地倒置管并在纸巾上轻拍以去除任何剩余的多余上清液。
11. 将沉淀重悬于300 µL的QRED500中。
12. 涡旋直至沉淀完全重悬于QRED500中。
13. 用Neogen分子检测分析2Q - 定量*沙门氏菌*分析 50 µL的重悬沉淀样品（来自 12）。

鸡胴体冲洗液中*沙门氏菌的*定量

1. 将一只鸡胴体放入无菌家禽冲洗袋中。
2. 通过鸡肠道添加400 mL的Neogen中和缓冲蛋白胨水（nBPW）或缓冲蛋白胨水（BPW）（参见表 2）。
3. 将内容物混合1分钟以冲洗胴体。
4. 将30 mL的冲洗液转移到样品袋中。
5. 添加30 mL的已预热至42°C的Neogen定量快速富集脱水培养基（QRED500）（参考定量快速富集脱水培养基技术规格表）（6）。这被称为“样品”。
6. 按照表2中的富集条件孵育样品。
7. 富集后，从培养箱中取出样品并充分混合。
8. 混合后，立即将1.5 mL的 样品分装到2 mL锥形底微量离心管中。
9. 在微型离心机中以 5,000 x g 的速度离心5分钟，以使微粒沉淀。
10. 小心地弃掉上清液，不要扰动沉淀。轻轻地倒置管并在纸巾上轻拍以去除任何剩余的多余上清液。
11. 将沉淀重悬于100 µL（微升）的QRED500中。
12. 涡旋直至沉淀完全重悬于QRED500中。
13. 用Neogen分子检测分析2Q - 定量*沙门氏菌*分析50 µL的重悬沉淀样品（来自12）。

表2展示了鸡胴体冲洗液和生碎家禽样品的一般富集方案指导。用户有责任对备用取样方案或稀释率进行验证，以确保该测试方法符合用户的标准。

表2.一般富集方案

样本基质	样本量	均质化（第一步骤）	富集	富集温度	富集时间	沉淀重悬	样品分析体积[(a)]
生碎鸡肉	325 g	400 mL BPW	30 mL 匀浆 + 30 mL QRED	42 ± 1°C	6小时	300 µL	50 µL
生碎火鸡肉	325 g	400 mL BPW	30 mL匀浆 + 30 mL QRED	42 ± 1°C	5小时	300 µL	50 µL
鸡胴体冲洗液	30 mL	400 mL nBPW	30 mL nBPW冲洗液 + 30 mL QRED	42 ± 1°C	6小时	100 µL	50 µL
鸡胴体冲洗液	30 mL	400 mL BPW	30 mL BPW冲洗液 + 30 mL QRED	42 ± 1°C	5小时	100 µL	50 µL

(a) 转移到裂解溶液管的样品体积。参考裂解部分的步骤4.5。

准备 Neogen® 分子检测快速装载托盘

1. 用1-5%(于水中 v:v) 家用漂白溶液浸湿布或一次性毛巾，并且擦拭Neogen分子检测快速装载托盘。
2. 用水冲洗 Neogen 分子检测快速装载托盘。
3. 使用一次性毛巾将 Neogen 分子检测快速装载托盘擦干。
4. 使用前，请确保 Neogen 分子检测快速装载托盘处于干燥状态。

准备 Neogen® 分子检测冷却插块

将Neogen分子检测冷却插块直接放置在实验室工作台上。在实验室环境温度（20–25°C）下使用该块。

准备 Neogen® 分子检测加热插块

将 Neogen 分子检测加热插块放入干燥的双插块加热器中。打开干燥的插块加热器并设置温度，使 Neogen 分子检测加热插块达到 100 ± 1°C 的温度并保持在该水平。

注意：根据加热器的不同，Neogen 分子检测加热插块需要大约 30 分钟才能达到所需温度。请使用适当的温度计（例如，可使用部分浸入式温度计、数字热电偶温度计，勿使用全浸入式温度计）来验证 Neogen 分子检测加热插块的温度是否为 100 ± 1°C，验证时需对温度计进行预先校准并放置在指定位置。

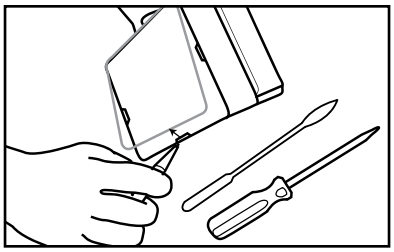
准备 Neogen 分子检测仪器

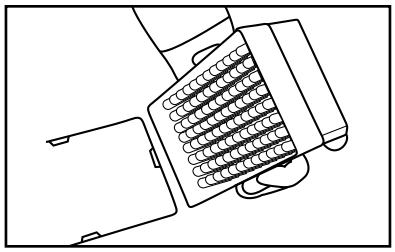
1. 启动Neogen Molecular Detection Software Detection Assays并登录。联系您的Neogen食品安全代表，以确保您拥有包含定量分析的最新版本的软件。
2. 打开Neogen分子检测仪器。
3. 使用每个样品的数据创建或编辑运行。有关详细信息，请参考Neogen分子检测系统使用者手册和MDA2QSAL96软件技术公告。

注意：在插入带有反应管的Neogen分子检测快速装载托盘之前，Neogen分子检测仪器必须达到并保持60°C的温度。大约需要20 分钟才能完成该加热步骤，仪器状态栏上的橙色指示灯亮起时即表示处于加热状态。当仪器准备就绪可以开始运行时，状态栏将变为绿色。

裂解

1. 使用螺丝刀或抹刀取下Neogen裂解溶液架的底部，然后将其放入Neogen分子检测加热插块中。

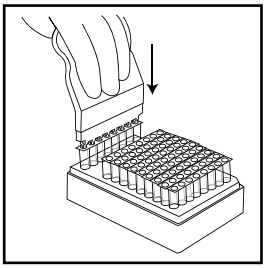
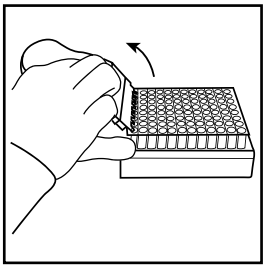
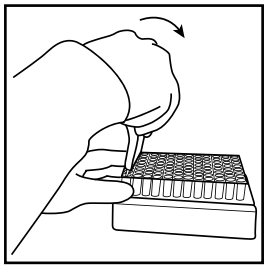
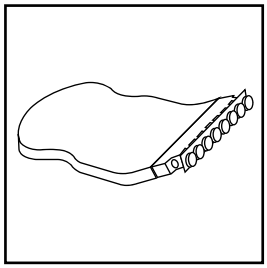
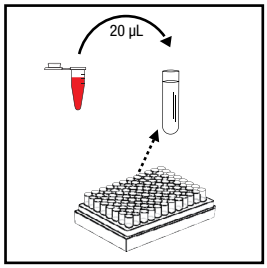




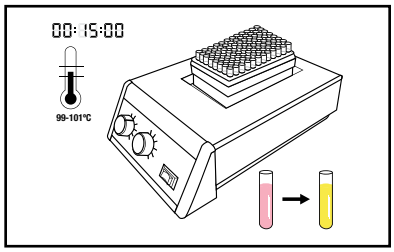
2. 通过将架子放在室温（20-25°C）下过夜（16-18 小时），以使裂解溶液（LS）管预热。将LS管平衡至室温的替代方法是将LS管放在实验室工作台上至少2小时，在 37 ±1°C 的培养箱中孵育 1 小时，或将它们放在干式双块加热器中在 100°C 下持续 30 秒。
3. 倒置加盖的试管进行混合。在4小时内进行下一步。
4. 每个样品和阴性对照（NC）样品（无菌富集培养基）需要一个LS管。
   4.1 LS管条可以切割成所需的LS管数量。选择所需的单个LS管或8-管条的数量。将LS管放在空架子上。
   4.2 使用Neogen® 分子检测盖/开盖工具-裂解将LS管条开盖。
   4.3 为了避免交叉污染，请一次打开一个LS管条，并在每个转移步骤中使用新的移液器吸头。
   4.4 丢弃LS管盖。
   4.5 将50 µL重悬沉淀样品转移到LS管中。

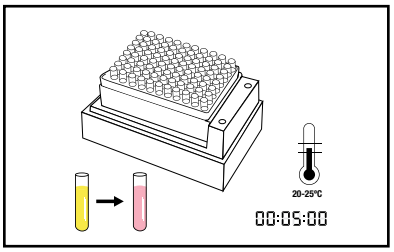
首先将每份重悬沉淀样品中的**50 µL**转移到单独的LS管中。**最后** 转移NC。

5. 重复步骤2至5，直到每个单独的样品都被添加到条中相应的LS管中。

6. 根据需要，重复步骤 1 至 5，以获得所需数量的待测试样品。
7. 当所有样品都已转移后，将50 µL的NC(无菌QRED500）转移到LS管中。请勿使用水作为 NC。
8. 请验证 Neogen 分子检测加热插块的温度是否为 100 ± 1°C。
9. 将未盖住的LS管架放入Neogen分子检测加热插块中，并加热15 ±1 分钟。在加热期间，LS溶液会从粉红色（冷）变为黄色（热）。在分析裂解步骤中未经适当热处理的样本可能被视为潜在的生物危害，不得将其插入 Neogen 分子检测仪器。
10. 从加热块上取出未盖住 LS管架，并使其在Neogen分子检测冷却插块中冷却至少5分钟，并且最多 10 分钟。在环境温度下使用的Neogen分子冷却插块（不带分子检测冷却块托盘）应直接放置在实验室工作台上。冷却后，裂解液将恢复为粉红色。
11. 从Neogen分子检测冷却插块中取出LS管架。



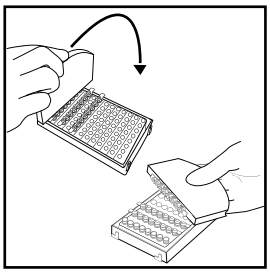


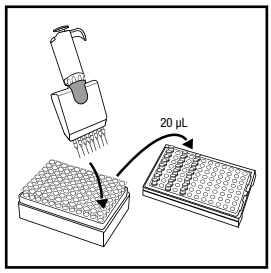
扩增

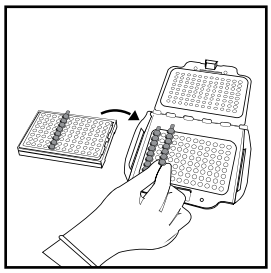
1. 每个样品和NC都需要一个Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*。
   1.1 试剂管条可以切割成所需的管数量。选择所需的单个试剂管或8-管条的数量。
   1.2 将试剂管放在空架子上。
   1.3 避免搅起管底部的试剂颗粒。
2 选择一个试剂对照（RC）管，并将其放在架子上。
3. 为了避免交叉污染，请一次打开一个试剂管条，并在每个转移步骤中使用新的移液器吸头。
4. 按照如下所述转移每种裂解物：

先将20 µL的每种样品裂解物转移到单独的试剂管中，然后转移NC。最后给RC管补水。

5. 使用Neogen分子检测盖/开盖工具-试剂将Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*试剂管开盖，每次一个试剂管条。丢弃管盖。
   5.1 将Neogen裂解溶液管上部 1/2 液体（避免沉淀）中的 20 µL 样品裂解物转移到相应的试剂管中。以一定角度分液，以避免搅起颗粒。缓缓地上下吸 5 次，使其混合。
   5.2 重复步骤 5.1，直到所有单个样品裂解物都已添加到条中相应的Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*试剂管中。
   5.3 用提供的额外盖子盖住Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*试剂管，并使用Neogen分子检测盖/开盖工具-试剂的圆侧面来回施加压力，确保盖子盖紧。
   5.4 根据需要，重复步骤 5.1 至 5.3，以获得所需数量的待测试样品。
   5.5 当所有样品裂解物都已转移后，将带盖的试剂管涡旋2秒以混合，然后在微型离心机中旋转10秒，以确保所有液体都在管的底部。
   5.6 将20 µL的NC裂解物转移到 Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*试剂管中，并将另外的20 µL的NC裂解物转移到RC管中。以一定角度分液，以避免搅起颗粒。缓缓地上下吸 5 次，使其混合。
6. 将加盖的试管装入清洁且已去污的 Neogen 分子检测快速装载托盘中。关闭并锁紧Neogen分子检测快速装载托盘盖。
7. 检查并确认Neogen Molecular Detection Software Quantitative Assay定量分析中配置的运行。
8. 单击软件中的“开始”按钮，然后选择要使用的仪器。所选仪器的仪器盖会自动打开。
9. 将 Neogen 分子检测快速装载托盘放入 Neogen 分子检测仪器，然后合上盖子开始分析。60 分钟内即可出具结果，不过检测到阳性所需的时间可能会更短。







10. 分析完成后，将 Neogen 分子检测快速装载托盘从 Neogen 分子检测仪器中取出，将试管浸泡在 1-5%(水溶液，v:v) 的家用漂白剂溶液中 1 小时并远离分析准备区，从而通过这种方式进行处置。

注意：为了最大限度地降低因交叉污染而导致的假阳性风险，切勿打开含有扩增 DNA 的试剂管。这包括Neogen分子检测分析2Q – 定量*沙门氏菌*试剂、Neogen试剂对照和Neogen基质对照管。请务必将密封试剂管浸泡在 1-5%(水溶液，v:v) 的家用漂白剂溶液中 1 小时并远离分析准备区，从而通过这种方式进行处置。

结果与解读

通过软件对独特曲线参数的分析来确定结果。

参考文献：

1. 美国食品药品监督管理局细菌学分析手册。第5章：*沙门氏菌*，2023年9月版本。
2. 美国农业部 (USDA) FSIS 微生物实验室指南 4.14。从肉类、家禽、巴氏杀菌蛋、胴体和环境海绵中分离和鉴定*沙门氏菌*。生效日期：2023年6月5日。
3. ISO 6579. 食品和动物饲料微生物学-*沙门氏菌*属检测水平方法。
4. ISO/IEC 17025. 测试和校准实验室能力的一般要求。
5. ISO 7218. 食品和动物饲料微生物学-微生物检验通用规则。
6. Neogen安装确认（IQ） / 操作确认（OQ）协议和Neogen分子检测系统的说明书。
7. Neogen定量快速富集脱水培养基（QRED500）技术规格表。

符号解释

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen公司
美国密歇根州兰辛市
莱舍广场620号，48912
neogen.com

Neogen欧洲有限公司
英国苏格兰
艾尔郡
奥欣克鲁夫
乳业学院，KA6 5HU

Neogen爱尔兰有限公司
爱尔兰威克洛郡布雷
布雷商业园
A98YV29

© Neogen Corporation 2024. 保留所有权利。Neogen 是 Neogen Corporation 的注册商标。专利：neogen.com/patents.

NEOGEN

คำแนะนำผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน ของ Neogen

คำอธิบายผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

ชุด Neogen® Molecular Detection Assay 2Q - Quantitative *Salmonella* (MDA2QSAL96) ใช้กับ Neogen® Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500) และ Neogen® Molecular Detection System เพื่อหาปริมาณ*ซาลโมเนลล่า*อย่างรวดเร็วในน้ำล้างซากไก่ที่ผ่านการเพิ่มจำนวนเชื้อมาแล้วและตัวอย่างเนื้อสัตว์ปีกบดดิบ ชุด Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* และแอปพลิเคชันแบบจำลองที่เข้าถึงผ่าน Neogen® Molecular Detection System Software ผลลัพธ์ที่ได้จาก Neogen® Molecular Detection System Software ใช้เพื่อประเมินปริมาณ*ซาลโมเนลล่า*น้ำล้างซากไก่และตัวอย่างเนื้อสัตว์ปีกดิบบด

การทดสอบจะใช้หลักการ loop-mediated isothermal amplification เพื่อเพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเออย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิเดียวโดยมีความเฉพาะเจาะจงและความไวสูง ร่วมกับการเรืองแสงทางชีวภาพสำหรับการตรวจหาการเพิ่มผลบวกเบื้องต้นจะได้รับการรายงานแบบเรียลไทม์ ผลลัพธ์ที่ต่ำกว่าขีดจำกัดของการตรวจจับจะแสดงเป็นลบหลังจากการทดสอบเสร็จสิ้น ผลบวกเบื้องต้นควรได้รับการยืนยันโดยใช้วิธีการที่คุณเลือกใช้หรือตามที่ข้อบังคับท้องถิ่นกำหนดไว้ [1, 2, 3]

ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน มีวัตถุประสงค์สำหรับใช้ในสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ โดยผู้เชี่ยวชาญที่ผ่านการฝึกอบรมเทคนิคในห้องปฏิบัติการ Neogen จัดทำเอกสารนี้เพื่อการใช้งานผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม ไม่ได้จัดทำเพื่อการใช้งานผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่นนอกเหนือจากที่กล่าวมาข้างต้น ตัวอย่างเช่น Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างทางสัตวแพทย์ ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน ยังไม่ได้ มีการประเมินประสิทธิภาพการใช้งานกับผลิตภัณฑ์อาหาร การแปรรูปอาหาร โปรโตคอลการทดสอบที่เป็นไปได้ทั้งหมด หรือประเมินกับแบคทีเรียที่เป็นไปได้ทุกสายพันธุ์ เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบทุกวิธี แหล่งที่มา สูตร และคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้ออาจส่งผลต่อผลที่ได้ อีกทั้งปัจจัยต่าง ๆ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง โปรโตคอลการทดสอบ การเตรียมตัวอย่าง การจัดการ และเทคนิคในห้องปฏิบัติการก็อาจส่งผลต่อผลที่ได้เช่นกัน Neogen แนะนำให้ทำการประเมินวิธีการ รวมทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ ในสภาพแวดล้อมของผู้ใช้ ใช้ตัวอย่างในปริมาณที่เพียงพอร่วมกับอาหารเฉพาะและทดสอบความท้าทายทางจุลินทรีย์เพื่อให้แน่ใจว่าวิธีการนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้

Neogen ได้ทำการทดสอบประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน กับ Neogen® Buffered Peptone Water (BPW), Neogen® neutralizing Buffered Peptone Water (nBPW) และ Neogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500)

เครื่องมือการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen มีวัตถุประสงค์สำหรับใช้กับตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อนในระหว่างขั้นตอนการย่อยสลายเซลล์ (lysis) ในการทดสอบ ซึ่งออกแบบมาเพื่อทำลายเชื้อที่มีอยู่ในตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ยังไม่ผ่านการให้ความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการย่อยสลายเซลล์ในการทดสอบอาจถือเป็นสิ่งที่อาจเป็นอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen

Neogen Food Safety ได้รับการรับรองตามมาตรฐานองค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน (ISO) 9001 สำหรับการออกแบบและการผลิต

ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน ของ Neogen ประกอบด้วยการทดสอบ 96 รายการ ตามที่อธิบายไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของชุดทดสอบ

รายการ	การพิสูจน์เอกลักษณ์	จำนวน	สิ่งที่บรรจุอยู่	ความคิดเห็น
หลอด Lysis Solution (LS)	สารละลายสีชมพูในหลอดใส	96 (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	LS 580 µL ต่อหลอด	จัดเรียงในชั้นวางและพร้อมใช้งาน
หลอดรีเอเจนต์ เชื้อซาลโมเนลลาเชิงปริมาณ	หลอดสีเขียว	96 (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	สารผสมแบบผงแห้งแช่แข็งสำหรับการเพิ่มขยายจำนวนและการตรวจหาแบบเฉพาะเจาะจง	พร้อมใช้งาน
ฝาสำรอง	ฝาสีเขียว	96 (12 แถว แถวละ 8 ฝา)		พร้อมใช้งาน
ตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา (Reagent Control)	หลอดใสแบบเปิดฝาด้านบน	16 (2 ถุง ถุงละ 8 หลอดเดี่ยว ๆ)	สารผสมแบบผงแห้งแช่แข็งของ DNA ที่เป็นตัวควบคุมสำหรับการเพิ่มขยายจำนวนและการตรวจหา	พร้อมใช้งาน

ตัวควบคุมเชิงลบที่ไม่ได้ให้มาในชุดทดสอบคืออาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ เช่น BPW, nBPW หรือ QRED500 ห้ามใช้น้ำเป็นตัวควบคุมเชิงลบ

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำสำหรับระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen และชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน เก็บรักษาคำแนะนำด้านความปลอดภัยไว้เพื่อใช้อ้างอิงในอนาคต

⚠ **คำเตือน:**	บ่งชี้สถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจส่งผลให้เกิดการเสียชีวิตหรือบาดเจ็บสาหัส และ/หรือทรัพย์สินเสียหายได้
⚠ **ข้อควรระวัง:**	บ่งชี้สถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจส่งผลให้บาดเจ็บเล็กน้อยหรือปานกลาง และ/หรือทรัพย์สินเสียหายได้
ข้อสังเกต:	บ่งชี้สถานการณ์ที่อาจเป็นอันตราย ซึ่งหากไม่หลีกเลี่ยง อาจส่งผลให้ทรัพย์สินเสียหายได้

⚠ คำเตือน

โปรโตคอลชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวนของ Neogen ไม่มีจุดหยุด ตัวอย่างจะต้องได้รับการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่องครบถ้วนหลังจากที่ตัวอย่างได้รับการเพิ่มจำนวน (ดูโปรโตคอลในตารางที่ 2)

ห้ามใช้ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวนของ Neogen ในการวินิจฉัยโรคในมนุษย์หรือสัตว์

ผู้ใช้ต้องฝึกอบรมบุคลากรเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่เหมาะสมในปัจจุบัน: ตัวอย่างเช่น แนวทางปฏิบัติที่ดีในห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practices), ISO/IEC 17025[4] หรือ ISO 7218[5]

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลลัพธ์ที่ต่ำกว่าขีดจำกัดการวัดปริมาณที่นำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อน:

- ห้ามตีความผลลัพธ์ที่ต่ำกว่า LOQ ของการทดสอบชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน เป็นผลลัพธ์ของ*ซาลโมเนลล่า*เชิงลบ ผลลัพธ์ที่ต่ำกว่าผลลัพธ์ LOQ ไม่ได้บ่งชี้ว่าไม่มี*เชื้อซาลโมเนลล่า*โดยสิ้นเชิง เพียงแต่ระดับของ*เชื้อซาลโมเนลล่า* (หากมี) จะต่ำกว่า LOQ สำหรับวิธีนี้
- ปฏิบัติตามโปรโตคอลและทำการทดสอบตรงตามที่ระบุไว้ในคำแนะนำผลิตภัณฑ์ทุกประการ
- ใช้ไมโครปิเปตที่สอบเทียบแล้วเสมอ

- ใช้ Neogen Molecular Detection Assay 2Q – Quantitative *Salmonella* กับอาหารที่ผ่านการตรวจสอบภายในหรือโดยบุคคลที่สาม
- จัดเก็บชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวนของ Neogen ตามที่ระบุไว้บนบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำผลิตภัณฑ์
- ใช้ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวนเชิงปริมาณของ Neogen ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- ห้ามใช้ตัวอย่างสำหรับเพิ่มจำนวนตามที่ระบุในคำแนะนำของผลิตภัณฑ์นี้ร่วมกับการทดสอบ**เชิงคุณภาพ**ของ Neogen® Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* (MDA2SAL96) อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนที่รวมอยู่ในคำแนะนำผลิตภัณฑ์เหล่านี้ได้รับการพัฒนาขึ้นโดยเฉพาะสำหรับการทดสอบ**เชิงปริมาณ**นี้

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมีและสิ่งที่เป็นอันตรายทางชีวภาพ:

- ทำการทดสอบจุลินทรีย์ก่อโรคในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์เหมาะสมภายใต้การควบคุมของบุคลากรที่ผ่านการฝึกอบรม อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อซึ่งผ่านการบ่มเพาะเชื้อแล้ว รวมทั้งอุปกรณ์หรือพื้นผิวต่าง ๆ ที่มีการสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อซึ่งผ่านการบ่มเพาะเชื้อแล้วอาจมีจุลินทรีย์ก่อโรคในระดับเพียงพอที่จะก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์
- กระบวนการนี้ใช้/ตรวจจับจุลินทรีย์ก่อโรคและ/หรือผลิตภัณฑ์จากการเผาผลาญของจุลินทรีย์เหล่านั้นเกินระดับที่กำหนด ควรระมัดระวังเพื่อหลีกเลี่ยงการกลืนกินหรือการสูดดมละอองลอยที่อาจมีการติดเชื้อ หรือการสัมผัสกับผิวหนัง ปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติมาตรฐานด้านความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการเสมอ ซึ่งรวมถึงการสวมชุดป้องกันและอุปกรณ์ป้องกันดวงตาที่เหมาะสมขณะจัดการกับสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาและตัวอย่างที่มีการปนเปื้อน
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับสิ่งที่บรรจุอยู่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อและหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาหลังจากการเพิ่มขยายจำนวน
- กำจัดตัวอย่างหลังเพิ่มจำนวนเชื้อตามมาตรฐานของอุตสาหกรรมในปัจจุบัน
- ตัวอย่างที่ยังไม่ผ่านการให้ความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการย่อยสลายเซลล์ในการทดสอบอาจถือเป็นสิ่งที่อาจเป็นอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen
- เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนข้ามในขณะที่เตรียมชุดทดสอบ:
- สวมถุงมือเสมอ (เพื่อปกป้องผู้ใช้และป้องกันการเกิดนิวคลีเอส)

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม:

ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมปัจจุบันสำหรับการกำจัดขยะปนเปื้อน

⚠ ข้อควรระวัง

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสของเหลวร้อน:

- ห้ามตั้งอุณหภูมิเครื่องทำความร้อนเกินอุณหภูมิที่แนะนำ
- ห้ามให้ความร้อนเกินเวลาที่แนะนำ

ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่เหมาะสมและสอบเทียบแล้วเพื่อตรวจสอบยืนยันอุณหภูมิของ Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วนหรือเทอร์โมมิเตอร์คู่ควบอุณหภูมิแบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) โดยจะต้องวางเทอร์โมมิเตอร์ในบริเวณที่กำหนดไว้ของฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen

ข้อสังเกต

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนข้ามในขณะที่เตรียมชุดทดสอบ:

- เปลี่ยนถุงมือก่อนทำการดูดตัวอย่างจากไลเซสไปยังหลอดรีเอเจนต์
- แนะนำให้ใช้ปิเปตทิประดับชีววิทยาโมเลกุลที่มีตัวกันละอองลอย (มีตัวกรอง) และปราศจากเชื้อ
- ใช้ปิเปตทิปอันใหม่สำหรับการดูดจ่ายตัวอย่างแต่ละครั้ง
- ใช้แนวทางปฏิบัติที่ดีในห้องปฏิบัติการในระหว่างขั้นตอนการประมวลผลการหมุนเหวี่ยงและการดูดจ่ายตัวอย่างจากหลอดเพิ่มจำนวนเชื้อไปยังหลอดย่อยสลายเซลล์ เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของปิเปต ผู้ใช้อาจเลือกที่จะเพิ่มขั้นตอนขั้นกลางในการดูดจ่ายตัวอย่าง ตัวอย่างเช่น ผู้ใช้อาจดูดจ่ายตัวอย่างหลังเพิ่มจำนวนเชื้อแต่ละตัวอย่างลงในหลอดปราศจากเชื้อ
- ใช้โต๊ะปฏิบัติการทางชีววิทยาโมเลกุลที่มีหลอดไฟฆ่าเชื้อ หากมี ฆ่าเชื้อโต๊ะปฏิบัติการและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปต เครื่องมือเปิด/ปิดฝา เป็นต้น) เป็นระยะ ๆ ด้วยสารละลายฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) หรือสารละลายกำจัดดีเอ็นเอ

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลบวกปลอม:

- ห้ามเปิดหลอดรีเอเจนต์ หลังการเพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเอ
- กำจัดหลอดที่มีการปนเปื้อนแล้วเสมอ โดยแช่ในสารละลายฟอกขาวในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และห่างจากบริเวณที่เตรียมชุดทดสอบ
- ห้ามใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อหลอดรีเอเจนต์หลังการเพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเอ
- ใช้ไมโครปิเปตที่สอบเทียบแล้วเสมอ

ศึกษาเอกสารข้อมูลความปลอดภัยสำหรับข้อมูลเพิ่มเติมและข้อบังคับการกำจัดของท้องถิ่น

หากคุณมีข้อสงสัยเกี่ยวกับแอปพลิเคชันหรือขั้นตอนที่เฉพาะเจาะจง โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ neogen.com หรือติดต่อตัวแทน Neogen ของคุณหรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาต

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการทำความคุ้นเคยกับคำแนะนำและข้อมูลผลิตภัณฑ์ โปรดไปที่เว็บไซต์ของเราที่ neogen.com หรือติดต่อตัวแทนหรือผู้จัดจำหน่ายของ Neogen ในท้องถิ่นของคุณหากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม

เมื่อเลือกวิธีการทดสอบ สิ่งสำคัญคือต้องตระหนักว่าปัจจัยภายนอก เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง โปรโตคอลการทดสอบ การเตรียมตัวอย่าง การจัดการ เทคนิคในห้องปฏิบัติการ และตัวอย่างเองอาจส่งผลต่อผลลัพธ์

ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบหรือผลิตภัณฑ์ใด ๆ เพื่อประเมินตัวอย่างใช้ตัวอย่างในปริมาณที่เพียงพอร่วมกับอาหารเฉพาะและทดสอบความท้าทายทางจุลินทรีย์เพื่อให้แน่ใจว่าวิธีการนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้

นอกจากนี้ผู้ใช้ยังมีหน้าที่รับผิดชอบในการประเมินว่าวิธีการทดสอบใด ๆ และผลที่ได้นั้นเป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและซัพพลายเออร์

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบใด ๆ ผลที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดก็ตามไม่ถือเป็นการรับประกันคุณภาพของเมทริกซ์หรือกระบวนการที่ทดสอบ

เพื่อช่วยลูกค้าประเมินวิธีการสำหรับเมทริกซ์ชนิดต่าง ๆ ในอาหาร Neogen ได้พัฒนาชุด Neogen® Molecular Detection Matrix Control เมื่อต้องการ ให้ใช้ตัวควบคุมเมทริกซ์ (MC) เพื่อประเมินว่าเมทริกซ์สามารถส่งผลกระทบหรือไม่ต่อผลที่ได้จากชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน โดยให้ทดสอบหลาย ๆ ตัวอย่างซึ่งเป็นตัวแทนของเมทริกซ์ กล่าวคือ ตัวอย่างที่ได้มาจากแหล่งกำเนิดที่ แตกต่างกัน ในช่วงระยะเวลาใด ๆ ของการตรวจสอบความถูกต้อง เมื่อนำวิธีการของ Neogen มาใช้ หรือเมื่อทดสอบเมทริกซ์ใหม่หรือเมทริกซ์ที่ไม่รู้จักหรือเมทริกซ์ที่ผ่านการเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบหรือกระบวนการ

เมทริกซ์สามารถหมายถึงผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติในตัว เช่น ส่วนประกอบและกระบวนการ ความแตกต่างระหว่างเมทริกซ์ชนิดต่าง ๆ อาจเป็นเพียงผลที่เกิดจากความแตกต่างของการแปรรูปหรือสภาพลักษณะ ตัวอย่างเช่น ดิบเทเปรียบเทียบกับผ่านการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอไรส์ สดเปรียบเทียบกับแห้ง

การจำกัดการรับประกัน / การชดเชยแบบจำกัด

ยกเว้นตามที่ระบุไว้อย่างชัดแจ้งในหัวข้อการรับประกันแบบจำกัดในบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น NEOGEN ปฏิเสธการรับประกันโดยชัดแจ้งและโดยนัยทั้งหมด ซึ่งรวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใด ๆ ถึงความสามารถในการวางจำหน่ายหรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ หากผลิตภัณฑ์ใด ๆ ของ Neogen Food Safety มีข้อบกพร่อง Neogen หรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตจะพิจารณาเลือกเปลี่ยนแทนผลิตภัณฑ์หรือคืนเงินตามราคาซื้อของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ซึ่งเป็นการชดเชยพิเศษของคุณ คุณต้องแจ้ง Neogen ทันทีภายในหกสิบวันหลังจากเกิดข้อสงสัยว่าผลิตภัณฑ์มีข้อบกพร่องใด ๆ และส่งผลิตภัณฑ์คืนให้กับ Neogen โปรดติดต่อตัวแทน Neogen Food Safety ของคุณหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ที่ได้รับอนุญาตหากมีคำถามเพิ่มเติม

การจำกัดความรับผิดของ Neogen

NEOGEN จะไม่รับผิดต่อความสูญเสียหรือความเสียหายใด ๆ ไม่ว่าจะเป็นความเสียหายโดยตรง ความเสียหายโดยอ้อม ความเสียหายเฉพาะ ความเสียหายอันเนื่องมาจากการผิดสัญญา หรือความเสียหายสืบเนื่อง ซึ่งรวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ไม่ว่าในกรณีใดก็ตาม ความรับผิดของ Neogen ภายใต้ทฤษฎีทางกฎหมายใดก็ตามจะไม่เกินราคาซื้อของผลิตภัณฑ์ที่ถูกกล่าวหาว่ามีข้อบกพร่อง

การจัดเก็บและการกำจัด

จัดเก็บส่วนประกอบชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล 2Q - *ซาลโมเนลล่า* เชิงปริมาณของ Neogen ไว้ที่อุณหภูมิ 2–8°C ห้ามแช่แข็ง เก็บชุดทดสอบให้พ้นแสงในระหว่างการจัดเก็บ หลังจากเปิดชุดทดสอบแล้ว ให้ตรวจสอบว่าถุงฟอยล์ไม่ได้รับความเสียหาย ห้ามใช้หากถุงได้รับความเสียหาย หลังจากเปิดแล้ว ควรเก็บหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาที่ยังไม่ได้ใช้ไว้ในถุงที่ปิดผนึกซ้ำได้เสมอโดยมีสารดูดความชื้นอยู่ภายในเพื่อรักษาความคงตัวของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาซึ่งเป็นผงแห้งแช่แข็ง เก็บถุงที่ปิดผนึกซ้ำไว้ที่อุณหภูมิ 2–8°C เป็นเวลาไม่เกิน 60 วัน ห้ามใช้ชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล 2Q - *ซาลโมเนลล่า* เชิงปริมาณของ Neogen หลังวันหมดอายุ วันหมดอายุและหมายเลขล็อตมีระบุไว้บนฉลากด้านนอกของกล่อง หลังจากใช้งาน อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อและหลอดของ ชุดการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคระดับโมเลกุล 2Q - *ซาลโมเนลล่า* เชิงปริมาณของ Neogen อาจมีสารก่อโรคอยู่ เมื่อการทดสอบเสร็จสมบูรณ์ ให้ปฏิบัติตามข้อบังคับท้องถิ่นสำหรับการกำจัดของเสียที่มีการปนเปื้อน ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในเอกสารข้อมูลความปลอดภัย

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ การไม่ปฏิบัติตามอาจทำให้ได้ผลที่ไม่ถูกต้อง

ฆ่าเชื้อโต๊ะปฏิบัติการและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปต เครื่องมือเปิด/ปิดฝา เป็นต้น) เป็นระยะ ๆ ด้วยสารละลายฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) หรือสารละลายกำจัดดีเอ็นเอ

ผู้ใช้ควรผ่านการฝึกอบรมการตรวจรับรองผู้ปฏิบัติงานระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ตามที่อธิบายไว้ในเอกสาร “โปรโตคอลการตรวจรับรองการติดตั้ง (Installation Qualification หรือ IQ) / การตรวจรับรองการทำงาน (Operational Qualification หรือ OQ) และคำแนะนำสำหรับระบบการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen”[6]

ดูหัวข้อ “คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง” หากต้องการทราบข้อกำหนดที่เฉพาะเจาะจง

ปริมาณ*เชื้อซาลโมเนลลา*ในไก่/ไก่งวงบดดิบ

1. ชั่งน้ำหนักไก่หรือไก่งวงบดดิบ 325 กรัมแล้วใส่ในถุงปลอดเชื้อ
2. เติมน้ำเปปโตนบัฟเฟอร์ (BPW) 400 มล.
3. ปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการตีผสมโดยเครื่อง stomacher 180 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที
4. ดูดสารผสมเนื้อเดียวจากไก่หรือไก่งวงบดดิบ 30 มล. ลงในถุงตัวอย่าง
5. เติม Neogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500) 30 มล. (ดูเอกสารข้อมูลจำเพาะทางเทคนิคของตัวดูดน้ำออกสำหรับการเพิ่มจำนวนเชื้ออย่างรวดเร็วเชิงปริมาณ)[7] ที่อุ่นไว้ล่วงหน้าที่ 42°C สิ่งนี้เรียกว่า 'ตัวอย่าง'
6. บ่มเพาะ 'ตัวอย่าง' ตามเงื่อนไขเพิ่มจำนวนเชื้อในตารางที่ 2
7. หลังจากเพิ่มจำนวนเชื้อแล้ว ให้นำตัวอย่างออกจากตู้บ่มเพาะเชื้อแล้วผสมให้เข้ากัน
8. หลังจากผสมทันที ให้แบ่งตัวอย่าง 1.5 มล. ลงในหลอดที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กขนาด 2 มล. ที่มีก้นทรงกรวย
9. ปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กที่ 7,000 x g เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อทำให้อนุภาคตกตะกอน
10. เทส่วนใสทิ้งย่างระมัดระวังโดยไม่รบกวนส่วนที่ตกตะกอน ที่จะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา ค่อย ๆ พลิกหลอดแล้วใช้กระดาษเช็ดเพื่อขจัดส่วนใสส่วนเกินที่เหลืออยู่
11. ละลายส่วนที่ตกตะกอนที่ใช้จะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาอีกครั้งใน QRED500 300 ไมโครลิตร.
12. ปั่นผสมด้วย vortex จนกระทั่งเส่วนที่ตกตะกอนที่จะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาถูกทำให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันอย่างสมบูรณ์อีกครั้งใน QRED500
13. วิเคราะห์ตัวอย่างส่วนที่ตกตะกอนที่ใจะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาที่ถูกทำให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง 50 ไมโครลิตร. (จาก 12) ด้วยชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน

ปริมาณ*เชื้อซาลโมเนลลา*ในน้ำล้างซากไก่

1. ใส่ซากไก่หนึ่งตัวลงในถุงล้างสัตว์ปีกที่ปราศจากเชื้อ
2. เติมน้ำเพปโทนบัฟเฟอร์เป็นกลาง (nBPW) ของ Neogen หรือน้ำเพปโทนบัฟเฟอร์ (BPW) 400 มล. ผ่านซากไก่ (ดูตารางที่ 2)
3. เขย่าผสมเป็นเวลา 1 นาทีเพื่อล้างซาก
4. ดูดจ่ายน้ำล้างซาก 30 มล. ลงในถุงตัวอย่าง
5. เติมNeogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500) 30 มล. (ดูเอกสารข้อมูลจำเพาะทางเทคนิคของ Enrichment Dehydrated Media สำหรับการเพิ่มจำนวนเชื้ออย่างรวดเร็วเชิงปริมาณ)(6) ที่อุ่นไว้ล่วงหน้าที่ 42°C สิ่งนี้เรียกว่า 'ตัวอย่าง'
6. บ่มเพาะตัวอย่างตามเงื่อนไขเพิ่มจำนวนเชื้อในตารางที่ 2
7. หลังจากเพิ่มจำนวนเชื้อแล้ว ให้นำตัวอย่างออกจากตู้บ่มเพาะเชื้อแล้วผสมให้เข้ากัน
8. หลังจากผสมทันที ให้แบ่งตัวอย่าง 1.5 มล. ลงในหลอดที่ใช้ในการปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กขนาด 2 มล. ที่มีก้นทรงกรวย
9. ปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กที่ 5,000 x g เป็นเวลา 5 นาทีเพื่อเพื่อทำให้อนุภาคตกตะกอน
10. ทิ้งเทส่วนใสทิ้งอย่างระมัดระวังโดยไม่รบกวนส่วนที่ตกตะกอนที่เพื่อทำให้อนุภาคตกตะกอนเป็นตัวกระทำปฏิกิริยา ค่อย ๆ พลิกหลอดแล้วใช้กระดาษเช็ดเพื่อขจัดส่วนใสส่วนเกินที่ เหลืออยู่
11. ละลายส่วนที่ตกตะกอนที่จะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาอีกครั้งใน QRED500 100 ไมโครลิตร.
12. ปั่นผสมด้วย vortex จนกระทั่งเมส่วนที่ตกตะกอนที่ใชจะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาถูกทำให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันอย่างสมบูรณ์อีกครั้งใน QRED500
13. วิเคราะห์ตัวอย่างส่วนที่ตกตะกอนที่จะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาที่ถูกทำให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง 50 ไมโครลิตร. (จาก 12) ด้วยชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน

ตารางที่ 2 แสดงคำแนะนำสำหรับโปรโตคอลการเพิ่มจำนวนเชื้อทั่วไปสำหรับน้ำล้างซากไก่และตัวอย่างสัตว์ปีกดิบบด ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการตรวจสอบความถูกต้องของโปรโตคอลการสุ่มตัวอย่างทางเลือกหรืออัตราส่วนในการเจือจาง เพื่อให้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบนี้ตรงตามเกณฑ์ของผู้ใช้

ตารางที่ 2 โปรโตคอลการเพิ่มจำนวนเชื้อโดยทั่วไป

เมทริกซ์ในตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	การปั่นผสม (ขั้นตอนแรก)	การเพิ่มจำนวนเชื้อ	อุณหภูมิการเพิ่มจำนวนเชื้อ	เวลาในการเพิ่มจำนวนเชื้อ	การระงับเม็ดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาอีกครั้ง	ปริมาณการวิเคราะห์ตัวอย่าง[(a)]
ไก่ดิบบด	325 กรัม	BPW 400 มล.	สารผสมเนื้อเดียว 30 มล. + QRED 30 มล.	42 ± 1°C	6 ชั่วโมง	300 ไมโครลิตร	50 ไมโครลิตร
ไก่งวงบดดิบ	325 กรัม	BPW 400 มล.	สารผสมเนื้อเดียว 30 มล. + QRED 30 มล.	42 ± 1°C	5 ชั่วโมง	300 ไมโครลิตร	50 ไมโครลิตร
น้ำล้างซากไก่	30 มล.	nBPW 400 มล.	น้ำล้างซากด้วย nBPW 30 มล. + QRED 30 มล.	42 ± 1°C	6 ชั่วโมง	100 ไมโครลิตร	50 ไมโครลิตร
การล้างซากไก่	30 มล.	BPW 400 มล.	น้ำล้างซากด้วย nBPW 30 มล. + QRED 30 มล.	42 ± 1°C	5 ชั่วโมง	100 ไมโครลิตร	50 ไมโครลิตร

(a) ปริมาตรของตัวอย่างที่ดูดจ่ายไปยังหลอด Lysis Solution ดูขั้นตอนที่ 4.5 ของส่วน Lysis

การเตรียมถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen (Neogen® Molecular Detection Speed Loader Tray)

1. ชุบผ้าหรือกระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งในสารละลายฟอกขาวในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1–5% (โดยปริมาตรในน้ำ) แล้วเช็ดถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen
2. ใช้น้ำล้างถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen
3. ใช้กระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งเช็ดถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ให้แห้ง
4. ตรวจสอบให้แน่ใจว่าถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen แห้งสนิทก่อนใช้งาน

การเตรียมชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen (Neogen® Molecular Detection Chill Block Insert)

วางชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ไว้บนโต๊ะปฏิบัติการโดยตรง ใช้บล็อกที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการโดยรอบ (20-25°C)

การเตรียมฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen® Molecular Detection Heat Block Insert)

ใส่ฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen ลงในชุดเครื่องทำความร้อนแบบบล็อกแห้ง: เปิดชุดเครื่องทำความร้อนแบบบล็อกแห้งและตั้งอุณหภูมิเพื่อให้ฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึงและคงอยู่ที่ 100 ± 1°C

หมายเหตุ: ขึ้นอยู่กับเครื่องทำความร้อน ให้รอประมาณ 30 นาทีเพื่อให้ฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen มีอุณหภูมิที่กำหนด ตรวจสอบยืนยันว่าฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen มีอุณหภูมิ 100 ± 1°C โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่เหมาะสมและสอบเทียบแล้ว (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน เทอร์โมมิเตอร์คู่ควบอุณหภูมิแบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) วางไว้ในบริเวณที่กำหนด

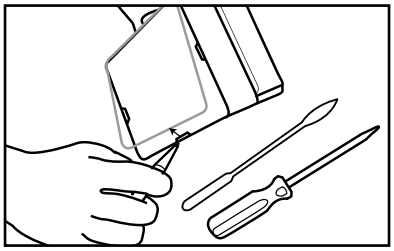
การเตรียมเครื่องมือการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen

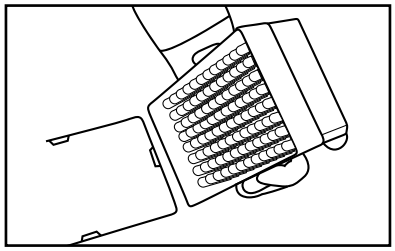
1. เปิดซอฟต์แวร์การตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen และเข้าสู่ระบบ ติดต่อตัวแทน Neogen Food Safety ของคุณเพื่อให้แน่ใจว่าคุณมีซอฟต์แวร์เวอร์ชันที่อัปเดตล่าสุดที่มีการทดสอบเชิงปริมาณ
2. เปิดเครื่องมือการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen
3. สร้างหรือแก้ไขการทดสอบด้วยข้อมูลสำหรับแต่ละตัวอย่าง โปรดดูรายละเอียดในคู่มือการใช้ระบบการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen และ MDA2QSAL96 Software Technical Bulletin

หมายเหตุ: เครื่องมือการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen ต้องมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึงและคงอยู่ที่ 60°C ก่อนที่จะใส่ถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen ซึ่งมีหลอดรีเอเจนต์อยู่ ขั้นตอนการทำความร้อนนี้ใช้เวลาประมาณ 20 นาทีและจะบ่งชี้ด้วยไฟสีส้มบนแถบสถานะของเครื่องมือ เมื่อเครื่องมือพร้อมที่จะเริ่มต้นการทดสอบ แถบสถานะจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว

การย่อยสลายเซลล์

1. ถอดด้านล่างของหลอดสารละลายย่อยสลายเซลล์ของ Neogen ออกด้วยไขควงหรืออุปกรณ์ช่วยงัดก่อนวางลงในฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen

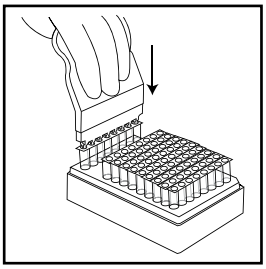
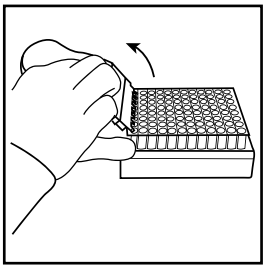
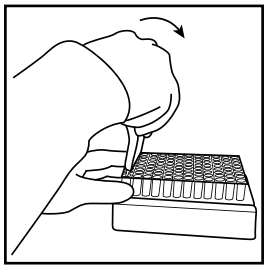
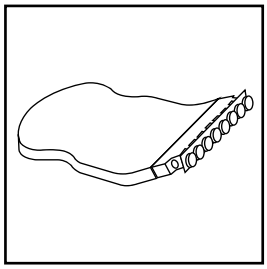
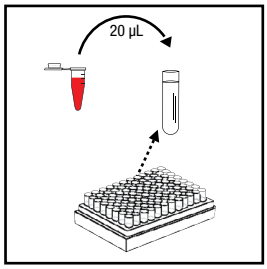




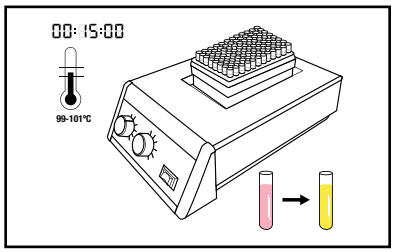
2. ปล่อยให้ Lysis Solution (LS) อุ่นขึ้นโดยวางชั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (20–25°C) ข้ามคืน (16–18 ชั่วโมง) ทางเลือกอื่น ๆ ในการปรับสมดุลหลอด LS ให้อยู่ที่อุณหภูมิห้องคือการวางหลอดหลอด LS ไว้บนโต๊ะปฏิบัติการเป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง หรือวางหลอด LS ในตู้บ่มเพาะเชื้อที่มีอุณหภูมิ 37 ±1°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือวางไว้ในเครื่องทำความร้อนแบบบล็อกแห้งเป็นเวลา 30 วินาทีที่อุณหภูมิ 100°C
3. พลิกกลับหลอดที่ยังปิดฝาอยู่เพื่อผสม ดำเนินการขั้นตอนต่อไปภายใน 4 ชั่วโมง
4. ต้องใช้ LS หนึ่งหลอดสำหรับแต่ละตัวอย่างและตัวอย่างที่เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative Control หรือ NC) (อาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ)
   4.1 สามารถตัดแถวของหลอด LS ให้มีจำนวนหลอด LS ที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอด LS เดี่ยว ๆ หรือจำนวนแถวที่มี 8 หลอดตามที่ต้องการ วางท่อ LS ในชั้นวางเปล่า
   4.2 ใช้ Neogen® Molecular Detection Cap/Decap Tool-Lysis เพื่อเปิดฝาหลอด LS ออกหนึ่งแถว
   4.3 เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาหลอด LS ออกทีละแถว และใช้ปิเปตทิปอันใหม่สำหรับการดูดจ่ายแต่ละขั้นตอน
   4.4 ทิ้งฝา LS
   4.5 ดูดจ่ายตัวอย่างส่วนที่ตกตะกอนที่จะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาที่ถูกทำให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง 50 ไมโครลิตร ลงในหลอด LS

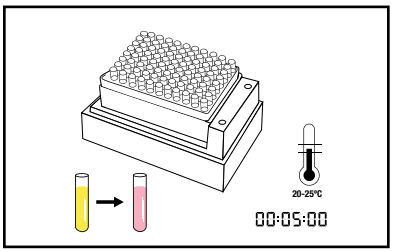
ดูดจ่ายตัวอย่างส่วนที่ตกตะกอนที่ใชจะใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาที่ถูกทำให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้งแต่ละตัวอย่าง **50 ไมโครลิตร**ลงในหลอด LS แต่ละหลอด**ก่อน** ดูดจ่ายตัวควบคุมเชิงลบ (NC) **หลังสุด**

5. ทำขั้นตอนที่ 2 ถึง 5 ซ้ำจนกว่าจะเติมแต่ละตัวอย่างลงในหลอด LS สำหรับตัวอย่างนั้นจนครบทั้งแถว

6. ทำขั้นตอนที่ 1 ถึง 5 ซ้ำเท่าที่จำเป็นตามจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ
7. เมื่อดูดจ่ายตัวอย่างทั้งหมดแล้ว ให้ดูดจ่ายตัวควบคุมเชิงลบ (NC) 50 ไมโครลิตร (QRED500 ปลอดเชื้อ) ลงในหลอด LS ห้ามใช้น้ำเป็น NC
8. ตรวจสอบยืนยันว่าฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen มีอุณหภูมิ 100 ± 1°C
9. นำชั้นวางที่มีหลอด LS ซึ่งไม่ปิดฝาไปวางในฮีทบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen แล้วให้ความร้อนเป็นเวลา 15 ±1 นาที ในระหว่างการให้ความร้อน LS จะเปลี่ยนจากสีชมพู (เย็น) เป็นสีเหลือง (ร้อน)
   ตัวอย่างที่ยังไม่ผ่านการให้ความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการย่อยสลายเซลล์ในการทดสอบอาจถือเป็นสิ่งที่อาจเป็นอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen
10. นำชั้นวางที่มีหลอด LS ออกจากบล็อกทำความร้อน และปล่อยให้เย็นในชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen อย่างน้อย 5 นาทีและไม่เกิน 10 นาที หากใช้ที่อุณหภูมิโดยรอบโดยไม่มีถาดชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุล ควรวางชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen ไว้บนโต๊ะปฏิบัติการโดยตรง เมื่อเย็นแล้วสาร LS จะเปลี่ยนกลับเป็นสีชมพู
11. นำชั้นวางที่มีหลอดสาร LS ออกจากชิลบล็อกสำหรับใส่หลอดทดสอบในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen



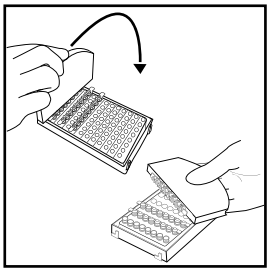
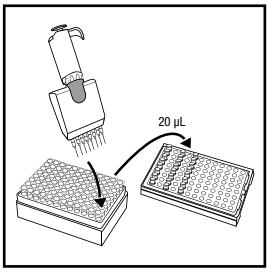


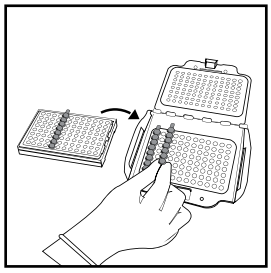
การเพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเอ

1. จำเป็นต้องมีชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวนของ Neogen หนึ่งรายการสำหรับแต่ละตัวอย่างและตัวควบคุมเชิงลบ
   - 1.1 สามารถตัดแถวของหหลอดรีเอเจนต์ให้มีจำนวนหลอดที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดหลอดรีเอเจนต์เดี่ยว ๆ หรือจำนวนแถวที่มี 8 หลอดตามที่ต้องการ
   - 1.2 วางหลอดหลอดรีเอเจนต์ในชั้นวางเปล่า
   - 1.3 หลีกเลี่ยการดูดตัวอย่างจากก้นหลอด LS เพื่อป้องกันการรบกวนปฏิกิริยาในหลอดรีเอเจนต์
2. เลือกหลอดตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา (RC) มาหนึ่งหลอดแล้วใส่ลงในชั้นวาง
3. เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาออกทีละแถว และใช้ปิเปตทิปอันใหม่สำหรับการดูดจ่ายแต่ละขั้นตอน
4. ดูดจ่ายสารจากหลอด LS แต่ละตัวตามที่อธิบายไว้ด้านล่าง:

ดูดจ่ายสารจากหลอด LSตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร แต่ละหลอดลงในหลอดรีเอเจนต์แต่ละหลอดก่อน ตามด้วยตัวควบคุมเชิงลบ จากนั้นดูดลงในหลอดตัวคควบคุม RC เพื่อดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาเป็นลำดับสุดท้าย

5. ใช้เครื่องมือเปิด/ปิดฝาในการตรวจหาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen สำหรับสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา เพื่อเปิดฝาหลอหลอดรีเอเจนต์ในชุดการทดสอบเชชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวนออกทีละแถว แล้วทิ้งฝา
   - 5.1 ดูดสารจากหลอด LS 20 ไมโครลิตร จากของเหลวครึ่งบน (หลีกเลี่ยงตะกอน) ในหลอด LS ´ของ Neogen ไปเติมลงในหลอหลอด รีเอเจนต์ สำหรับตัวอย่างนั้น โดยปล่อยสารละลายด้านข้างหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา ผสมโดยใช้ปิเปตดูดขึ้นและปล่อยลงเบา ๆ 5 ครั้ง
   - 5.2 ทำขั้นตอนที่ 5.1 ซ้ำจนกว่าจะเติมสารจาก หลอด LS แต่ละตัวอย่างทั้งหมดลงในหลอด หลอดรีเอเจนต์ ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวนสำหรับตัวอย่างนั้นจนครบทั้งแถว
   - 5.3 ปิดหลอด หลอดรีเอเจนต์ ในชุดการทดสอบเชชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน ด้วย ฝาสำรองที่ให้มา แล้วใช้ด้านโค้งมนของเครื่องมือเปิด/ปิดฝาในการตรวจหาระดับโมเลกุลของ Neogen สำหรับสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา เพื่อออกแรงกดกลับไปกลับมาให้แน่ใจว่าฝาปิดแน่นแล้ว
   - 5.4 ทำขั้นตอนที่ 5.1 ถึง 5.3 ซ้ำเท่าที่จำเป็นตามจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ
   - 5.5 เมื่อดูดจ่ายสารจาก หลอด LS ทั้งหมดแล้ว ให้ปั่นผสมสารในหลอดรีเอเจนต์ ที่ปิดฝาไว้เป็นเวลา 2 วินาทีเ จากนั้น ทำการปั่นเหวี่ยง ในเครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็กเพื่อให้แน่ใจว่าของเหลวทั้งหมดอยู่ที่ด้านล่างของหลอด
   - 5.6 ดูดสาร หลอด LS NC 20 ไมโครลิตรลงในหลอด หลอดรีเอเจนต์ ชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวน และสาร จาก หลอด LS NC อีก 20 ไมโครลิตรลงในหลอดตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา โดยปล่อยสารละลายด้านข้างหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา ผสมโดยใช้ปิเปตดูดขึ้นและปล่อยลง เบา ๆ 5 ครั้ง
6. ใส่หลอดที่ปิดฝาแล้วลงในถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจ หาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen ที่สะอาดและขจัดสิ่งปนเปื้อนแล้ว ปิดและใส่สลักฝาปิดถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจ หาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen



7. ตรวจสอบและยืนยันการ ทดสอบที่กำหนดค่าไว้ใน ซอฟต์แวร์การทดสอบเชิงปริมาณารตรวจ หาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen
8. คลิกปุ่ม เริ่มต้น ในซอฟต์แวร์และเลือกเครื่องมือที่จะใช้ ฝาปิดเครื่องมือที่เลือกจะเปิดโดยอัตโนมัติ
9. วางถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจ หาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen ลงในเครื่องมือการตรวจ หาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen แล้วปิดฝาเพื่อเริ่มการทดสอบ จะได้รับผลภายใน 60 นาที แม้ว่าอาจตรวจพบผลบวกได้เร็วกว่านี้

10. หลังจากการทดสอบเสร็จสมบูรณ์ ให้นำถาดสำหรับใส่หลอดทดสอบแบบรวดเร็วในการตรวจ หาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen ออกจากเครื่องมือการตรวจ หาเชื้อระดับโมเลกุลของ Neogen แล้วกำจัดหลอดต่าง ๆ โดยแช่ในสารละลายฟอกขาวในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (โดยปริมาตรในน้ำ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และห่างจากบริเวณที่เตรียมชุดทดสอบ

ข้อสังเกต: เพื่อลดความเสี่ยงของผลบวก ปลอมอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนข้าม ห้ามเปิดหลอด รีเอเจนต์ซึ่งมีดีเอ็นเอที่เพิ่มขยายจำนวนแล้ว ซึ่งรวมถึงหลอดสาร รีเอเจนต์ในชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุล 2 *ซาลโมเนลล่า* แบบนับจำนวนของ Neogen, หลอดตัวควบคุมดูผลของสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาของ Neogen และหลอดตัวควบคุมดูผลของเมทริกซ์ของ Neogen กำจัดหลอดสารที่ใช้เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาซึ่งปิดสนิทแล้วเสมอ โดยแช่ในสารละลายฟอกขาวในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (โดยปริมาตรในน้ำ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และห่างจากบริเวณที่เตรียมชุดทดสอบ

ผลและการแปลผล

ผลลัพธ์จะถูกกำหนดโดยการวิเคราะห์พารามิเตอร์เส้นโค้งที่ไม่ซ้ำกันโดยซอฟต์แวร์

เอกสารอ้างอิง:

1. คู่มือการตรวจวิเคราะห์แบคทีเรียขององค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา บทที่ 5: *เชื้อซาลโมเนลลา*, เวอร์ชันกันยายน 2023
2. คู่มือห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่ให้บริการด้านความปลอดภัยและการตรวจสอบอาหาร (FSIS) 4.14 ของกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกา (US Department of Agriculture หรือ USDA) การแยกและการระบุ*เชื้อซาลโมเนลลา*จากเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก ไข่พาสเจอร์ไรส์ ซาก และฟองน้ำสิ่งแวดล้อม วันที่มีผลบังคับใช้: 5 มิถุนายน 2023
3. ISO 6579 จุลชีววิทยาของอาหารและอาหารสัตว์ – วิธีการแนวนอนสำหรับการตรวจหาเชื้อ*ซาลโมเนลลา*
4. ISO/IEC 17025. ข้อกำหนดทั่วไปสำหรับความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบและสอบเทียบ
5. ISO 7218 จุลชีววิทยาของอาหารและอาหารสัตว์ – กฎทั่วไปสำหรับการตรวจทางจุลชีววิทยา
6. โปรโตคอลและคำแนะนำของการตรวจรับรองการติดตั้ง (Installation Qualification หรือ IQ) / การตรวจรับรองการทำงาน (Operational Qualification หรือ OQ) สำหรับระบบตรวจจับโมเลกุลของ Neogen
7. เอกสารข้อมูลจำเพาะทางเทคนิคของ Neogen Quantitative Rapid Enrichment Dehydrated Media (QRED500)

คำอธิบายสัญลักษณ์

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

© Neogen Corporation 2024 สงวนลิขสิทธิ์ Neogen เป็นเครื่องหมายการค้าจดทะเบียนของ Neogen Corporation สิทธิบัตร: neogen.com/patents

제품 지침

Neogen® Molecular Detection Assay 2Q - 정량 *살모넬라* 스크리닝 키트

제품 설명 및 사용 목적

Neogen® Molecular Detection Assay 2Q - 정량 *살모넬라*(MDA2QSAL96) 키트는 Neogen® 정량적 신속 증균 배지(QRED500) 및 Neogen® 분자 검출 시스템 (Neogen® Molecular Detection System)과 함께 사용하여 증균배양 한 닭 도체 세척액 및 생 가금류 분쇄육 샘플에서 *살모넬라*를 신속하게 정량 분석합니다. Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 키트 및 Neogen® 분자 검출 시스템 소프트웨어 (Neogen® Molecular Detection System Software)를 통해 액세스되는 모델 애플리케이션. Neogen® Molecular Detection System Software 에서 얻은 결과는 닭 도체 세척액 및 생 가금류 분쇄육 매트릭스에서 *살모넬라* 균의 양을 평가하는 데 사용됩니다.

이 분석법은루프 매개 등온증폭법과 생체발광 검출법을 기반으로 높은 특이성과 민감도를 나타내고 신속한 핵산 증폭 검출을 가능하게 합니다. 양성으로 추정되는 결과는 실시간으로 보고됩니다. 분석이 완료되면 검출 한계 미만의 결과는 음성으로 표시됩니다. 추정 양성 결과는 선호하는 방법 또는 현지 규정에 의해 지정된 방법을 사용하여 확인되어야 합니다[1, 2, 3].

Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*는 실험기법을 훈련받은 전문가가 실험실 환경에서 사용하기 위한 것입니다. Neogen은 식품 또는 음료 이외의 산업에서 이 제품의 사용을 서류로 입증하지 않습니다. 예를 들어, Neogen은 제약, 화장품, 임상 또는 수의학 샘플을 테스트하기 위해 이 제품을 서류로 입증하지 않습니다. Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*는 모든 식품, 공정, 테스트 프로토콜 또는 모든 박테리아 균주에 입증되지 않았습니다. 모든 실험 방법과 마찬가지로 증균 배지의 공급원, 제형, 품질은 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. 샘플링 방법, 테스트 프로토콜, 샘플 준비, 취급 및 실험실 기술과 같은 요인도 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. Neogen은 특정 식품에서 미생물적 한계를 포함한 충분한 수의 샘플을 사용하여 사용자 환경에서 배양 배지를 포함한 방법을 평가할 것을 권장합니다. 이를 통해 해당 방법이 사용자의 기준을 충족하는지 확인할 수 있습니다.

Neogen은 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*를 Neogen® 펩톤식염완충액(BPW), Neogen® 중화 펩톤식염완충액(nBPW) 및 Neogen 정량적 신속 증균 배지(QRED500)로 평가했습니다.

Neogen® 분자 검출 기기는 분석 용해 단계 동안에 샘플에서 미생물의 존재를 파괴하기 위해 고안된 열처리를 한 샘플과 함께 사용하기 위한 것입니다.

분석 용해 단계 동안에 충분히 열처리되지 않은 샘플은 잠재적인 생물학적 위험이 있는 것으로 간주될 수 있으며 Neogen® 분자 검출 기기에 삽입해서는 안 됩니다.

Neogen Food Safety는 설계 및 제조에 대해 ISO(International Organization for Standardization 국제표준화기구) 9001 인증을 받았습니다.

Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 테스트 키트에는 표 1에 설명된 96회 시험분이 포함되어 있습니다.

표 1. 키트 구성 요소

항목	식별	수량	내용물	비고
용해액(LS) 튜브	투명 튜브에 들어있는 분홍색 용액	96개(8개 튜브가 12줄)	튜브당 580µL의 LS	랙에 꽂혀 있고 바로 사용 가능함
정량 *살모넬라* 시약 튜브	녹색 튜브	96개(8개 튜브가 12줄)	동결건조된 특정 증폭 및 검출 혼합물	바로 사용 가능함
여분 캡	녹색 캡	96개(8개 캡이 12줄)		바로 사용 가능함
시약 대조군 (RC)	뚜껑을 밀어 올려서 여는 투명한 튜브	16개(개별 튜브 8개가 들어 있는 파우치 2개)	동결건조된 대조군 DNA, 증폭 및 검출 혼합물	바로 사용 가능함

음성 대조군은 예를 들어 BPW, nBPW 또는 QRED500과 같은 멸균 증균 배지이며 키트에서 제공되지 않습니다. 물을 음성 대조군으로 사용하지 마십시오.

안전

사용자는 Neogen 분자 검출 시스템 및 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*를 위한 지침에 있는 안전 정보 일체를 숙지하고 따라야 합니다. 나중에 참조할 수 있도록 안전 지침을 보관하십시오.

⚠ **경고:**	피하지 않을 경우 사망이나 중상 및/또는 재산 피해를 초래할 수 있는 위험한 상황을 나타냅니다.
⚠ **주의:**	피하지 않을 경우, 경도 또는 중등도의 상해를 초래할 수 있는 위험한 상황을 나타냅니다.
알림:	피하지 않을 경우 재산 피해를 초래할 수 있는 잠재적으로 위험한 상황을 나타냅니다.

⚠ 경고

Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 프로토콜에는 중단 지점이 없습니다. 샘플은 증균이 완료된 후 완전히 분석해야 합니다 (표 2의 프로토콜 참조).

사람이나 동물의 상태 진단에 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*를 사용하지 마십시오.

사용자는 현재 적절한 테스트 기술에 대해 직원을 훈련시켜야 합니다. 예를 들면 우수실험실 운영 규정(Good Laboratory Practices), ISO/IEC 17025[4] 또는 ISO 7218[5]이 있습니다.

오염된 제품 출시로 이어지는 정량 한계 미만(LOQ) 결과와 관련된 위험 피하기:

- Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 분석의 LOQ 미만 결과를 음성 *살모넬라* 결과로 해석하지 마십시오. LOQ 결과 미만의 결과는 *살모넬라*가 완전히 없음을 나타내는 것이 아니라 *살모넬라* 수준(존재하는 경우)이 이 방법의 LOQ 미만임을 나타냅니다.
- 프로토콜을 따르고 테스트를 제품 지침에 명시된 대로 정확하게 수행하십시오.
- 항상 보정된 마이크로피펫을 사용하십시오.
- Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*는 내부 또는 제3자에 의해 검증된 식품과 함께 사용하십시오.

- Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*를 포장 및 제품 지침에 표시된 대로 보관하십시오.
- Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*를 유효 기간까지만 사용하십시오.
- Neogen® Molecular Detection Assay 2 - *살모넬라*(MDA2SAL96) **정성적** 분석의 이 제품 지침에 설명된 샘플 증균을 사용하지 마십시오. 이 제품 지침에 포함된 증균제는 이 **정량적** 분석 전용으로 특별히 개발된 것입니다.

화학물질 및 생물학적 위험물질에 대한 노출과 관련된 위험 줄이기:

- 교육을 받은 직원의 통제 하에 적절한 장비를 갖춘 실험실에서 병원균 테스트를 수행합니다. 배양된 증균 배지 및 장비 또는 배양된 증균 배지와 접촉한 표면에는 인체 건강에 위험을 초래하기에 충분한 수준의 병원체가 포함되어 있을 수 있습니다.
- 이 절차에서는 일정 수준 이상의 병원체 미생물 및/또는 이러한 미생물의 대사 산물을 사용/검출합니다. 전염성 에어로졸을 섭취 또는 흡입하거나 피부에 접촉하지 않도록 주의해야 합니다. 시약 및 오염된 샘플을 취급할 때는 적절한 보호복 및 눈의 보호를 포함하여 항상 실험실 안전 표준 관행을 따르십시오.
- 증폭 후 증균 배지 및 시약 튜브의 내용물과의 접촉을 피하십시오.
- 증균 샘플은 현재 산업 표준에 따라 폐기하십시오.
- 분석 용해 단계 동안에 충분히 열처리되지 않은 샘플은 잠재적인 생물학적 위험이 있는 것으로 간주될 수 있으며 Neogen® 분자 검출 기기에 삽입해서는 안 됩니다.
- 분석을 준비하는 동안 교차오염과 관련된 위험 피하기:
- 항상 장갑을 착용하십시오(사용자를 보호하고 뉴클레아제 유입을 방지하기 위함).

환경 오염과 관련된 위험 줄이기:

오염된 폐기물 처리에 대한 현재 산업 표준을 따르십시오.

⚠ 주의

뜨거운 액체에 대한 노출과 관련된 위험 줄이기:

- 히터에 설정된 권장 온도를 초과하지 마십시오.
- 권장 가열 시간을 초과하지 마십시오.

Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트 온도를 검증하기 위해 적절하고 보정된 온도계를 사용하십시오(예를 들어 담금선이 있는 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 담금선이 없는 온도계는 아님). 온도계는 Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트의 지정된 위치에 위치해야 합니다.

알림

분석을 준비하는 동안 교차오염과 관련된 위험 피하기:

- 시약 펠릿 수화 전에 장갑을 교체하십시오.
- 멸균된 에어로졸 장벽(여과됨), 분자 생물학 등급의 피펫 팁 사용이 권장됩니다.
- 모든 단계별 샘플 주입 시 새 피펫 팁을 사용하십시오.
- 원심분리 처리 단계와 샘플을 증균 튜브에서 용해 튜브로 옮겨 담을 때 비임상시험관리기준을 사용하십시오. 피펫터 오염을 방지하기 위해 사용자는 중간 이송 단계를 추가하도록 선택할 수 있습니다. 예를 들어, 사용자는 각 증균 샘플을 멸균 튜브로 이송시킬 수 있습니다.
- 가능한 경우 살균 램프가 포함된 분자 생물학 워크스테이션을 사용하십시오. 정기적으로 실험실 벤치 및 장비(피펫, 캡/디캡 도구 등)의 오염을 1–5%(물에 대한 부피 백분율) 가정용 표백제 용액 또는 DNA 제거 용액으로 제거하십시오.

위양성 결과와 관련된 위험 줄이기:

- 증폭 후 절대 튜브를 열지 마십시오.
- 오염된 튜브는 항상 1–5%(물에 대한 부피 백분율) 가정용 표백제 용액에 1시간 동안 담가 놓았다가 분석 준비 영역으로부터 떨어진 곳에 폐기하십시오.
- 분석이 끝난 시약튜브를 절대 고압 멸균하지 마십시오.
- 항상 보정된 마이크로피펫을 사용하십시오.

추가 정보는 물질안전보건자료를 참고하고 폐기는 현지 규정을 참고하십시오.

특정 애플리케이션 또는 절차에 대한 질문이 있으면, neogen.com 웹사이트를 참조하거나 지역 Neogen 담당자 또는 Neogen 공인 대리점에 문의하십시오.

사용자 책임 사항

사용자는 제품 지침 및 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 자세한 내용은 neogen.com 웹사이트를 참조하거나 지역 Neogen 담당자 또는 Neogen 공인 대리점에 문의하십시오.

검사 방법을 선택할 때는 샘플 채취 방법, 검사 프로토콜, 샘플 준비, 취급, 실험실 기술 및 샘플 자체와 같은 외부적 요인이 결과에 영향을 미칠 수 있음을 인지하고 있어야 합니다.

선택한 테스트 방법이 사용자의 기준을 충족하여 사용자를 만족시키도록 적절한 매트릭스 및 미생물 부하로 충분한 수의 샘플을 평가하기 위해 테스트 방법 또는 제품을 선택하는 것은 사용자의 책임입니다.

또한 모든 테스트 방법과 결과가 고객 및 공급 업체의 요구 사항을 충족하는지 확인하는 것은 사용자의 책임입니다.

모든 테스트 방법과 마찬가지로, 모든 Neogen Food Safety 제품으로부터 획득된 결과는 테스트된 매트릭스 또는 공정의 품질을 보장하는 것이 아닙니다.

고객들이 여러 식품 매트릭스에 대한 방법을 평가하는 데 도움이 되기 위해, Neogen은 Neogen® 분자 검출 Matrix Control 키트를 개발하였습니다. 필요한 경우, 매트릭스 대조군(MC)을 매트릭스가 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 결과에 영향을 미칠 수 있는지 확인하십시오. Neogen 방법을 적용할 때 또는 새롭거나 알려지지 않은 매트릭스 혹은 원재료나 공정 변화가 있는 매트릭스를 테스트할 때 모든 검증 기간 동안에 매트릭스를 대표하는, 즉 각기 다른 유래로부터 획득된 샘플인 여러 샘플을 테스트하십시오.

매트릭스는 조성 및 공정 같은 내재적 특성이 있는 제품의 한 유형으로 정의될 수 있습니다. 매트릭스 간의 차이는 가공 또는 제공 방식의 차이에서 비롯된 간단한 차이일 수 있습니다. 예를 들어, 원료(raw) vs. 저온살균(pasteurized), 신선(fresh) vs. 건조(dried) 등의 차이가 이에 해당합니다.

보증의 제한 / 제한적 구제

개별 제품 포장의 제한된 보증 섹션에 명백하게 명시된 것을 제외하고, Neogen은 상품성 보증 또는 특정 사용에 대한 적합성을 포함하되 그에 국한되지 않고 모든 명시적 및 묵시적 보증을 거부합니다. Neogen Food Safety 제품에 결함이 있는 경우 Neogen 또는 공인 대리점은 재량에 따라 해당 제품 구매 가격을 교체하거나 환불합니다. 이러한 것들은 귀하의 배타적 구제수단입니다. 귀하는 제품에서 의심되는 결함을 발견한 날로부터 60일 이내에 Neogen에 즉시 통지하고 Neogen에 해당 제품을 반환해야 합니다. 추가 질문이 있으시면 Neogen Food Safety 담당자 또는 Neogen 공인 대리점에 문의하십시오.

Neogen 법적 책임의 한계

Neogen은 이익 손실을 포함하되 그에 국한되지 않는 직접, 간접, 특별, 우발 또는 중대한 손해에 관계없이 모든 손실 또는 손해에 대해 책임이 없습니다. 어떠한 경우에도 법적 이론에 따른 Neogen의 책임은 결함이 있다고 주장되는 제품의 구매 가격을 초과하지 않습니다.

보관 및 폐기

Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 키트는 2~8°C에서 보관합니다. 얼리지 마십시오. 보관하는 동안 키트에 빛이 닿지 않게 하십시오. 키트를 개봉한 후 포일 파우치가 손상되지 않았는지 확인하십시오. 파우치가 훼손된 경우에는 사용하지 마십시오. 개봉 후 사용하지 않은 시약 튜브는 동결건조된 시약의 안정성을 유지하기 위해 항상 건조제가 들어 있는 재밀봉 가능한 파우치에 보관해야 합니다. 재밀봉된 파우치는 2–8°C에서 60일이 넘지 않도록 보관하십시오. 유효 기간이 경과한 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라*는 사용하지 마십시오. 유효 기간과 로트 번호는 상자의 외부 라벨에 표시되어 있습니다. 사용 후, 증균 배지 및 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 튜브는 잠재적으로 병원성 물질을 포함할 수 있습니다. 테스트가 완료되면 오염된 폐기물 처리에 대한 현지 규정을 따르십시오. 추가 정보는 물질안전보건자료를 참조하십시오.

사용 지침

모든 지침을 주의 깊게 따르십시오. 그렇게 하지 않으면 부정확한 결과가 발생할 수 있습니다.

정기적으로 실험실 벤치 및 장비(피펫, 캡/디캡 도구 등)의 오염을 1–5%(물에 대한 부피 백분율) 가정용 표백제 용액 또는 DNA 제거 용액으로 제거하십시오.

사용자는 "설치 적격성 평가(IQ) / 운전 적격성 평가(OQ) 프로토콜 및 Neogen 분자 검출 시스템" 문서[6]지침에 설명된 대로, Neogen 분자 검출 시스템 운전 적격성 평가(OQ) 훈련을 완료해야 합니다.

특정 요구사항에 대해서는 "검증된 방법에 대한 특정 지침" 섹션을 참조하십시오.

생 닭고기/칠면조 분쇄육의 *살모넬라* 정량

1. 생 닭고기 또는 칠면조 분쇄육 325g의 무게를 측정하고 멸균 백에 넣습니다.
2. 펩톤식염완충액(BPW) 400mL를 추가합니다.
3. 180rpm으로 1분간 저어 완전히 균질화합니다.
4. 생 닭고기 또는 칠면조 분쇄육 균질액 30mL를 샘플 백에 옮깁니다.
5. 42°C로 예열된 Neogen® 정량적 신속 증균 배지(QRED500)(정량적 신속 증균 배지 기술 사양서 참조)[7] 30mL를 추가합니다. 이를 '샘플'이라고 합니다.
6. 표 2의 증균 조건에 따라 '샘플'을 배양합니다.
7. 증균 후 인큐베이터에서 샘플을 꺼내 잘 섞습니다.
8. 혼합 직후 샘플 1.5mL를 바닥이 원뿔형인 2mL 마이크로원심분리기 튜브에 분주합니다.
9. 미니 원심분리기에서 7,000 x g으로 5분간 원심분리하여 미립자를 펠릿화합니다.
10. 펠릿을 건드리지 않고 상층액을 조심스럽게 버립니다. 튜브를 부드럽게 뒤집고 종이 타월로 두드려 남은 상층액을 제거합니다.
11. 펠릿을 300µL의 QRED500에 재현탁시킵니다.
12. 펠릿이 QRED500에 완전히 재현탁될 때까지 vortex합니다.
13. Neogen® Molecular Detection Assay 2Q - 정량 *살모넬라*를 사용하여 12번 단계로부터의 재현탁 펠릿 샘플 50µL를 분석합니다.

닭 도체 세척액에서 *살모넬라*의 정량

1. 닭 도체 1마리를 멸균 가금류 세척액 백에 넣습니다.
2. 400mL의 Neogen 중화 펩톤식염완충액(nBPW) 또는 펩톤식염완충액(BPW)를 추가합니다(표 2 참조).
3. 내용물을 1분 동안 섞어 도체를 헹굽니다.
4. 세척액 30mL를 샘플 백에 옮깁니다.
5. 42°C로 예열된 Neogen 정량적 신속 증균 배지(QRED500)(정량적 신속 증균 배지 기술 사양서 참조)(6) 30mL를 추가합니다. 이를 '샘플'이라고 합니다.
6. 표 2의 증균 조건에 따라 샘플을 배양합니다.
7. 증균 후 인큐베이터에서 샘플을 꺼내 잘 섞습니다.
8. 혼합 직후 샘플 1.5mL를 바닥이 원뿔형인 2mL 마이크로원심분리기 튜브에 분주합니다.
9. 미니 원심분리기에서 5,000 x g으로 5분간 원심분리하여 미립자를 펠릿화합니다.
10. 펠릿을 건드리지 않고 상층액을 조심스럽게 버립니다. 튜브를 부드럽게 뒤집고 종이 타월로 두드려 남은 상층액을 제거합니다.
11. 펠릿을 100µL 의 QRED500에 재현탁시킵니다.
12. 펠릿이 QRED500에 완전히 재현탁될 때까지 vortex합니다.
13. Neogen® Molecular Detection Assay 2Q - 정량 *살모넬라*를 사용하여 12번 단계로부터의 재현탁 펠릿 샘플 50µL를 분석합니다.

표 2는 닭 도체 헹굼 및 생 가금류 분쇄육 샘플에 대한 일반적인 증균 프로토콜에 대한 지침을 제시합니다. 이 테스트 방법이 사용자의 기준을 충족하도록 보장하는 대체 샘플링 프로토콜 또는 희석 비율의 검증은 사용자의 책임입니다.

표 2. 일반적인 증균 프로토콜.

샘플 매트릭스	샘플 크기	균질화 (첫번째 단계)	증균	증균 온도	증균 시간	펠릿 재현탁	샘플 분석량[a]
생 닭고기 분쇄육	325g	BPW 400mL	균질액 30mL + QRED 30mL	42 ± 1°C	6시간	300µL	50µL
생 칠면조 분쇄육	325g	BPW 400mL	균질액 30mL + QRED 30 mL	42 ± 1°C	5시간	300µL	50µL
닭 도체 세척	30mL	nBPW 400mL	nBPW 세척액 30mL + QRED 30mL	42 ± 1°C	6시간	100µL	50µL
닭 도체 세척	30mL	BPW 400mL	BPW 세척액 30mL + QRED 30 mL	42 ± 1°C	5시간	100µL	50µL

(a) 용해 용액 튜브로 옮겨진 샘플의 부피. 용해 섹션의 4.5단계를 참조하십시오.

Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이의 준비

1. 1~5%(물에 대한 부피 백분율) 가정용 표백제 용액으로 천 또는 일회용 타월을 적셔 Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이를 닦습니다.
2. Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이를 물로 씻어냅니다.
3. Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이를 일회용 타월을 사용하여 닦아 건조시킵니다.
4. Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이가 사용 전에 확실히 건조되어 있도록 합니다.

Neogen® 분자 검출 냉각 블록 인서트의 준비

Neogen® 분자 검출 냉각 블록 인서트를 실험실 벤치 위에 직접 올려 놓습니다. 주변 실험실 온도(20~25°C)에서 블록을 사용하십시오.

Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트의 준비

Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트를 건조한 이중 블록 히터 장치에 놓습니다. 건조 블록 히터 장치를 켜고 Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트가 100 ± 1°C의 온도에 도달하고 유지할 수 있도록 온도를 설정합니다.

참고: 히터 장치에 따라 Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트가 온도에 도달할 때까지 약 30분 정도 기다립니다. 지정된 위치에 설치된 적절하고 보정된 온도계를 사용하여(예를 들어 담금선이 있는 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 담금선이 없는 온도계는 아님), Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트가 100 ± 1°C인 것을 확인하십시오.

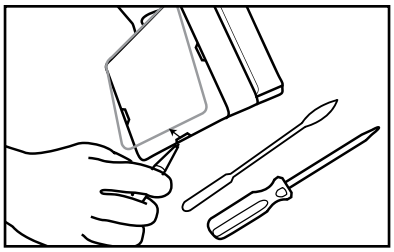
Neogen® 분자 검출기의 준비

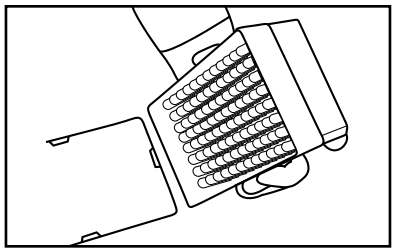
1. Neogen® 분자 검출 소프트웨어를 실행하고 로그인하십시오. 정량 분석이 포함된 가장 최신 소프트웨어인지 확인하려면 Neogen Food Safety 담장자에게 문의하십시오.
2. Neogen® 분자 검출기를 켭니다.
3. 각 샘플에 대한 데이터가 있는 실행을 만들거나 편집합니다. 자세한 내용은 Neogen® 분자 검출 시스템 사용 설명서 및 MDA2QSAL96 소프트웨어 기술 게시판을 참조하십시오.

참고: Neogen® 분자 검출기는 반응 튜브가 있는 Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이를 삽입하기 전에 60°C의 온도에 도달하고 유지해야 합니다. 이 가열 단계는 약 20분이 소요되며 기기의 상태 표시줄에 주황색 표시등이 표시됩니다. 기기가 실행을 시작할 준비가 되면 상태 표시줄이 녹색으로 바뀝니다.

용해

1. 드라이버나 스패출러로 Neogen® 용해 용액 랙의 바닥을 제거한 후 Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트에 넣습니다.

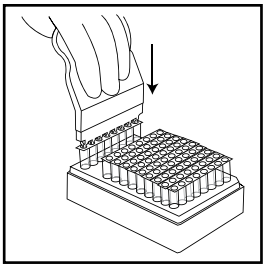
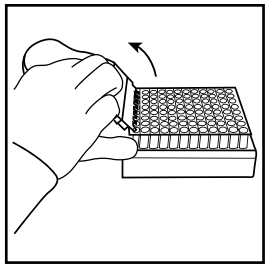
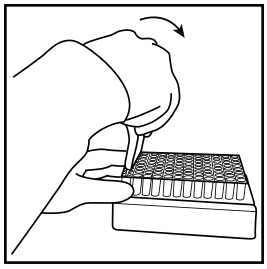
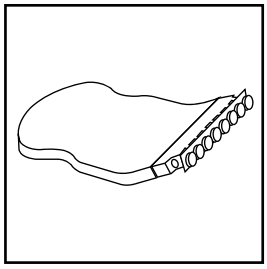
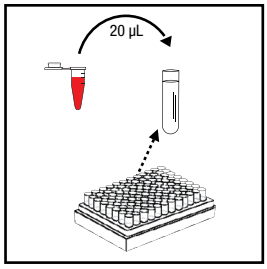




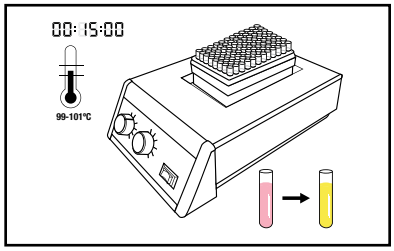
2. 랙을 실온(20~25°C)에서 하룻밤 동안(16~18시간) 놓아 두어 용해 용액(LS) 튜브를 예열합니다. LS 튜브가 실온과 평형을 이루도록 하는 것의 대체 방법으로, LS 튜브를 실험실 벤치 위에 최소 2시간 동안 놓아 두었다가 LS 튜브를 37 ±1°C에서 1시간 동안 배양하거나 튜브를 건조한 이중 블록 가열기에 100°C에서 30초간 두는 것입니다.
3. 캡이 있는 튜브를 뒤집어 혼합합니다. 4시간 이내에 다음 단계로 진행합니다.
4. 각 샘플 및 음성 대조군(NC) 샘플(멸균 증균 배지)당 하나의 LS 튜브가 필요합니다.
   4.1 LS 튜브 스트립은 원하는 LS 튜브 수로 절단할 수 있습니다. 필요한 개별 LS 튜브 또는 8튜브 스트립의 수를 선택합니다. LS 튜브를 빈 랙에 놓습니다.
   4.2 Neogen® 분자 검출 캡/디캡 도구(용해용)을 사용하여 하나의 LS 튜브 스트립의 캡을 제거합니다.
   4.3 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 하나의 LS 튜브 스트립의 캡을 제거하고 각 샘플을 옮겨 담을 때마다 새 피펫 팁을 사용하십시오.
   4.4 LS 튜브 캡을 폐기합니다.
   4.5 재현탁 펠릿 샘플 50µL를 LS 튜브로 옮깁니다.

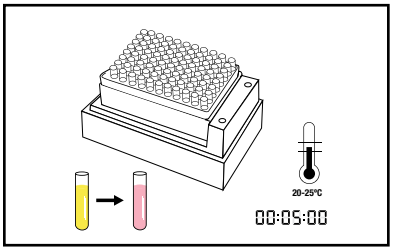
먼저 각 재현탁 펠릿 샘플 **50µL**를 개별 LS 튜브 로 옮깁니다. NC를 **마지막에** 옮기십시오.

5. 각각의 샘플이 스트립의 해당 LS 튜브에 주입될 때까지 2~5단계를 반복합니다.

6. 테스트할 샘플의 수에 따라 1 단계에서 5 단계까지 필요한 만큼 반복하십시오.
7. 모든 샘플이 옮겨지면 50µL의 NC(멸균 QRED500)를 LS 튜브로 옮깁니다. 물을 NC로 사용하지 마십시오.
8. Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트의 온도가 100 ± 1°C인지 확인하십시오.
9. LS 튜브를 랙이 있는 채로 Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트에서 놓고 15 ±1분간 가열합니다. 가열하는 동안, LS 용액은 분홍색(냉각됨)에서 노란색(가열됨)으로 변합니다.
   분석 용해 단계 동안에 충분히 열처리되지 않은 샘플은 잠재적인 생물학적 위험이 있는 것으로 간주될 수 있으며 Neogen® 분자 검출 기기에 삽입해서는 안 됩니다.
10. 캡이 제거된 LS 튜브가 담긴 랙을 히팅 블록에서 제거하고 Neogen® 분자 검출 냉각 블록 인서트에서 최소 5분에서 최대 10분 동안 식힙니다. Neogen® 분자 검출 냉각 블록 트레이 없이 상온에서 사용되는 분자 검출 냉각 블록 인서트는 실험실 벤치에 직접 놓아야 합니다. 냉각되면, 용해 용액이 분홍색으로 되돌아갑니다.
11. Neogen® 분자 검출 냉각 블록 인서트에서 LS 튜브 랙을 제거합니다.



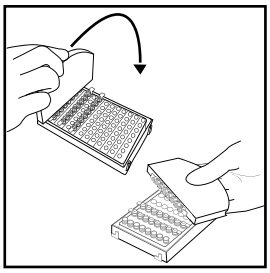


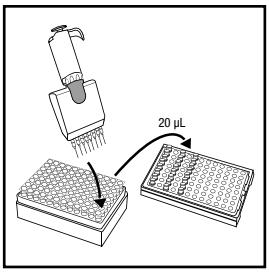
증폭

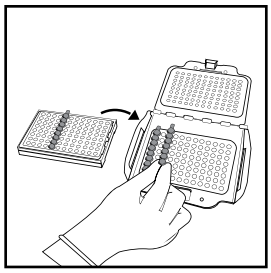
1. 각 샘플과 NC에 대해 1개의 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 시약 튜브가 필요합니다.
   1.1 시약 튜브 스트립은 원하는 튜브 수로 절단할 수 있습니다. 필요한 개별 시약 튜브 또는 8튜브 스트립의 수를 선택합니다.
   1.2 시약 튜브를 빈 랙에 놓습니다.
   1.3 튜브 바닥의 시약 펠릿을 흩뜨리지 않도록 하십시오.
2 시약 대조군(RC) 튜브 하나를 선택하여 랙에 위치시키십시오.
3. 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 하나의 시약 튜브 스트립의 캡을 제거하고 각 분주 단계마다 새 피펫 팁을 사용하십시오.
4. 아래에 설명된 대로 각 용해물을 옮깁니다.

각 샘플 용해물을 20µL씩 개별 시약 튜브에 먼저 옮긴 다음 NC로 옮깁니다. RC 튜브에 마지막으로 물을 채웁니다.

5. Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 시약 튜브의 캡을 제거하기 위해 Neogen® 분자 검출 캡/디캡 도구(시약용)을 사용하십시오. 한 번에 하나의 시약 튜브 스트립의 캡을 제거합니다. 캡을 폐기합니다.
   5.1 Neogen® 용해 용액 튜브에서 액체의 상부 ½의 샘플 용해물 20µL(침전물이 피할 것)를 해당하는 시약 튜브 안으로 옮깁니다. 펠릿을 흩뜨리지 않도록 비스듬히 분주합니다. 부드럽게 위아래로 5회 피펫팅하여 혼합하십시오.
   5.2 모든 각각의 샘플 용해물이 해당하는 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라 시약* 튜브에 추가될 때까지 5.1 단계를 반복하십시오.
   5.3 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라 시약* 튜브를 제공된 여분의 캡으로 덮고 Neogen® 분자 검출 캡/디캡 도구(시약용)의 둥근 면을 사용하여 앞뒤로 움직이면서 압력을 가하여 캡이 단단하게 밀착되도록 고정하십시오.
   5.4 테스트할 샘플의 수에 따라 5.1 단계에서 5.3 단계까지 필요한 만큼 반복하십시오.
   5.5 모든 샘플 용해물이 옮겨지면 뚜껑이 덮인 시약 튜브를 2초 동안 교반하여 혼합한 다음 미니 원심분리기에서 10초 동안 스핀다운하여 모든 액체가 튜브 바닥에 떨어지도록 합니다.
   5.6 20 µL의 NC 용해물을 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 시약 튜브에 옮기고 또 다른 20 µL의 NC 용해물을 RC 튜브에 옮깁니다. 펠릿을 흩뜨리지 않도록 비스듬히 분주합니다. 부드럽게 위아래로 5회 피펫팅하여 혼합하십시오.
6. 캡이 있는 튜브를 깨끗하고 오염이 제거된 Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이에 넣습니다. Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이 뚜껑을 닫고 잠급니다.







7. Neogen® 분자 검출 소프트웨어 정량 분석에서 구성을 검토하고 확인하십시오.
8. 소프트웨어에서 시작 버튼을 클릭하고 사용할 기기를 선택합니다. 선택한 기기의 뚜껑은 자동으로 개봉됩니다.
9. Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이를 Neogen® 분자 검출기에 넣고 뚜껑을 닫아 분석을 시작합니다. 결과는 60분 이내에 제공되지만 양성의 경우 더 빨리 감지될 수 있습니다.

10. 분석이 완료된 후, Neogen® 분자 검출 스피드 로더 트레이를 Neogen® 분자 검출 기기에서 제거하고 시약 튜브는 항상 1–5%(물에 대한 부피 백분율) 가정용 표백제 용액에 1시간 동안 담궈 놓았다가 분석 준비 지역으로부터 떨어진 곳에 폐기하십시오.

알림: 교차 오염으로 인한 위양성 위험을 최소화하려면 증폭된 DNA가 들어 있는 시약 튜브를 절대 열지 마십시오. 여기에는 Neogen® Molecular Detection Assay 2Q – 정량 *살모넬라* 시약 튜브, Neogen 시약 대조군, Neogen 매트릭스 대조군 튜브가 포함됩니다. 밀봉된 시약 튜브는 항상 1–5%(물에 대한 부피 백분율) 가정용 표백제 용액에 1시간 동안 담궈 놓았다가 분석 준비 지역으로부터 떨어진 곳에 폐기하십시오.

결과 및 해석

결과는 소프트웨어에 의한 고유한 곡선 매개변수 분석에 의해 결정됩니다.

참고 문헌:

1. 미국 식품의약국 세균학적 분석 매뉴얼. 챕터 5: *살모넬라*, 2023년 9월 버전.
2. 미국 농무부(USDA) FSIS 미생물학 실험실 가이드북 4.14. 육류, 가금류, 저온 살균 계란, 도체 및 환경 스폰지에서 *살모넬라*의 분리 및 식별. 효력 발생일: 2023년 6월 5일.
3. ISO 6579. 식품 및 동물 사료의 미생물학 – *살모넬라* spp 검출을 위한 수평적 방법.
4. ISO/IEC 17025. 테스트 및 교정 실험실의 역량에 대한 일반 요구 사항.
5. ISO 7218. 식품 및 동물 사료의 미생물학 – 미생물 검사에 대한 일반 규칙.
6. Neogen® 분자 검출 시스템에 대한 Neogen 설치 적격성 평가(IQ) / 운영 적격성 평가(OQ) 프로토콜 및 지침.
7. Neogen® 정량적 신속 증균 탈수 배지(QRED500) 기술 사양서.

기호 설명

info.neogen.com/symbols

Neogen Food Safety

Neogen Corporation
620 Lesher Place
Lansing, MI 48912 USA
neogen.com

Neogen Europe Ltd.
The Dairy School
Auchincruive
Ayr, KA6 5HU
Scotland, UK

Neogen Ireland, Ltd.
Bray Business Park, Bray
Co. Wicklow
A98YV29, Ireland

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved. Neogen은 Neogen Corporation의 등록 상표입니다. 특허: neogen.com/patents.