SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

현장을 이해하고, 필요한 솔루션을 연결합니다.

산업안전 · 추락방지 시스템
산업용 소재 · 건축자재
제품 제안부터 공급·시공·설치·교육까지



COMPANY INFORMATION

스냅슛 (SNAPSHOOT)

ADDRESS (15431) 경기도 안산시 단원구 풍전로 37-9 트리플렉스 301동 118호
TEL 0507-1374-9229
FAX 0504-481-6749
E-MAIL bkkim@snapshoot.co.kr

TECHNICAL DOCUMENTS

인증서 · 데이터시트 · 기술자료

제품의 규격과 성능, 인증 및 적용 조건을 확인하기 위한 자료입니다.

ABOUT SNAPSHOOT

제품 공급을 넘어, 현장에 맞는 해결책으로

스냅슛은 산업현장의 작업 환경과 요구 조건을 바탕으로
적합한 제품과 시스템을 제안합니다. 현장 실사를 통해 설치 조건을 확인하고,
공급부터 시공·설치 및 사용 교육까지 필요한 과정을 함께합니다.

추락방지 시스템

안전대부착설비 · 수평·수직 라이프라인
레일 시스템 · 리지드 포스트

밀폐공간 진입·구조 솔루션

데빗암 · 삼각대 · 구조용 윈치
윈치 안전블록 · 구조장비

산업안전 보호구

전신형 안전대 · 랜야드 · 안전블록
작업 환경에 맞춘 개인보호구

산업용 소재·건축자재

산업용 테이프 · 접착제 · 기능성 소재
구조용 스크류 · 목조건축 자재

SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

홈페이지 바로가기 →
문서 라이브러리 바로가기 →
시공사례 바로가기 →
문의하기 →

본 페이지는 스냅슛의 자료 제공 안내용 표지입니다. 첨부된 인증서 및 기술자료의 발행 주체, 인증 대상과 적용 범위는 해당 원문을 기준으로 확인해 주세요.

NEOGEN®

Product Instructions
MDA2CAM96

- (EN) Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter*
- (FR) Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter*
- (DE) Molekularer Detektions Assay 2 – *Campylobacter*
- (IT) Analisi molecolare di seconda generazione per il rilevamento di *Campylobacter*
- (ES) Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter*
- (NL) Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter*
- (SE) Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter*
- (DA) Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*
- (NO) Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*
- (FI) Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter*
- (PT) Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*
- (EL) Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - Campylobacter
- (PL) Molekularny test do wykrywania 2 – *Campylobacter*
- (RU) Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*
- (TR) Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*
- (JA) 分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*
- (ZH) 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*
- (TH) ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์*
- (KO) 분자검출키트 2 - *캠필로박터*
- (ID) Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter*

NEOGEN

Product Instructions

Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter*

Product Description and Intended Use

The Neogen® Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* is used with the Neogen® Molecular Detection System for the rapid and specific detection of *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* and *Campylobacter coli* in enriched foods and food process environmental samples.

The Neogen Molecular Detection 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 while negative results are displayed after the assay is completed. Presumptive positive results should be confirmed using your preferred method or as specified by local regulations [1,2].

The Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* 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 2 - *Campylobacter* has not been evaluated with all possible food products, food 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 2 - *Campylobacter* with the Neogen® *Campylobacter* Enrichment Broth and blood-free Bolton Enrichment Broth.

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 2 - *Campylobacter* test kit contains 96 tests, described in Table 1.

Table 1. Neogen Molecular Detection Assay Kit Components

Item	Identification	Quantity	Contents	Comments
Neogen® Lysis Solution (LS)	Pink solution in clear tubes	96 (12 strips of 8 tubes)	580 µL of LS per tube	Racked and ready to use
Neogen® Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* Reagent Tubes	Purple tubes	96 (3 pouches; containing 4 strips of 8 tubes)	Lyophilized specific amplification and detection mix	Ready to use
Extra caps	Purple caps	96 (12 strips of 8 caps)		Ready to use
Neogen® 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 (NC), not provided in the kit, is a sterile enrichment medium, e.g., Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Do not use water as a NC.

A quick start guide is available at www.neogen.com

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 2 - *Campylobacter*. 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.

NOTICE: Indicates a potentially hazardous situation which, if not avoided, could result in property damage.

⚠WARNING

Do not use the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* 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[3], ISO/IEC 17025[4], or ISO 7218[5].

To reduce the risks associated with a false-negative result leading to the release of contaminated product:

- Follow the protocol and perform the tests exactly as stated in the product instructions.
- Store the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* as indicated on the package and in the product instructions.
- Always use the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* by the expiration date.
- Prepare Neogen® *Campylobacter* Enrichment Broth following product instructions
- Do not autoclave Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth
- Use the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* with food and environmental samples that have been validated internally or by a third party.
- Use the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* only with surfaces, sanitizers, protocols and bacterial strains that have been validated internally or by a third party.
- For an environmental sample containing Neutralizing Buffer with aryl sulfonate complex, perform a 1:2 dilution before testing (1 part sample into 1 part sterile enrichment broth). Another option is to transfer 10 µL of the neutralizing buffer enrichment into the Neogen Lysis Solution tubes. Neogen® Sample Handling Products which include Neutralizing Buffer with aryl sulfonate complex: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G, and HS2410NB2G.

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.
- 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 local/regional/national/ regulatory 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 introduction of nucleases).

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 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 reagent 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.

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 www.neogen.com or contact your local Neogen representative or distributor.

User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at **www.neogen.com**, or contact your local Neogen representative or 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 Neogen Molecular Detection Matrix Control (MC) to determine if the matrix has the ability to impact the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* 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 versus pasteurized; fresh versus 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 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 2 - *Campylobacter* at 2-8°C (35-47°F). Do not freeze. Keep 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. 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 (35-47°F) for no longer than 90 days.

Do not use Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* 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 2 - *Campylobacter* tubes can potentially contain pathogenic materials. When testing is complete, follow current industry

standards for the disposal of contaminated waste. Consult the Safety Data Sheet for additional information and local regulations for disposal.

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].

Media Preparation

Prepare Neogen® *Campylobacter* Enrichment Broth (CE250) following product instructions. **Do not autoclave medium before use.** Use the prepared medium within 24 hours of preparation. Store prepared broth at 2-8°C[7] protected from light if it will not be immediately used after preparation. Ensure media is tempered to 20-30°C before use.

Sample Collection

Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth should not be used for bird rinsing or transport media. Collect and transport samples following your established sample collection procedures.

Sample Enrichment

Table 2 present guidance for general enrichment protocols for food and environmental 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.

Sample Preparation

a. Carcass rinses and raw poultry part rinses

1. Rinse one eviscerated raw poultry carcass with 400 mL of buffered peptone water (BPW) for one minute. If rinsing raw poultry parts, rinse 1.8 to 2 Kg (4 lb ± 10%) of bird parts with 400 mL of BPW[1,8].
2. For carcass and raw poultry parts, allow excess liquid to drip before rinsing the sample to avoid transferring excess processing liquid in the sample bag[8].
3. For poultry that have been treated with Cetylpyridinium chloride (CPC), it is necessary to add 5 mL per L of Polysorbate 80 (IUPAC: Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate; CAS 9005-65-6) to the prepared Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Polysorbate 80 can be added to water before sterilizing to facilitate dissolution or it can be added directly to sterile water before preparing Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.
4. Aseptically transfer 30 mL of rinse to a sterile bag and add 30 mL of Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

b. Carcass sponge

1. Sponges should be hydrated before taking the sample with up to 25 mL of BPW before taking the sample[1]. If transporting the samples ensure that the bag is roll down and kept at 2-8°C.
2. Swab poultry carcass or collect sample with sponge.
3. Place swab into a sterile bag and add 25 mL of Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Ensure that the swab or sponge is covered by the enrichment media.

c. Raw poultry products

1. Aseptically weight 325 ± 32.5 g of sample and place into a sterile bag. Add 1625 ± 32.5 mL of BPW to raw poultry product. To disperse clumps, mix thoroughly by brief hand massaging.
2. After mixing, add 30 mL of the raw poultry product mixture to a sterile bag and then add 30 mL of Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth and mix thoroughly.

d. Raw and ready-to-eat meat

1. Aseptically weight 25 g of sample and place into a sterile bag. A filter bag is recommended to facilitate sampling.
2. Add 225 mL of Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.
3. Massage by hand to break up clumps, avoid creating bubbles when mixing. Do not process the bag by stomaching or blending.

e. Primary production boot swabs

1. Collect sample with boot swabs or socks following your established sampling collection procedures.
2. Place ONE sock into a sterile bag and add 100 mL of Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

f. Drag swab

1. Collect sample with pre-moistened swab device following your established sampling collection procedures.
2. Place swab into a sterile bag and add 100 mL of Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

Incubation of Enrichment

1. Roll down the bag to minimize headspace and prevent exposure of enrichment to air. Gently massage the bag for about 10 ± 2 seconds. **Do not process the bag by stomaching or blending and avoid creating bubbles when mixing.**
2. Incubate the bag aerobically at 41.5 ± 1°C, refer to table 2 for the appropriate incubation time.

WARNING: Should you select to use neutralizing buffer that contains aryl sulfonate complex as the hydrating solution for the sponge, it is required to perform a 1:2 dilution (1 part sample into 1 part sterile enrichment broth) of the enriched environmental sample before testing in order to reduce the risks associated with a false-negative result leading to the release of contaminated product. Another option is to transfer 10 µL of the Neutralizing Buffer enrichment into the Neogen Lysis Solution tubes.

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	Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth (mL)[b]	Enrichment Temperature (± 1°C)	Enrichment Time (hours)	Sample Analysis Volume (µL)[c]
• Carcass rinses[a] • Bird part rinses[a]	30 mL of rinsate in BPW	30	41.5	22-26	20
• Carcass sponge[a]	1 sponge pre-moistened with up to 25 mL of BPW	25	41.5	22-26	20
• Raw meat • Ready-to-eat meat	25 g	225	41.5	24-28	20
• Boots swabs from primary production	1 boot swab	100	41.5	22-26	20
• Drag swab from primary production	1 pre-moistened device	100	41.5	22-26	20

(a) If birds are treated with Cetylpyridinium chloride (CPC), it is necessary to add 5 mL per L of (Polysorbate 80; IUPAC: Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate CAS 9005-65-6) to the prepared Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Polysorbate 80 can be added to water before sterilizing or it can be added to sterile water before preparing Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

(b) Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth should be used within 24 h of preparation. Medium should be at ambient temperature (25-30°C) before use.

(c) Before collecting enrichment sample for analysis, gently massage the bottom of bag. **After collecting the sample, roll down the bag to prevent exposure of the enrichment to air.** Additional sample may be required for re-testing or confirmatory steps.

Specific Instructions for Validated Methods

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) Certificate #111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

In AOAC Research Institute PTM℠ studies, the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* was found to be an effective method for the detection of *Campylobacter*. The matrices tested in the study are shown in Table 3.

Table 3. Enrichment Protocols According to AOAC PTM℠ Certificate #111803.

Sample Matrix	Sample Size	Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth (mL)[c]	Enrichment Temperature (± 1°C)	Enrichment Time (hours)	Sample Analysis Volume (µL)[d]
Whole carcass rinsed in 400 mL of BPW[a] [b]	30 mL of rinsate in BPW	30	41.5	22-26	20
Bird part (1.8 to 2 Kg) rinsed in 400 mL of BPW[a] [b]	30 mL of rinsate in BPW	30	41.5	22-26	20
Turkey carcass sponge[a] [b]	1 sponge pre-moistened with up to 25 mL of BPW	25	41.5	24-26	20
Raw ground poultry (325 ± 32.5 g) rinsed in 1625 ± 32.5 mL BPW[b]	30 mL of product mixture in BPW	30	41.5	24-28	20
Chicken nuggets	25 g	225	41.5	24-28	20

(a) If birds are treated with Cetylpyridinium chloride (CPC), it is necessary to add 5 mL per L of (Polysorbate 80; IUPAC: Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate CAS 9005-65-6) to the prepared Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Polysorbate 80 can be added to water before sterilizing or it can be added to sterile water before preparing Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

(b) Alternatively, this matrix can be enriched with 30 mL of 2X blood-free Bolton Enrichment Broth (BF-BEB) for 48 ± 2 h at 42 ± 1.0°C in microaerobic conditions. Transfer 20 µL of sample to Neogen Lysis Solution.

(c) Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth should be used within 24 h of preparation. Medium should be at ambient temperature (25-30°C) before use.

(d) Before collecting enrichment sample for analysis, gently massage the bottom of bag. **After collecting the sample, roll down the bag to prevent exposure of the enrichment to air.** Additional sample may be required for re-testing or confirmatory steps.

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: The Neogen Molecular Detection Chill Block Tray is not used. 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.

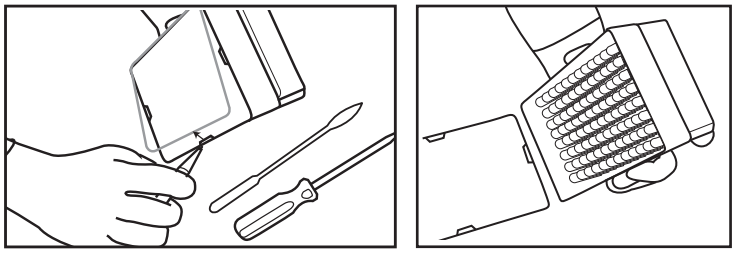
Preparation of the Neogen® Molecular Detection Instrument

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.
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 for details.

NOTE: The Neogen Molecular Detection Instrument must reach Ready state 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

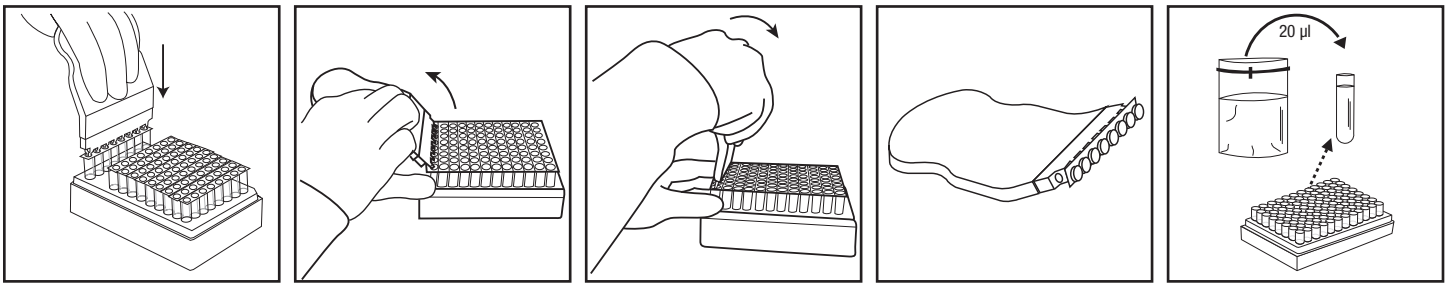
Remove the bottom of Neogen Lysis Solution Rack with a screwdriver before placing in in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert.



1. Allow the Neogen Lysis Solution tubes to warm up by setting the rack at ambient temperature (20-25°C) overnight (16-18 hours). Alternatives to equilibrate the Neogen Lysis Solution tubes to ambient temperature are to set the Neogen Lysis Solution tubes on the laboratory bench for at least 2 hours, incubate the Neogen Lysis Solution 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.
2. Invert the capped tubes to mix. Proceed to next step within 4 hours after inverting.
3. **Remove the enriched sample from the incubator.**
   - **3.1.1 Gently massage the bottom of the enrichment bag before transferring the sample to the Neogen Lysis Solution tube.**
   - **3.1.2 Additional sample may be required for re-testing or confirmatory steps. After collecting the sample, roll down the bag to minimize headspace and prevent exposure of enrichment to air. If confirmation of presumptive results is required, proceed with confirmatory steps as soon as presumptive result is obtained.**
4. One Neogen Lysis Solution tube is required for each sample and the NC sample (sterile enrichment medium).
   - 4.1 Neogen Lysis Solution tube strips can be cut to desired tube number. Select the number of tubes or 8-tube strips needed. Place the Neogen Lysis Solution tubes in an empty rack.
   - 4.2 To avoid cross-contamination, decap one Neogen Lysis Solution tube strip at a time and use a new pipette tip for each transfer step.
   - 4.3 Transfer enriched sample to Neogen Lysis Solution tubes as described below:

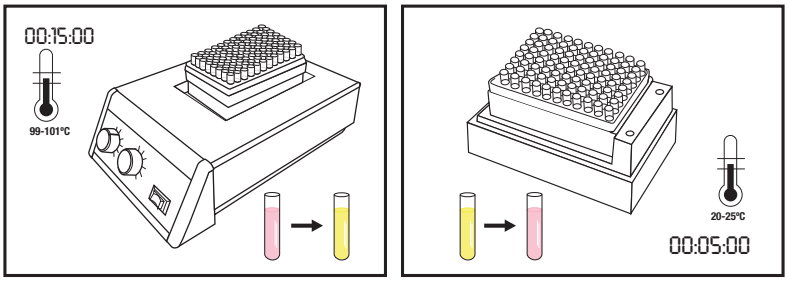
     Transfer each enriched sample into an individual Neogen Lysis Solution tube **first.** Transfer the NC **last.**

   - 4.4 Use the Neogen® Molecular Detection Cap/Decap Tool-Lysis to decap one Neogen Lysis Solution tube strip - one strip at a time.
   - 4.5 Discard the Neogen Lysis Solution tube cap - If lysate will be retained for retest, place the caps into a clean container for re-application after lysis.
     - 4.5.1 For processing of retained lysate, see Appendix A.
   - 4.6 Transfer 20 µL of sample into a Neogen Lysis Solution tube.
5. Repeat steps 4.4 to 4.6 as needed, for the number of samples to be tested.



6. When all samples have been transferred, transfer 20 µL of NC (sterile enrichment medium e.g. BPW) into Neogen Lysis Solution tube. Do not use water as a NC.
7. Verify that the temperature of the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert is at 100 ± 1°C.

8. Place the uncovered rack of Neogen Lysis Solution tubes in the Neogen Molecular Detection Heat Block Insert and heat for 15 ± 1 minutes. During heating, the Neogen Lysis Solution will change from pink (cool) to yellow (hot).
   8.1 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.
9. Remove the uncovered rack of Neogen Lysis Solution tubes from the Neogen Molecular Detection Heat 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 Detection Chill Block Insert, used at ambient temperature without the Neogen® Molecular Detection Chill Block Tray, should sit directly on the laboratory bench. When cool, the Neogen Lysis Solution will revert to a pink color.
10. Remove the rack of Neogen Lysis Solution tubes from the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert.

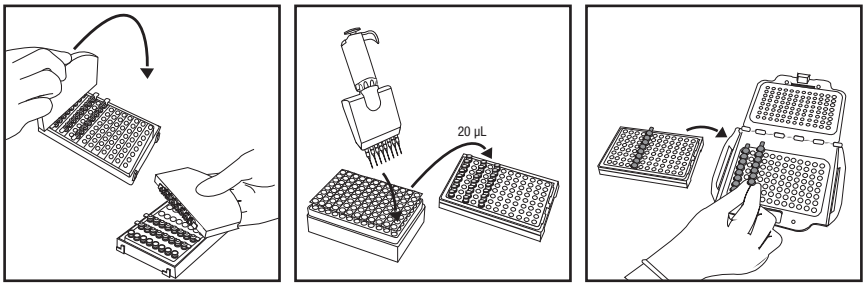


Amplification

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

Transfer each sample lysate into individual Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* Reagent Tube **first** followed by the NC. Hydrate the Neogen Reagent Control Tube **last.**

5. Use the Neogen® Molecular Detection Cap/Decap Tool-Reagent to decap the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* Reagent Tubes - one 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 Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* 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 individual sample lysate has been added to a corresponding Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* Reagent Tube in the strip.
   5.3 Cover the Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* 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, repeat 5.1 to 5.3 to transfer 20 µL of NC lysate into a Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* Reagent Tube.
   5.6 Transfer **20 µL of NC lysate into a Neogen Reagent Control 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.
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 2 - *Campylobacter* 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

An algorithm interprets the light output curve resulting from the detection of the nucleic acid amplification. Results are analysed automatically by the software and are color-coded based on the result. A Positive or Negative result is determined by analysis of a number of unique curve parameters. Presumptive Positive results are reported in real-time while Negative and Inspect results will be displayed after the run is completed.

Presumptive positive samples should be confirmed as per the laboratory standard operating procedures or by following the appropriate reference method confirmation[1,2], beginning with transfer from the primary Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth enrichment to selective *Campylobacter* plates with microaerophilic incubation, confirmation of isolates using appropriate biochemical, microscopic and serological methods. For the best maintenance of the enrichment, roll down the enrichment bag after collecting a sample.

NOTE: Even a negative sample will not give a zero reading as the system and Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* amplification reagents have a "background" relative light unit (RLU) reading.

In the rare event of any unusual light output, the algorithm labels this as Inspect. Neogen recommends the user to repeat the assay for any Inspect samples. If the result continues to be Inspect, proceed to confirmation test using your preferred method or as specified by local regulations[1,2].

Appendix A. Protocol Interruption: Storage and re-testing of heat-treated lysates

1. To store a heat-treated lysate, re-cap the Neogen Lysis Solution Tube with a clean cap (see Lysis section, 4.5)
2. Store at 2 to 8°C for up to 72 hours.
3. Prepare a stored sample for amplification by inverting 2-3 times to mix.
4. Decap the tubes.
5. Place the mixed lysate tubes on Neogen Molecular Detection Heat Block Insert and heat at 100 ± 1°C for 5 ± 1 minutes.
6. Remove the rack of Neogen Lysis Solution tubes from the Neogen Molecular Detection Heat Block and allow to cool in the Neogen Molecular Detection Chill Block Insert at least 5 minutes and a maximum of 10 minutes.
7. Continue the protocol at the **Amplification** section detailed above.

References:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contact your Neogen Food Safety representative to obtain a copy of this document.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Instructions relatives au produit

Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter*

Description et utilisation du produit

Le Neogen® Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* est utilisé avec le système de détection moléculaire Neogen® pour la détection rapide et spécifique après enrichissement des *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* et *Campylobacter coli* dans les prélèvements environnementaux et les aliments.

Le kit de détection moléculaire Listeria Neogen utilise la technique LAMP (amplification isotherme médiée par des boucles) afin d'amplifier rapidement les séquences d'acide nucléique de façon extrêmement spécifique et sensible, associée à la bioluminescence pour détecter l'amplification. Les résultats présumés positifs sont visibles en temps réel tandis que les résultats négatifs sont affichés à la fin de l'essai. Les résultats présumés positifs doivent être confirmés par les méthodes usuelles ou en fonction des méthodes spécifiques répondant aux normes locales[1,2].

Le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* est destiné à être utilisé au sein de laboratoires, par des professionnels formés aux techniques s'y rapportant. Neogen n'a pas étudié l'utilisation de ce produit dans des secteurs autres que l'alimentaire et les boissons. Par exemple, Neogen n'a pas étudié ce produit dans le cadre de tests sur des échantillons de produits pharmaceutiques, cosmétiques, cliniques ou vétérinaires. Le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* n'a pas été évalué en utilisant tous les produits et processus de transformation alimentaire, tous les protocoles de test ou toutes les souches bactériennes possibles.

Comme avec 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 laboratoires peuvent également influencer les résultats. Neogen recommande d'évaluer la méthode, notamment le milieu d'enrichissement, dans l'environnement de l'utilisateur à l'aide d'un nombre d'échantillons suffisant et avec des charges microbiennes déterminées pour répondre aux critères de l'utilisateur.

Neogen a évalué le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* avec le Neogen® *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement et le bouillon d'enrichissement de Bolton sans sang.

L'instrument de détection moléculaire Neogen® est conçu pour être utilisé avec des échantillons traités thermiquement pendant l'étape de lyse, procédé qui détruit les organismes présents dans l'échantillon. Les échantillons qui n'ont pas été soumis à un traitement thermique adéquat pendant l'étape de lyse peuvent être considérés comme potentiellement dangereux et ne doivent PAS être insérés dans l'instrument de détection moléculaire Neogen.

Neogen Sécurité Alimentaire respecte la norme ISO (International Organization for Standardization) 9001 en matière de conception et de fabrication.

Le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* contient 96 tests, décrits dans le tableau 1.

Tableau 1. Composants du Kit de détection moléculaire Neogen

Élément	Identification	Quantité	Table des matières	Commentaires
Solution de lyse (LS) Neogen®	Solution rose en tubes transparents	96 (12 barrettes de 8 tubes)	580 µL de LS par tube	Placé sur portoir et prêt à l'emploi
Tubes de réactif du Neogen® Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter*	Tubes violets	96 (3 poches, contenant 4 barrettes de 8 tubes)	Mélange spécifique lyophilisé pour l'amplification et la détection	Prêts à l'emploi
Bouchons supplémentaires	Bouchons violets	96 (12 barrettes de 8 bouchons)		Prêts à l'emploi
Contrôle de réactif Neogen® (RC)	Tubes « Flip-Top » transparents	16 (2 poches de 8 tubes individuels)	DNA témoin lyophilisé, mélange pour l'amplification et la détection	Prêts à l'emploi

Le témoin négatif (NC), non fourni dans le kit, est un milieu d'enrichissement stérile, p. ex. Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement. Ne pas utiliser d'eau comme NC.

Un guide de démarrage rapide est disponible à l'adresse www.neogen.com

Sécurité

L'utilisateur doit lire, comprendre et suivre toutes les informations de sécurité mentionnées dans les instructions relatives au système de détection moléculaire Neogen et au Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter*. Conserver ces consignes de sécurité pour référence ultérieure.

⚠ **AVERTISSEMENT :** indique une situation dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner un décès, des blessures graves et/ou des dommages matériels.

AVIS : indique une situation potentiellement dangereuse qui, si elle n'est pas évitée, pourrait entraîner des dommages matériels.

⚠ AVERTISSEMENT

Ne pas utiliser le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* pour diagnostiquer des pathologies chez les humains ou les animaux.

L'utilisateur doit former son personnel aux techniques d'analyse actuelles appropriées, par exemple : les bonnes pratiques de laboratoire[3], la norme ISO/IEC 17025[4] ou ISO 7218[5].

Afin de réduire les risques associés aux faux négatifs, qui peuvent entraîner la diffusion de produits contaminés :

- Se conformer au protocole et effectuer les tests en suivant exactement les instructions relatives au produit.
- Conserver le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* conformément aux indications sur l'emballage et aux instructions relatives au produit.
- Toujours utiliser le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* avant la date de péremption.
- Préparer le Neogen® *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement en suivant les instructions relatives au produit
- Ne pas passer le Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement à l'autoclave
- Utiliser le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* avec des aliments et des échantillons environnementaux ayant été validés en interne ou par une tierce partie.
- N'utiliser le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* qu'avec des surfaces, des désinfectants, des protocoles et des souches bactériennes validés en interne ou par une tierce partie.
- En cas d'échantillon environnemental contenant un tampon neutralisant avec un composé d'aryle sulfonate, diluer l'échantillon dans un bouillon d'enrichissement stérile 1:2 avant l'analyse (1 volume d'échantillon pour 1 volume de bouillon). Une autre option consiste à transférer 10 µL de l'enrichissement du tampon neutralisant dans les tubes de solution de lyse Neogen. Produits pour la manipulation des échantillons Neogen® comprenant un tampon neutralisant contenant un complexe d'aryle sulfonate : RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G et HS2410NB2G.

Afin de réduire les risques associés à l'exposition aux produits chimiques et aux dangers biologiques :

- Effectuer les analyses bactériologiques dans un laboratoire correctement équipé et sous la supervision de professionnels qualifiés. Les milieux et les équipements d'enrichissement incubés ou les surfaces ayant été en contact avec des milieux d'enrichissement incubés peuvent contenir des agents pathogènes à des niveaux suffisamment élevés pour entraîner des risques pour la santé humaine.
- Toujours respecter les consignes de sécurité courantes du laboratoire, porter des tenues et lunettes de protection adaptées lors de la manipulation de réactifs et d'échantillons contaminés.
- Éviter tout contact avec le contenu du milieu d'enrichissement et les tubes de réactifs après l'amplification.
- Éliminer les échantillons enrichis conformément aux normes locales/régionales/nationales/réglementaires actuelles.
- Les échantillons qui n'ont pas été soumis à un traitement thermique adéquat pendant l'étape de lyse peuvent être considérés comme potentiellement dangereux et ne doivent PAS être insérés dans l'instrument de détection moléculaire Neogen.

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

- Toujours porter des gants (afin de protéger l'utilisateur et de prévenir l'introduction de nucléases).

Afin de réduire les risques associés à l'exposition à des liquides très chauds :

- Ne pas dépasser le paramètre de température recommandé sur le dispositif de chauffe.
- Ne pas dépasser le temps de chauffe recommandé.

- Utiliser un thermomètre étalonné adapté pour vérifier la température du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen® (p. ex. thermomètre à immersion partielle ou thermomètre à thermocouple numérique et non un thermomètre à immersion totale). Le thermomètre doit être placé à l'endroit indiqué du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen.

AVIS

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

- Changer de gants avant l'hydratation des pastilles réactives.
- Utiliser de préférence des pipettes de qualité conforme à la biologie moléculaire, stériles et munies d'embouts à filtre.
- Utiliser une nouvelle pipette pour chaque transfert d'échantillon.
- Utiliser les bonnes pratiques de laboratoire pour transférer l'échantillon de l'enrichissement vers le tube de lyse. Pour éviter toute contamination des pipettes, 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 disposant si possible d'une lampe germicide.
- Décontaminer régulièrement les plans de travail et le matériel du laboratoire (pipettes, outils d'ouverture / de fermeture, etc.) avec une solution de 1-5 % d'eau de Javel (v:v dans de l'eau) ou avec une solution pour l'élimination du DNA.

Afin de réduire les risques associés à un résultat faux positif :

- Ne jamais ouvrir les tubes de réactif après amplification.
- Toujours éliminer les tubes contaminés en les faisant tremper dans une solution d'eau de Javel concentrée à 1-5 % (v:v dans l'eau) pendant 1 heure. Effectuer cette procédure à distance de la zone de préparation de l'analyse.
- Ne jamais stériliser à l'autoclave les tubes de réactifs après amplification.

Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations supplémentaires et connaître la réglementation locale relative à la mise au rebut.

Pour toute question concernant des applications ou procédures spécifiques, consulter notre site Internet à l'adresse www.neogen.com ou contacter votre représentant ou distributeur Neogen local.

Responsabilité de l'utilisateur

Il incombe aux utilisateurs de prendre connaissance des instructions et des informations relatives au produit. Consulter notre site Web **www.neogen.com** ou contacter votre représentant ou distributeur Neogen local pour obtenir de plus amples informations.

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

Il incombe à l'utilisateur de sélectionner une méthode ou un produit d'analyse adapté pour évaluer un nombre suffisant d'échantillons avec les matrices et les souches microbiennes appropriées, afin de garantir que la méthode d'analyse est conforme à ses critères.

Il incombe également à l'utilisateur de déterminer si une méthode d'analyse et ses résultats répondent aux exigences de ses clients ou fournisseurs.

Comme pour toute méthode d'analyse, les résultats obtenus avec un produit Neogen Sécurité Alimentaire ne constituent pas une garantie de la qualité des matrices ou des processus testés.

Dans le but d'aider les clients à évaluer la méthode pour différentes matrices alimentaires, Neogen a élaboré le kit de contrôle de matrice pour système de détection moléculaire Neogen®. Lorsque cela est nécessaire, utilisez le kit de contrôle de matrice (MC) pour système de détection moléculaire Neogen pour déterminer si la matrice peut avoir un impact sur les résultats du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter*. Tester plusieurs échantillons représentatifs de la matrice, c.-à-d. des échantillons d'origines différentes, au cours de toute période de validation lors de l'adoption de la méthode Neogen ou dans le cadre d'analyses de matrices nouvelles, inconnues ou ayant subi des modifications de matières premières ou de processus.

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

Limitations de garanties/Limites de recours

SAUF SI EXPRESSÉMENT ÉTABLI DANS LA SECTION DE GARANTIE LIMITÉE D'UN EMBALLAGE DE PRODUIT INDIVIDUEL, NEOGEN RENONCE À TOUTE GARANTIE EXPLICITE ET IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE DE COMMERCIALISATION OU D'ADAPTATION POUR UN USAGE SPÉCIFIQUE. En cas de défaut de tout produit Neogen Sécurité Alimentaire, Neogen ou son distributeur agréé s'engage, à son entière discrétion, au remplacement ou au remboursement du prix d'achat du produit. Il s'agit de vos recours exclusifs. Tout défaut supposé du produit devra être notifié à Neogen dans un délai de soixante jours et le produit renvoyé au fournisseur. Merci de contacter votre représentant Neogen ou votre distributeur Neogen agréé pour toute autre question.

Limitation de responsabilité de Neogen

NEOGEN NE SERA PAS TENUE RESPONSABLE DES PERTES OU DES DOMMAGES ÉVENTUELS, QU'ILS SOIENT DIRECTS, INDIRECTS, SPÉCIFIQUES, ACCIDENTELS OU CONSÉCUTIFS, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, LES PERTES DE PROFITS. En aucun cas et en aucune manière, la responsabilité de Neogen ne sera engagée au-delà du prix d'achat du produit prétendu défectueux.

Stockage et mise au rebut

Conserver le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* entre 2 et 8 °C (entre 35 et 47 °F). Ne pas congeler. Conserver à l'abri de la lumière. Une fois le kit ouvert, vérifier que le sachet en aluminium est intact. Si ce sachet est endommagé, ne pas utiliser le kit. Après ouverture, les tubes de réactif non utilisés doivent toujours être conservés dans le sachet refermable, en laissant l'agent déshydratant à l'intérieur afin de maintenir la stabilité des réactifs lyophilisés. Conserver les poches refermées à une température comprise entre 2 et 8 °C (entre 35 et 47 °F). Ne pas conserver plus de 90 jours.

Ne pas utiliser le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* après la date de péremption. La date de péremption et le numéro de lot sont inscrits sur l'étiquette extérieure de la boîte. Après utilisation, il est possible que les tubes de milieu d'enrichissement et du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* contiennent des éléments pathogènes. Lorsque l'analyse est terminée, suivre les normes actuelles du secteur pour l'élimination des déchets contaminés. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations supplémentaires et connaître la réglementation locale relative à la mise au rebut.

Instructions d'utilisation

Suivre attentivement toutes les instructions. Dans le cas contraire, les résultats obtenus risquent d'être inexacts.

Décontaminer régulièrement les plans de travail et le matériel du laboratoire (pipettes, outils d'ouverture / de fermeture, etc.) avec une solution de 1-5 % d'eau de Javel (v:v dans de l'eau) ou avec une solution pour l'élimination du DNA.

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

Préparation des milieux

Préparer le Neogen® *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement (CE250) en suivant les instructions relatives au produit. **Ne pas passer le milieu à l'autoclave avant son utilisation.** Utiliser le milieu préparé dans les 24 heures qui suivent sa préparation. Conserver le bouillon préparé à une température comprise entre 2 et 8 °C[7] à l'abri de la lumière s'il n'est pas utilisé immédiatement après sa préparation. S'assurer que le milieu se trouve à une température comprise entre 20 et 30 °C avant son utilisation.

Prélèvement des échantillons

Le Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement ne doit pas être utilisé pour le rinçage des carcasses de volaille ou comme milieu de transport. Collecter et transporter les échantillons suivant vos procédures de collecte d'échantillons en vigueur.

Enrichissement de l'échantillon

Le tableau 2 fournit des indications pour les protocoles généraux d'enrichissement des échantillons alimentaires et environnementaux.

Il incombe à l'utilisateur de valider des protocoles d'échantillonnage ou des proportions de dilution différent(e)s pour garantir que cette méthode d'analyse est conforme à ses critères.

Préparation de l'échantillon

a. Rinçage de la carcasse et rinçage de morceaux de volaille crus

1. Rincer une carcasse de volaille crue vidée de ses viscères à l'aide de 400 mL d'eau peptonée tamponnée (BPW) pendant une minute. Si vous rincez des morceaux de volaille crus, rincez 1,8 à 2 kg (4 lb ± 10 %) de morceaux de volaille avec 400 mL de BPW[1,8].
2. Pour la carcasse et les morceaux de volaille crus, laisser l'excédent de liquide s'écouler avant de rincer l'échantillon, pour éviter de transférer du liquide de traitement en excès dans le sac à échantillons[8].
3. Pour la volaille traitée au préalable au chlorure de cétylpyridinium (CPC), il est nécessaire d'ajouter 5 mL par L de Polysorbate 80 (IUPAC : monooléate de polyoxyéthylène sorbitane (20) ; CAS 9005-65-6) au Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement préparé. Le Polysorbate 80 peut être ajouté à de l'eau avant la stérilisation afin de faciliter la dissolution ou il peut être ajouté directement à de l'eau stérile avant de préparer le Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement.
4. Transférer dans des conditions aseptiques 30 mL de solution de rinçage dans un sac stérile et ajouter 30 mL de Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement.

b. Éponge passée sur une carcasse

1. Avant de prélever l'échantillon, les éponges doivent être hydratées. Il est possible d'utiliser jusqu'à 25 mL de BPW avant de prélever l'échantillon[1]. En cas de transport des échantillons, s'assurer que le sac est déroulé et conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.
2. Essuyer la carcasse de volaille avec un écouvillon ou prélever l'échantillon à l'aide d'une éponge.
3. Placer l'écouvillon dans un sac stérile et ajouter 25 mL de Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement. S'assurer que l'écouvillon ou l'éponge est bien recouvert(e) du milieu d'enrichissement.

c. Produits à base de volaille crue

1. Dans des conditions aseptiques, peser 325 ± 32,5 g d'échantillon et le placer dans un sac stérile. Ajouter 1 625 ± 32,5 mL de BPW au produit à base de volaille crue. Pour disperser les agrégats, mélanger soigneusement par un bref pétrissage manuel.
2. Après le mélange, ajouter 30 mL du mélange de produit à base de volaille crue dans un sac stérile, puis ajouter 30 mL de Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement et mélanger soigneusement.

d. Viande crue et prête à consommer

1. Dans des conditions aseptiques, peser 25 g d'échantillon et le placer dans un sac stérile. Un sac avec filtre est recommandé afin de faciliter l'échantillonnage.
2. Ajouter 225 mL de Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement.
3. Pétrir doucement le sac à la main afin de briser les agrégats et éviter la création de bulles lors du mélange. Ne pas traiter le sac par homogénéisation péristaltique ou homogénéisation mécanique.

e. Pédisacs pour la production primaire

1. Prélever des échantillons à l'aide de pédisacs ou de chaussettes en suivant vos procédures de collecte d'échantillons en vigueur.
2. Placer UNE chaussette dans un sac stérile et ajouter 100 mL de Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement.

f. Écouvillon

1. Prélever l'échantillon à l'aide d'un dispositif préalablement humidifié en suivant vos procédures de collecte d'échantillons en vigueur.
2. Placer l'écouvillon dans un sac stérile et ajouter 100 mL de Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement.

Incubation de l'enrichissement

1. Enrouler le sac pour minimiser l'espace vide et éviter le contact de l'enrichissement avec l'air. Pétrir doucement le sac pendant environ 10 ± 2 secondes. **Ne pas traiter le sac par homogénéisation péristaltique ou homogénéisation mécanique et éviter la création de bulles lors du mélange.**
2. Incuber le sac dans des conditions aérobies à 41,5 ± 1 °C, voir le tableau 2 pour la durée d'incubation appropriée.

AVERTISSEMENT : si vous choisissez d'utiliser un tampon neutralisant contenant un complexe d'aryle sulfonate comme solution hydratante pour l'éponge, il sera nécessaire d'effectuer une dilution de 1:2 (1 volume d'échantillon pour 1 volume de bouillon d'enrichissement stérile) avant l'analyse, afin de réduire les risques associés aux résultats faux négatifs pouvant libérer du produit contaminé. Une autre option consiste à transférer 10 µL de l'enrichissement du tampon neutralisant dans les tubes de solution de lyse Neogen.

Il incombe à l'utilisateur de valider des protocoles d'échantillonnage ou des proportions de dilution différent(e)s pour garantir que cette méthode d'analyse est conforme à ses critères.

Tableau 2. Protocoles d'enrichissement généraux.

Matrice de l'échantillon	Taille de l'échantillon	Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement (mL)[b]	Température d'enrichissement (± 1 °C)	Durée d'enrichissement (h)	Volume d'échantillon d'analyse (µL)[c]
• Rinçages de la carcasse[a] • Rinçages de morceaux de carcasse de volaille[a]	30 mL d'eau de rinçage dans de la BPW	30	41,5	22-26	20
• Éponge passée sur une carcasse[a]	1 éponge préalablement humidifiée avec 25 mL de BPW au maximum	25	41,5	22-26	20
• Viande crue • Viande prête à consommer	25 g	225	41,5	24-28	20
• Pédisacs issus de la production primaire	1 pédisac	100	41,5	22-26	20
• Écouvillon issu de la production primaire	1 dispositif préalablement humidifié	100	41,5	22-26	20

(a) Si les carcasses de volaille sont traitées au préalable par du chlorure de cétylpyridinium (CPC), il est nécessaire d'ajouter 5 mL par L de (Polysorbate 80 ; IUPAC : monooléate de polyoxyéthylène sorbitane (20) ; CAS 9005-65-6) au Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement préparé. Le Polysorbate 80 peut être ajouté à de l'eau avant la stérilisation ou il peut être ajouté à de l'eau stérile avant de préparer le Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement.

(b) Le Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement doit être utilisé dans les 24 heures qui suivent sa préparation. Le milieu doit être à température ambiante (25 à 30 °C) avant d'être utilisé.

(c) Avant de prélever des échantillons d'enrichissement pour les analyser, pétrir doucement le fond du sac. **Après avoir prélevé l'échantillon, enrouler le sac pour minimiser l'exposition de l'échantillon enrichi à l'air.** Un échantillon supplémentaire peut être nécessaire pour effectuer un nouveau test ou pour des étapes de confirmation.

Instructions spécifiques pour méthodes validées

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) Certificat n° 111803

PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 111803

Dans les études PTM℠ de l'Institut de recherche de l'AOAC, il a été démontré que le Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* était une méthode efficace de détection de *Campylobacter*. Les matrices testées au cours de l'étude sont répertoriées dans le tableau 3.

Tableau 3. Protocole d'enrichissement selon l'AOAC PTM℠ Certificat n° 111803.

Matrice de l'échantillon	Taille de l'échantillon	Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement (mL)[c]	Température d'enrichissement (± 1 °C)	Durée d'enrichissement (h)	Volume d'échantillon d'analyse (µL)[d]
Carcasse entière rincée dans 400 mL de BPW[a] [b]	30 mL d'eau de rinçage dans de la BPW	30	41,5	22-26	20
Partie de volaille rincée (1,8 à 2 Kg) dans 400 mL de BPW[a] [b]	30 mL d'eau de rinçage dans de la BPW	30	41,5	22-26	20
Carcasse de dinde éponge[a] [b]	1 éponge préalablement humidifiée avec 25 mL de BPW au maximum	25	41,5	24-26	20
Volaille crue hachée (325 ± 32,5 g) rincée dans 1 625 ± 32,5 mL de BPW[b]	30 mL de mélange de produit dans de la BPW	30	41,5	24-28	20
Croquettes de poulet	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Si les carcasses de volaille sont traitées au préalable par du chlorure de cétylpyridinium (CPC), il est nécessaire d'ajouter 5 mL par L de (Polysorbate 80 ; IUPAC : monooléate de polyoxyéthylène sorbitane (20) ; CAS 9005-65-6) au Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement préparé. Le Polysorbate 80 peut être ajouté à de l'eau avant la stérilisation ou il peut être ajouté à de l'eau stérile avant de préparer le Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement.

(b) Sinon, cette matrice peut être enrichie avec 30 mL de 2X bouillon d'enrichissement Bolton sans sang (BF-BEB) pendant 48 ± 2 h à 42 ± 1,0 °C dans des conditions microaérobie. Transférer 20 µL d'échantillon dans de la solution de lyse Neogen.

(c) Le Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement doit être utilisé dans les 24 heures qui suivent sa préparation. Le milieu doit être à température ambiante (25 à 30 °C) avant d'être utilisé.

(d) Avant de prélever des échantillons d'enrichissement pour les analyser, malaxer doucement le fond du sac. **Après avoir prélevé l'échantillon, enrouler le sac pour minimiser l'exposition de l'échantillon enrichi à l'air.** Un échantillon supplémentaire peut être nécessaire pour effectuer un nouveau test ou pour des étapes de confirmation.

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

1. Humidifier un chiffon ou une serviette jetable à l'aide d'une solution de 1-5 % d'eau de Javel (v:v dans de l'eau) et nettoyer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen.
2. Rincer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen à l'eau.
3. Utiliser un chiffon jetable pour sécher le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen.
4. S'assurer que le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen est sec avant toute utilisation.

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

Poser le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen sur le plan de travail du laboratoire : le plateau de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen n'est pas utilisé. Utiliser le bloc refroidissant à la température ambiante du laboratoire (20 à 25 °C).

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

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

REMARQUE : selon l'unité de traitement thermique utilisée, le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen atteint la température souhaitée en 30 minutes environ. Utiliser un thermomètre étalonné adapté (p. ex., un thermomètre à immersion partielle ou un thermomètre à thermocouple numérique, et non un thermomètre à immersion totale) placé à l'endroit indiqué du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen afin de vérifier que sa température est de 100 ± 1 °C.

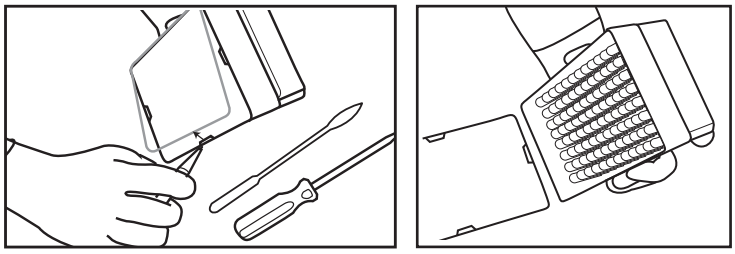
Préparation de l'instrument de détection moléculaire Neogen®

1. Lancer le logiciel de détection moléculaire Neogen® et ouvrir une session. Contacter votre représentant Neogen Sécurité Alimentaire pour vous assurer d'avoir la version la plus récente du logiciel.
2. Mettre l'instrument de détection moléculaire Neogen sous tension.
3. Créer ou modifier une analyse en saisissant les données pour chaque échantillon. Pour plus de précisions, consulter le manuel d'utilisation du système de détection moléculaire Neogen.

REMARQUE : l'instrument de détection moléculaire Neogen doit être prêt avant l'insertion du plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen, dans lequel sont placés les tubes de réactif. Cette étape de chauffage prend environ 20 minutes ; pendant ce processus, un voyant lumineux ORANGE s'allume sur la barre d'état de l'instrument. Lorsque l'instrument est prêt pour l'analyse, la barre d'état passe au VERT.

Lyse

Retirer le bas du portoir pour tubes de solution de lyse Neogen avec un tournevis avant de le placer dans le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen.



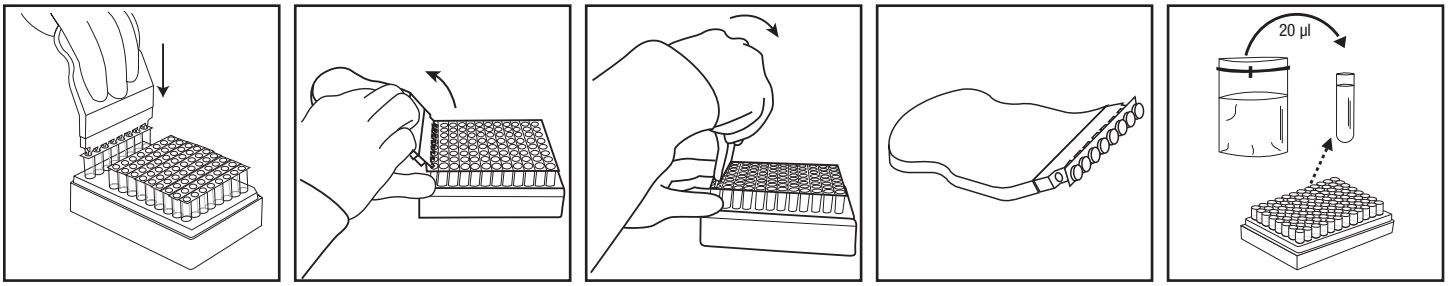
1. Laisser les tubes de solution de lyse Neogen se réchauffer en plaçant le support à température ambiante (20 à 25 °C) pendant une nuit (16 à 18 heures). Il est également possible d'amener les tubes de solution de lyse Neogen à température ambiante en les plaçant sur le plan de travail du laboratoire pendant au moins 2 heures, en incubant les tubes de solution de lyse Neogen dans un incubateur à 37 ± 1 °C pendant 1 heure ou en les plaçant dans une unité de traitement thermique à sec double bloc pendant 30 secondes à 100 °C.
2. Retourner les tubes recouverts d'un bouchon pour les mélanger. Passer à l'étape suivante dans un délai de 4 heures après avoir retourné les tubes.
3. **Retirer l'échantillon enrichi de l'incubateur.**
   - **3.1.1 Pétrir doucement le fond du sac contenant l'enrichissement avant de transférer l'échantillon dans le tube de solution de lyse Neogen.**
   - **3.1.2 Un échantillon supplémentaire peut être nécessaire pour effectuer un nouveau test ou pour des étapes de confirmation. Après le prélèvement de l'échantillon, enrouler le sac pour minimiser l'espace vide et éviter le contact de l'enrichissement avec l'air. Si des résultats présumés positifs doivent être confirmés, effectuer les étapes suivantes dès l'obtention du résultat présumé positif.**
4. Un tube de solution de lyse Neogen est nécessaire pour chaque échantillon et pour l'échantillon NC (milieu d'enrichissement stérile).
   - 4.1 Les barrettes de tubes de solution de lyse Neogen peuvent être coupées de manière à obtenir le nombre de tubes souhaité. Sélectionner le nombre de tubes ou de barrettes de 8 tubes nécessaire. Placer les tubes de solution de lyse Neogen dans un portoir vide.
   - 4.2 Pour éviter toute contamination croisée, ouvrir une barrette de tube de solution de lyse Neogen à la fois et utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque étape de transfert.
   - 4.3 Transférer l'échantillon enrichi dans les tubes de solution de lyse Neogen comme indiqué ci-dessous :

     Transférer tout **d'abord** chaque échantillon enrichi dans des tubes de solution de lyse Neogen individuels. Transférer le NC en **dernier**.

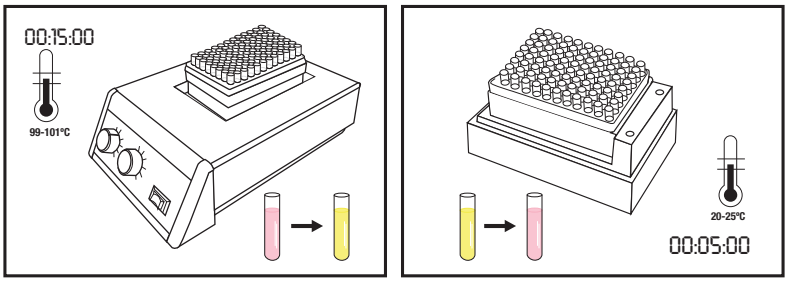
   - 4.4 Ouvrir les barrettes de tubes de solution de lyse Neogen une à une à l'aide de l'outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire Neogen® - Lyse.

4.5 Jeter le bouchon du tube de solution de lyse Neogen. Si le lysat doit être soumis à un nouveau test, placer les bouchons dans un récipient propre pour réapplication après la lyse.
4.5.1 Pour le traitement du lysat conservé, voir l'annexe A.
4.6 Transférer 20 µL d'échantillon dans un tube de solution de lyse Neogen.

5. Répéter les étapes 4.4 à 4.6 en fonction des besoins pour tous les échantillons à analyser.



6. Une fois tous les échantillons transférés, transférer 20 µL de NC (milieu d'enrichissement stérile, p. ex. BPW) dans un tube de solution de lyse Neogen. Ne pas utiliser d'eau comme NC.
7. Vérifier que la température du support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen est de 100 ± 1 °C.
8. Placer le portoir non couvert de tubes de solution de lyse Neogen dans le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen et chauffer pendant 15 ± 1 minutes. Lors du chauffage, la solution de lyse Neogen passera de rose (froide) à jaune (chaude).
   8.1 Les échantillons qui n'ont pas été soumis à un traitement thermique adéquat pendant l'étape de lyse peuvent être considérés comme potentiellement dangereux et ne doivent PAS être insérés dans l'instrument de détection moléculaire Neogen.
9. Retirer le portoir non couvert de tubes de solution de lyse Neogen du bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen et laisser refroidir dans le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen pendant au moins 5 minutes et au plus 10 minutes. Utilisé à température ambiante sans le plateau de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen®, le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen doit être posé directement sur le plan de travail du laboratoire. Une fois froide, la solution de lyse Neogen retrouvera une couleur rose.
10. Retirer le couvercle des tubes de solution de lyse Neogen du support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen.

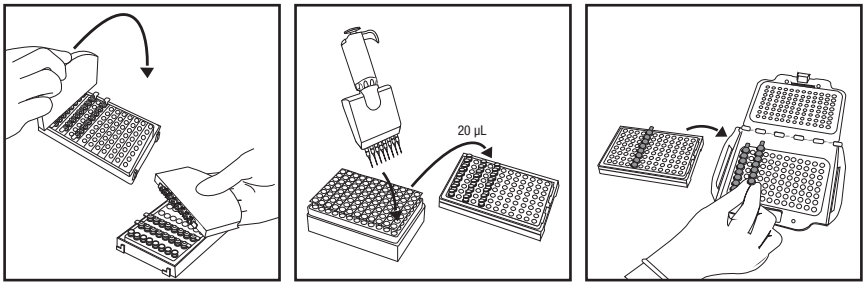


Amplification

1. Il est nécessaire d'utiliser un tube de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* pour chaque échantillon et pour le NC.
   1.1 Les barrettes de tubes peuvent être coupées de manière à obtenir le nombre de tubes souhaité. Sélectionner le nombre de tubes de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* ou de barrettes de 8 tubes nécessaire.
   1.2 Placer les tubes dans un portoir vide.
   1.3 Éviter de toucher les pastilles réactives se trouvant au fond des tubes.
2. Sélectionner un tube de contrôle de réactif Neogen et le placer dans le portoir.
3. Afin d'éviter toute contamination croisée, ouvrir une barrette de tubes de réactif Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* à la fois et utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque étape de transfert.
4. Transférer chaque lysat dans un tube de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* et dans un tube de contrôle de réactif Neogen comme décrit ci-dessous :

Transférer **d'abord** chaque lysat d'échantillon dans un tube de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* puis faites de même avec le NC. Hydrater le tube de contrôle de réactif Neogen en **dernier**.

5. Ouvrir les tubes de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* un à un à l'aide de l'outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire Neogen® - Réactif. Jeter le bouchon.
   5.1 Transférer 20 µL de lysat d'échantillon prélevé au niveau de la moitié (½) supérieure du liquide (éviter le précipité) dans le tube de solution de lyse Neogen du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* correspondant. Incliner la pipette pour ne pas agiter les pastilles. Mélanger en effectuant 5 cycles d'aspiration / de refoulement avec la pipette.
   5.2 Répéter l'étape 5.1 jusqu'à ce que chaque lysat d'échantillon individuel ait été ajouté au tube de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* correspondant dans la barrette.
   5.3 Placer la capsule supplémentaire prévue à cet effet sur les tubes de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* puis prendre le bord arrondi de l'outil d'ouverture/fermeture pour système de détection moléculaire Neogen - Réactif et appuyer dans un mouvement de va-et-vient afin de s'assurer que la capsule est fermement insérée sur le tube.
   5.4 Répéter les étapes 5.1 à 5.3 pour tous les échantillons à analyser.
   5.5 Lorsque tous les lysats d'échantillons ont été transférés, répéter les étapes 5.1 à 5.3 afin de transférer 20 µL de lysat de NC dans un tube de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter*.
   5.6 Transférer **20 µL de lysat de NC dans un tube de contrôle de réactif Neogen**. Incliner la pipette pour ne pas agiter les pastilles. Mélanger en effectuant 5 cycles d'aspiration / de refoulement avec la pipette.
6. Charger les tubes recouverts d'un bouchon dans un plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen propre et décontaminé. Fermer et verrouiller le couvercle du plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen.



7. Examiner et confirmer l'analyse configurée sur le logiciel de détection moléculaire Neogen.
8. Cliquer sur l'icône « Démarrer » du logiciel et sélectionner l'instrument à utiliser. Le couvercle de l'appareil 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 lancer l'essai. Les résultats sont obtenus en 60 minutes ; toutefois, les résultats positifs peuvent être détectés plus tôt.
10. Une fois l'analyse terminée, retirer le plateau de chargement rapide pour système de détection moléculaire Neogen de l'instrument de détection moléculaire Neogen et tremper les tubes dans une solution d'eau de Javel à 1-5 % (v:v dans de l'eau) pendant 1 heure, et ce, à l'écart de la zone de préparation des analyses.

AVIS : pour réduire le risque de résultats faux positifs dus à une contamination croisée, ne jamais ouvrir les tubes de réactif contenant du DNA amplifié. Ceci comprend les tubes de réactif du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter*, les tubes de contrôle de réactif Neogen et les tubes de contrôle de matrice Neogen. Toujours éliminer les tubes de réactif fermés en les trempant dans une solution d'eau de Javel de 1 à 5 % (v:v dans de l'eau) pendant 1 heure, et ce à l'écart de la zone de préparation des analyses.

Résultats et interprétation

Un algorithme interprète la courbe de résultats lumineuse provenant de la détection de l'amplification de l'acide nucléique. Les résultats sont automatiquement analysés par le logiciel et sont codés par couleur en fonction du résultat. Un résultat positif ou négatif est déterminé par l'analyse d'un nombre de paramètres des courbes individuelles. Les résultats présumés positifs sont rapportés en temps réel tandis que les résultats négatifs ou à vérifier sont affichés à la fin de l'essai.

Les résultats présumés positifs doivent être confirmés selon les procédures standard des laboratoires ou en suivant la confirmation de la méthode de référence appropriée[1,2], en commençant par effectuer un transfert du premier enrichissement du Neogen *Campylobacter* Bouillon d'Enrichissement sur des étalements sélectifs de *Campylobacter* avec une incubation microaérophilique et une confirmation des isolats à l'aide des méthodes biochimiques, microscopiques et sérologiques appropriées. Pour que l'enrichissement se conserve au mieux, enrouler le sac après avoir prélevé un échantillon.

REMARQUE : même un échantillon négatif ne donnera pas de résultat égal à zéro , car le système et les réactifs d'amplification du Neogen Kit de détection moléculaire version 2 - *Campylobacter* effectuent une lecture d'unité relative de lumière (RLU) « de base ».

Dans le cas peu probable d'un résultat lumineux inhabituel, l'algorithme considérera ce dernier comme « À vérifier ». Neogen recommande à l'utilisateur de recommencer l'essai pour tout échantillon considéré comme « À vérifier ». Si le résultat continue à être « À vérifier », passer au test de confirmation en utilisant les méthodes usuelles ou en suivant les méthodes spécifiques répondant aux normes locales[1,2].

Annexe A. Interruption du protocole : Stockage et nouveau test des lysats soumis à un traitement thermique

1. Pour conserver un lysat soumis à un traitement thermique, refermer le tube de solution de lyse Neogen avec un bouchon propre (se reporter à la section Lyse, 4.5)
2. Stocker à une température comprise entre 2 et 8 °C jusqu'à 72 heures.
3. Préparer un échantillon conservé pour amplification en retournant 2 à 3 fois pour mélanger.
4. Ouvrir les tubes.
5. Placer les tubes pour lysats mélangés dans le support de bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen et chauffer à 100 ± 1 °C pendant 5 ± 1 minutes.
6. Retirer le portoir de tubes de solution de lyse Neogen du bloc chauffant pour système de détection moléculaire Neogen et laisser refroidir dans le support de bloc refroidissant pour système de détection moléculaire Neogen pendant au moins 5 minutes et au plus 10 minutes.
7. Poursuivre le protocole à la section **Amplification** détaillée ci-dessus.

Références :

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contacter un représentant de Neogen Sécurité Alimentaire pour obtenir un exemplaire de ce document.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Explication des symboles

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Gebrauchsanweisungen

Molekularer Detektions Assay 2 – *Campylobacter*

Produktbeschreibung und Verwendungszweck

Der Neogen® Molekulare Detektions Assay 2 – *Campylobacter* wird in Verbindung mit dem Neogen® Molekularen Detektionssystem für den schnellen und spezifischen Nachweis von *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* und *Campylobacter coli* in angereicherten Proben aus Lebens- und Futtermitteln sowie Umgebungen der Lebensmittelverarbeitung verwendet.

Der Neogen Molekulare Detektions Assay verwendet die mittels einer "Loop" initiierte isotherme Amplifikation, um in Kombination mit der Biolumineszenz die Amplifikation von Nukleinsäuresequenzen mit hoher Spezifität, Sensitivität und Geschwindigkeit zu bestimmen. Die vorläufig positiven Ergebnisse werden in Echtzeit erstellt, während negative Ergebnisse erst nach Abschluss des Tests dargestellt werden. Die vorläufig positiven Ergebnisse sollten mithilfe eines Testverfahrens Ihrer Wahl oder gemäß der jeweils geltenden Richtlinien bestätigt werden [1,2].

Der Neogen Molekulare Detektions Assay 2 – *Campylobacter* ist für den Gebrauch in Labors bestimmt und muss von in Laborverfahren geschultem Fachpersonal angewendet werden. Neogen verfügt über keine Daten zur Anwendung dieses Produkts in anderen Industrien als der Lebensmittel- und Getränkeindustrie. Zum Beispiel verfügt Neogen über keine Daten zur Verwendung dieses Produkts mit Pharmazeutika-, Kosmetika- oder klinischen und tiermedizinischen Proben. Der Neogen Molekulare Detektions Assay 2 – *Campylobacter* wurde nicht für alle möglichen Lebensmittelprodukte, Lebensmittelverarbeitungsverfahren, Testprotokolle oder alle möglichen Bakterienstämme evaluiert.

Wie bei allen Testverfahren können die Ergebnisse durch die Quelle, Zusammensetzung und Qualität des Anreicherungsmediums beeinflusst werden. Faktoren wie Probennahme, Testprotokolle, Probenaufbereitung, Handhabung und Labortechnik können die Ergebnisse beeinflussen. Neogen empfiehlt die Beurteilung der Methode einschließlich Anreicherungsmedium in der Umgebung des Benutzers mit einer ausreichenden Anzahl an Proben mit bestimmten Lebensmitteln und mikrobiellen Pathogenen, um sicherzustellen, dass die Methode den Anforderungen des Benutzers entspricht.

Neogen hat den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* mit der Neogen® *Campylobacter* Anreicherungsbouillon und der blutfreien Bolton-Anreicherungsbouillon evaluiert.

Das Neogen® Molekulare Detektion – Gerät ist für die Verwendung mit Proben bestimmt, die während der Assay-Lyse wärmebehandelt wurden, wodurch die in der Probe vorhandenen Organismen zerstört werden sollen. Proben, die während der Lyse nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, stellen möglicherweise ein biologisches Risiko dar und sollten NICHT in das Neogen Molekulare Detektion – Gerät eingesetzt werden.

Neogen Food Safety hat für die Bereiche Entwicklung und Fertigung die Zertifizierung ISO 9001 der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erhalten.

Das Testkit für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* enthält 96 Testverfahren, die in Tabelle 1 beschrieben werden.

Tabelle 1. Komponenten des Neogen Molekularen Detektions Assays

Artikel	Kennzeichnung	Stückzahl	Inhalt	Kommentare
Neogen® Lyselösung (LS)	Rosafarbene Lösung in transparenten Gefäßen	96 (12 Streifen in 8 Gefäßen)	580 µl LS pro Gefäß	Abgefüllt und gebrauchsfertig
Reagenzgefäße für den Neogen® Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter*	Lila Gefäße	96 (3 Beutel mit 4 Streifen in 8 Gefäßen)	Lyophilisierte spezifische Amplifikations- und Detektionsmischung	Gebrauchsfertig
Zusätzliche Kappen	Lila Kappen	96 (12 Streifen in 8 Kappen)		Gebrauchsfertig
Neogen® Reagenzkontrolle (RC)	Durchsichtige Flip-Top Gefäße	16 (2 Beutel mit 8 einzelnen Gefäßen)	Lyophilisierte Kontroll-DNS, Amplifikations- und Detektionsmatrix	Gebrauchsfertig

Die Negativkontrolle (NC) (nicht im Set enthalten) ist ein steriles Anreicherungsmedium, z. B. Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon. Als Negativkontrolle kein Wasser verwenden.

Eine Kurzanleitung finden Sie unter www.neogen.com

Sicherheit

Der Anwender sollte sämtliche in der Gebrauchsanleitung des Neogen Molekularen Detektionssystems und des Neogen Molekularen Detektions Assays 2 – *Campylobacter* aufgeführten Sicherheitshinweise gelesen und verstanden haben. Bewahren Sie diese Sicherheitshinweise auf, um später auf sie zurückgreifen zu können.

⚠ **WARNUNG:** Bezeichnet eine Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zum Tode oder zu schweren Verletzungen und/oder Sachschäden führen kann.

HINWEIS: Bezeichnet eine potenzielle Gefahrensituation, die – wenn sie nicht vermieden wird – zu Sachschäden führen kann.

⚠ WARNUNG

Den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* nicht zur Diagnose von Erkrankungen bei Menschen oder Tieren einsetzen.

Der Anwender muss sein Personal in den entsprechenden Testmethoden unterweisen: z. B. laut den Grundsätzen der guten Laborpraxis[3], ISO/IEC 17025[4] oder ISO 7218[5].

Maßnahmen zur Reduzierung der mit einem falsch negativen Ergebnis verbundenen Risiken, die zur Freigabe eines kontaminierten Produkts führen können:

- Befolgen Sie das Protokoll und führen Sie die Tests genau wie in der Gebrauchsanweisung angegeben durch.
- Lagern Sie den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* wie auf der Packung und in den Gebrauchsanweisungen beschrieben.
- Verwenden Sie den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* stets vor Ablauf des Verfalldatums.
- Bereiten Sie die Neogen® *Campylobacter* Anreicherungsbouillon gemäß der Gebrauchsanweisung vor.
- Die Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon nicht autoklavieren.
- Verwenden Sie den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* mit Lebensmittel- und Umweltproben, die intern oder durch Dritte validiert wurden.
- Verwenden Sie den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* nur mit Oberflächen, Desinfektionsmitteln, Protokollen und Bakterienstämmen, die intern oder durch Dritte validiert wurden.
- Wenn Sie eine Umgebungsprobe haben, die einen Neutralisationspuffer mit einem Acrylsulfonat-Komplex enthält, dann müssen Sie vor dem Testen der Probe eine 1:2 Verdünnung (1 Teil Probe in 1 Teil steriler Anreicherungsbouillon) vornehmen. Ebenso können Sie 10 µl Anreicherungsmedium mit Neutralisationspuffer in die Neogen Lyselösungsgefäße übertragen. Neogen® Produkte zur Probenhandhabung, die Neutralisationspuffer mit Acrylsulfonat-Komplex enthalten: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G und HS2410NB2G.

Zur Verminderung der Risiken, die mit der Exposition gegenüber Chemikalien und biogefährlichen Stoffen verbunden sind:

- Führen Sie die Testverfahren mit Pathogenen in einem entsprechend ausgerüsteten Labor und unter der Aufsicht von geschultem Fachpersonal durch. Inkubierte Anreicherungsmedien und Arbeitsgeräte oder Oberflächen, die in Kontakt mit inkubierten Anreicherungsmedien gekommen sind, können so stark mit Krankheitserregern belastet sein, dass ein Risiko für die menschliche Gesundheit besteht.
- Befolgen Sie stets die üblichen Labor-Sicherheitsmaßnahmen und tragen Sie bei der Handhabung von Reagenzien und kontaminierten Proben angemessene Schutzkleidung und geeigneten Augenschutz.
- Vermeiden Sie nach der Amplifikation den Kontakt mit dem Anreicherungsmedium und den Reagenzgefäßen.
- Die angereicherten Proben sind gemäß lokaler/regionaler/landesweiter/regulatorischer Standards zu entsorgen.
- Proben, die während der Lyse nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, stellen möglicherweise ein biologisches Risiko dar und sollten NICHT in das Neogen Molekulare Detektion – Gerät eingesetzt werden.

Zur Verminderung von Kreuzkontaminationsrisiken bei der Vorbereitung des Tests:

- Tragen Sie stets Handschuhe (sowohl zum Schutz des Anwenders als auch, um ein Einbringen von Nukleasen zu vermeiden).

Zur Verminderung der Risiken, die mit der Exposition gegenüber heißen Flüssigkeiten verbunden sind:

- Achten Sie darauf, die empfohlene Temperatur des Heizgeräts nicht zu überschreiten.
- Achten Sie darauf, die empfohlene Anwärmdauer nicht zu überschreiten.
- Verwenden Sie ein geeignetes, kalibriertes Thermometer, um sicherzustellen, dass der Neogen® Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die richtige Temperatur aufweist (z. B. ein Thermometer zum partiellen Eintauchen oder ein Digitalthermometer, kein Tauchthermometer). Das Thermometer muss an der vorgesehenen Stelle des Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatzes platziert werden.

HINWEIS

Zur Verminderung von Kreuzkontaminationsrisiken bei der Vorbereitung des Tests:

- Wechseln Sie vor Hydratation des Reagenzpellets die Handschuhe.
- Es wird empfohlen, sterile, hochreine Pipettenspitzen mit Feuchtigkeitsschutz (Filter) zu verwenden.
- Verwenden Sie für jede Probenübertragung eine neue Pipettenspitze.
- Wenden Sie die Grundsätze der Guten Laborpraxis bei der Übertragung der angereicherten Probe auf das Lysegefäß an. Um eine Kontamination der Pipette zu vermeiden, sollte der Anwender bei der Übertragung einen Zwischenschritt durchführen. Beispielsweise kann der Anwender jede angereicherte Probe auf ein steriles Gefäß übertragen.
- Sofern möglich, arbeiten Sie an einer molekularbiologischen Arbeitsstation mit Germizidlampe.
- Desinfizieren Sie die Laborbänke und Arbeitsgeräte (Pipetten, Cap/Decap-Werkzeuge usw.) regelmäßig mit einer 1–5%igen Haushaltsbleichmittellösung (v:v in Wasser) oder DNS-Entfernungslösung.

Zur Verminderung der Risiken, die mit einem falsch positiven Ergebnis verbunden sind:

- Öffnen Sie die Reagenzgefäße niemals nach der Amplifikation.
- Kontaminierte Gefäße immer aus dem Nachweis-Vorbereitungsbereich entfernen, in 1–5%iger (v:v in Wasser) Haushaltsbleichmittellösung für 1 Stunde einweichen und dann entsorgen.
- Autoklavieren Sie die Reagenzgefäße niemals nach der Amplifikation.

Weitere Informationen sowie die jeweils vor Ort geltenden Richtlinien zur Entsorgung entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.

Sollten Sie Fragen zu bestimmten Anwendungen oder Verfahren haben, besuchen Sie unsere Website unter www.neogen.com oder wenden Sie sich an den lokalen Neogen-Verkaufsvertreter oder Händler.

Verantwortung des Anwenders

Anwender müssen sich auf eigene Verantwortung mit den Gebrauchsanweisungen und Informationen des Produkts vertraut machen. Für weitere Informationen besuchen Sie unsere Website unter **www.neogen.com** oder wenden Sie sich an Ihren lokalen Neogen Verkaufsvertreter oder Händler.

Bei der Auswahl einer Testmethode ist zu beachten, dass externe Faktoren wie Probennahme, Testprotokoll, Probenaufbereitung, Handhabung, Labortechnik und die Probe selbst die Ergebnisse beeinflussen können.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders bei der Auswahl einer Testmethode oder eines Produkts, diese mit einer ausreichenden Anzahl von Proben und Kontrollen zu evaluieren, um sicherzustellen, dass die gewählte Testmethode seinen Anforderungen entspricht.

Der Anwender trägt ebenfalls die Verantwortung dafür, dass die angewendeten Testmethoden und Ergebnisse den Anforderungen seiner Kunden und Lieferanten entsprechen.

Wie bei allen Testmethoden, stellen die mit Neogen Lebensmittelsicherheitsprodukten erhaltenen Ergebnisse keine Garantie für die Qualität der untersuchten Matrizen oder Prozesse dar.

Als Unterstützung von Kunden bei der Validierung der Methode für verschiedene Lebensmittel-Matrizes hat Neogen das Set Neogen® Molekulare Detektion – Matrixkontrolle entwickelt. Verwenden Sie bei Bedarf die Neogen Molekulare Detektion – Matrixkontrolle (MC), um zu bestimmen, ob die Matrix in der Lage ist, die Ergebnisse des Neogen Molekularen Detektions Assays 2 – *Campylobacter* zu beeinträchtigen. Testen Sie mehrere für die Matrix repräsentative Proben, d. h. Proben unterschiedlicher Herkunft, während einer Validierungsphase, wenn die Neogen Methode zum Einsatz kommt oder beim Testen neuer oder unbekannter Matrizes oder Matrizes, die Rohmaterial- oder Verfahrensänderungen durchlaufen haben.

Eine Matrix kann als eine Produktart mit spezifischen Eigenschaften, z. B. in Bezug auf ihre Zusammensetzung und Verarbeitung, definiert werden. Unterschiede zwischen Matrizen können so einfach sein wie die Auswirkungen, die von Unterschieden bei deren Verarbeitung oder deren Präsentation (z. B. roh im Vergleich zu pasteurisiert; frisch im Vergleich zu getrocknet usw.) verursacht werden.

Haftungsbeschränkungen/Beschränkte Rechtsmittel

AUSSER ES WIRD AUSDRÜCKLICH ANDERS IM ABSCHNITT DER HAFTUNGSBESCHRÄNKUNGEN DER VERPACKUNG DES JEWEILIGEN PRODUKTS ANGEGEBEN, LEHNT Neogen ALLE AUSDRÜCKLICHEN UND STILLSCHWEIGENDEN GARANTIEN, EINSCHLIESSLICH, JEDOCH NICHT BESCHRÄNKT AUF, DIE GEWÄHRLEISTUNG DER MARKTGÄNGIGKEIT ODER DER EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK AB. Sollte sich ein Produkt von Neogen Food Safety als defekt herausstellen, wird es von Neogen oder einem autorisierten Vertragshändler nach eigenem Ermessen ersetzt oder der Kaufpreis zurückerstattet. Gewährleistungsansprüche bestehen nicht. Sie sind verpflichtet, Neogen umgehend innerhalb von sechzig Tagen, nachdem die mutmaßlichen Defekte am Produkt festgestellt wurden, darüber zu informieren und das Produkt an Neogen zurückzusenden. Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren Neogen-Vertreter oder autorisierten Neogen-Händler.

Haftungsbeschränkungen von Neogen

Neogen HAFTET NICHT FÜR VERLUSTE ODER SCHÄDEN, GANZ GLEICH OB MITTELBARE, UNMITTELBARE, SPEZIELLE, NEBEN- ODER FOLGESCHÄDEN EINSCHLIESSLICH, ABER NICHT BESCHRÄNKT AUF ENTGANGENEN GEWINN. In keinem Fall übersteigt die Haftung von Neogen den Kaufpreis des angeblich defekten Produkts.

Lagerung und Entsorgung

Lagern Sie den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* bei 2–8 °C (35-47 °F). Nicht einfrieren. Lichtgeschützt lagern. Vergewissern Sie sich nach dem Öffnen des Sets, dass der Folienbeutel unbeschädigt ist. Verwenden Sie das Set keinesfalls bei beschädigtem Beutel. Nach dem Öffnen sollten nicht verwendete Reagenzgefäße gemeinsam mit dem Trockenmittel stets im wiederverschließbaren Beutel verwahrt werden, um die Stabilität der lyophilisierten Reagenzien sicherzustellen. Wiederverschlossene Beutel höchstens 90 Tage lang bei 2–8 °C (35–47 °F) lagern.

Verwenden Sie den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* nicht nach Ablauf des Verfalldatums. Das Verfalldatum und die Chargennummer sind auf dem äußeren Etikett der Packung angegeben. Nach dem Gebrauch können das Anreicherungsmedium und die Gefäße des Neogen Molekularen Detektions Assays 2 – *Campylobacter* pathogene Stoffe enthalten. Beachten Sie nach Abschluss der Testverfahren die gültigen Branchennormen für die Entsorgung von kontaminierten Abfällen. Weitere Informationen sowie die jeweils vor Ort geltenden Richtlinien zur Entsorgung entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.

Bedienungsanleitung

Befolgen Sie alle Anweisungen genau. Andernfalls werden möglicherweise ungenaue Ergebnisse erzielt.

Desinfizieren Sie die Laborbänke und Arbeitsgeräte (Pipetten, Cap/Decap-Werkzeuge usw.) regelmäßig mit einer 1–5%igen Haushaltsbleichmittellösung (v:v in Wasser) oder DNS-Entfernungslösung.

Der Anwender sollte die Funktionsqualifizierung (Operational Qualification, OQ) für das Neogen Molekulare Detektionssystem absolvieren wie im Dokument „Protokolle und Anweisungen für Installationsqualifizierung (IQ) / Funktionsqualifizierung (OQ) für das Neogen Molekulare Detektionssystem“ beschrieben[6].

Medienvorbereitung

Bereiten Sie die Neogen® *Campylobacter* Anreicherungsbouillon (CE250) gemäß den Gebrauchsanweisungen vor. **Das Medium vor der Verwendung nicht autoklavieren.** Das präparierte Medium innerhalb von 24 Stunden nach der Präparation verwenden. Die vorbereitete Bouillon bei 2–8 °C[7] vor Licht geschützt lagern, wenn sie nicht unmittelbar nach der Vorbereitung verwendet wird. Sicherstellen, dass die Medien vor der Verwendung auf 20–30 °C gebracht werden.

Probennahme

Die Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon sollte nicht für Geflügel-Spüllösungen oder Transportmedien verwendet werden. Nehmen und transportieren Sie Proben gemäß Ihren etablierten Verfahren zur Probenahme.

Probenanreicherung

Tabelle 2 enthält Richtlinien zu allgemeinen Anreicherungsprotokollen für Lebensmittel- und Umgebungsproben.

Der Anwender ist selbst für die Validierung von alternativen Probennahmeprotokollen oder Verdünnungsverhältnissen verantwortlich, durch die sichergestellt werden muss, dass dieses Testverfahren den Anforderungen entspricht.

Vorbereiten der Probe

a. Schlachtkörper- und Geflügelspülungen

1. Spülen Sie einen ausgenommenen rohen Geflügelkadaver eine Minute lang mit 400 ml gepuffertem Peptonwasser (BPW). Spülen Sie bei einer Spülung roher Geflügelteile 1,8 bis 2 kg (4 lb ± 10 %) Geflügel mit 400 ml BPW[1,8].
2. Lassen Sie überschüssige Flüssigkeit bei Schlachtkörpern und rohen Geflügelteilen abtropfen, bevor Sie die Probe spülen, um ein Verschleppen überschüssiger Prozessflüssigkeiten in den Probenbeutel zu verhindern[8].

3. Bei Geflügel, das mit Cetylpyridiniumchlorid (CPC) behandelt wurde, es ist erforderlich, 5 ml Polysorbat 80 (IUPAC: Polyoxyethylen (20)-sorbitan-monooleat; CAS 9005-65-6) pro Liter der präparierten Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzuzufügen. Polysorbat 80 kann Wasser vor der Sterilisierung hinzugefügt werden, um die Auflösung zu fördern oder direkt sterilem Wasser hinzugefügt werden, bevor die Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon präpariert wird.
4. Übertragen Sie 30 ml Spülungsflüssigkeit in einen Sterilbeutel und geben Sie 30 ml Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzu.

b. Schlachtkörperschwamm

1. Schwämme sollten vor der Probenahme mit bis zu 25 ml BPW befeuchtet werden[1]. Bei einem Transport der Proben sicherstellen, dass der Beutel abgerollt ist und bei 2–8 °C gelagert wird.
2. Entnehmen Sie die Probe mittels Tupfer oder Schwamm vom Geflügelkadaver.
3. Platzieren Sie den Tupfer in einem Sterilbeutel und geben Sie 25 ml Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzu. Stellen Sie sicher, dass der Tupfer oder Schwamm vom Anreicherungsmedium bedeckt ist.

c. Rohe Geflügelprodukte

1. Wiegen Sie eine Probe von 325 ± 32,5 g aseptisch ab und platzieren Sie diese in einem sterilen Beutel. Fügen Sie dem rohen Geflügelprodukt 1625 ± 32,5 ml BPW hinzu. Zum Auflösen von Klumpen vermengen Sie alles gründlich durch eine kurze Handmassage.
2. Geben Sie nach der Vermengung 30 ml der rohen Geflügelproduktmischung in einen sterilen Beutel, fügen Sie 30 ml Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzu und vermengen Sie alles gründlich.

d. Rohes und verzehrfertiges Fleisch

1. Wiegen Sie eine Probe von 25 g aseptisch ab und platzieren Sie diese in einem sterilen Beutel. Zur Vereinfachung der Probenahme wird ein Filterbeutel empfohlen.
2. Geben Sie 225 ml Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzu.
3. Massieren Sie den Beutel per Hand, um Klumpen aufzulösen, und vermeiden Sie eine Blasenbildung beim Mischen. Verarbeiten Sie den Beutel nicht durch Vermischung oder Verdauung.

e. Probentupfer aus der Primärproduktion

1. Entnehmen Sie eine Probe mit Probentupfer oder -socken gemäß Ihren bestehenden Verfahren zur Probennahme.
2. Platzieren Sie EINE Socke in einem Sterilbeutel und geben Sie 100 ml Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzu.

f. Kratzschwämme

1. Entnehmen Sie die Probe mit einem vorbefeuchteten Probentupfer gemäß Ihren bestehenden Verfahren zur Probennahme.
2. Platzieren Sie den Tupfer in einem Sterilbeutel und geben Sie 100 ml Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzu.

Inkubation

1. Rollen Sie den Beutel ab, um Luft und Raum zu minimieren und um die Anreicherung vor Luft zu schützen. Massieren Sie den Beutel vorsichtig ungefähr 10 ± 2 Sekunden lang. **Verarbeiten Sie den Beutel nicht durch Vermischung oder Verschneiden und achten Sie darauf, Blasenbildung beim Mischen zu vermeiden.**
2. Inkubieren Sie den Beutel aerob bei 41,5 ± 1 °C; die korrekte Inkubationszeit können Sie Tabelle 2 entnehmen.

WARNUNG: Sollten Sie einen Neutralisationspuffer mit Acrylsulfonat-Komplex als Hydrierlösung für den Schwamm verwenden, müssen Sie vor dem Testen eine 1:2-Verdünnung (1 Teil Probe in 1 Teil steriler Anreicherungsbouillon) der angereicherten Umgebungsprobe vornehmen, um die mit einem falsch negativen Ergebnis verbundenen Risiken, die zur Freigabe eines kontaminierten Produkts führen können, zu verringern. Ebenso können Sie 10 µl Anreicherungsmedium mit Neutralisationspuffer in die Neogen Lyselösungsgefäße übertragen.

Der Anwender ist selbst für die Validierung von alternativen Probennahmeprotokollen oder Verdünnungsverhältnissen verantwortlich, durch die sichergestellt werden muss, dass dieses Testverfahren den Anforderungen entspricht.

Tabelle 2. Allgemeine Anreicherungsprotokolle.

Probenmatrix	Probengröße	Neogen *Campylobacter* Anreicherungs-bouillon (ml)[b]	Anrei-cherungs-temperatur (± 1 °C)	Anrei-cherungszeit (Stunden)	Probenanaly-sevolumen (µl)[c]
• Schlachtkörperspülungen[a] • Geflügelspülungen[a]	30 ml Spülungsflüssigkeit in gepuffertes Peptonwasser (BPW)	30	41,5	22–26	20
• Schlachtkörperschwamm[a]	1 Schwamm, mit bis zu 25 ml BPW vorbefeuchtet	25	41,5	22–26	20
• Rohes Fleisch • Verzehrfertiges Fleisch	25 g	225	41,5	24–28	20
• Sockenproben aus Primärproduktion	1 Probensocke	100	41,5	22–26	20
• Kratzschwämme aus Primärproduktion	1 vorbefeuchtete Vorrichtung	100	41,5	22–26	20

(a) Wird Geflügel mit Cetylpyridiniumchlorid (CPC) behandelt, müssen 5 ml (Polysorbat 80; IUPAC: Polyoxyethylen (20)-sorbitan-monooleat; CAS 9005-65-6) pro Liter der präparierten Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzuzufügen. Polysorbat 80 kann Wasser vor der Sterilisierung oder sterilem Wasser hinzugefügt werden, bevor die Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon präpariert wird.

(b) Die Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon sollte innerhalb von 24 Stunden nach der Präparation verwendet werden. Das Medium sollte vor der Verwendung auf Raumtemperatur (25–30 °C) sein.

(c) Massieren Sie vorsichtig die Unterseite des Beutels, bevor Sie eine Probe zur Analyse entnehmen. **Rollen Sie nach der Probenahme den Beutel ab, um eine Exposition gegenüber Luft zu vermeiden.** Für erneute Tests oder Bestätigungsschritte können weitere Proben erforderlich sein.

Spezifische Anweisungen für validierte Verfahren

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) Zertifikat Nr. 111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

In PTM℠-Studien des AOAC-Forschungsinstituts wurde der Neogen Molekulare Detektions Assay 2 – *Campylobacter* als effektive Methode für den Nachweis von *Campylobacter* bewertet. Die in der Studie getesteten Matrizes sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3. Anreicherungsprotokolle gemäß AOAC PTM℠ Zertifikat Nr. 111803.

Probenmatrix	Probengröße	Neogen *Campylobacter*-Anreicherungsbouillon (ml)[c]	Anreicherungstemperatur (± 1 °C)	Anreicherungszeit (Stunden)	Probenanalysevolumen (µl)[d]
Spülung eines ganzen Schlachtkörpers in 400 ml BPW[a] [b]	30 ml Spülungsflüssigkeit in gepuffertes Peptonwasser (BPW)	30	41,5	22–26	20
Spülung eines Geflügelteils (1,8 bis 2 kg) in 400 ml BPW[a] [b]	30 ml Spülungsflüssigkeit in gepuffertes Peptonwasser (BPW)	30	41,5	22–26	20
Puten-Schlachtkörperschwamm[a] [b]	1 Schwamm, mit bis zu 25 ml BPW vorbefeuchtet	25	41,5	24–26	20
Spülung von Geflügelhack (325 ± 32,5 g) in 1625 ± 32,5 ml BPW[b]	30 ml Produktmischung in gepuffertes Peptonwasser (BPW)	30	41,5	24–28	20
Hähnchenteile	25 g	225	41,5	24–28	20

(a) Wird Geflügel mit Cetylpyridiniumchlorid (CPC) behandelt, müssen 5 ml (Polysorbat 80; IUPAC: Polyoxyethylen (20)-sorbitan-monooleat; CAS 9005-65-6) pro Liter der präparierten Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon hinzuzufügen. Polysorbat 80 kann Wasser vor der Sterilisierung oder sterilem Wasser hinzugefügt werden, bevor die Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon präpariert wird.

(b) Alternativ kann diese Matrix mit 30 ml 2X blutfreier Bolton-Anreicherungsbouillon (BF-BEB) 48 ± 2 Stunden lang bei 42 ± 1,0 °C unter mikroaeroben Bedingungen angereichert werden. Übertragen Sie 20 µl Probe in eine Neogen-Lyselösung.

(c) Die Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon sollte innerhalb von 24 Stunden nach der Präparation verwendet werden. Das Medium sollte vor der Verwendung auf Raumtemperatur (25–30 °C) sein.

(d) Massieren Sie vorsichtig die Unterseite des Beutels, bevor Sie eine Probe zur Analyse entnehmen. **Rollen Sie nach der Probenahme den Beutel ab, um eine Exposition gegenüber Luft zu vermeiden.** Für erneute Tests oder Bestätigungsschritte können weitere Proben erforderlich sein.

Vorbereitung der Neogen® Molekulare Detektion – Beladehilfe

1. Befeuchten Sie ein Tuch oder ein Einwegtuch mit einer 1–5%igen Haushaltsbleichmittellösung (v:v in Wasser) und wischen Sie die Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe ab.
2. Spülen Sie die Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe mit Wasser ab.
3. Trocknen Sie die Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe mit einem Einmalhandtuch.
4. Vergewissern Sie sich, dass die Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe vor dem Gebrauch trocken ist.

Vorbereitung des Neogen® Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatzes

Stellen Sie den Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz direkt auf die Laborbank: Der Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockträger wird nicht verwendet. Verwenden Sie den Block bei Raumtemperatur (20–25 °C).

Vorbereitung des Neogen® Molekulare Detektion – Heizblockeinsatzes

Legen Sie den Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz in ein Trocken-Doppelblock-Heizgerät. Schalten Sie das Trocken-Blockheizgerät ein und stellen Sie die Temperatur für den Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz auf 100 ± 1 °C ein.

HINWEIS: Warten Sie je nach Heizgerät etwa 30 Minuten, bis der Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die geeignete Temperatur erreicht hat. Stellen Sie mit einem kalibrierten Thermometer (z. B. ein Thermometer zum partiellen Eintauchen oder ein Digitalthermometer, kein Tauchthermometer) an der vorgesehenen Messposition fest, ob der Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die erforderliche Temperatur von 100 ± 1 °C erreicht hat.

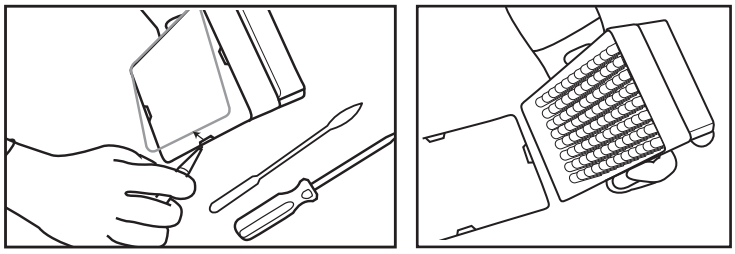
Vorbereitung des Neogen® Molekulare Detektion – Geräts

1. Starten Sie die Neogen® Molekulare Detektion – Software und loggen Sie sich ein. Setzen Sie sich mit dem Ihrem Neogen Food Safety Verkaufsvertreter in Verbindung, um sicherzustellen, dass Sie über die aktuellste Softwareversion verfügen.
2. Schalten Sie das Neogen Molekulare Detektion – Gerät ein.
3. Erstellen oder bearbeiten Sie für jede Probe einen Testdurchlauf. Weitere Details entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch zum Neogen Molekularen Detektionssystem.

HINWEIS: Das Neogen Molekulare Detektion – Gerät muss bereit sein, bevor die Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe mit den Reaktionsgefäßen eingesetzt werden kann. Dieses Erwärmungsverfahren nimmt etwa 20 Minuten in Anspruch und wird durch eine ORANGEFARBENE Leuchte auf der Statusleiste des Geräts angezeigt. Sobald das Gerät einsatzbereit ist, wechselt die Leuchte der Statusleiste auf GRÜN.

Lyse

Entfernen Sie die Unterseite des Neogen Lyselösungs-Trägers mit einem Schraubendreher, bevor Sie ihn im Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz platzieren.



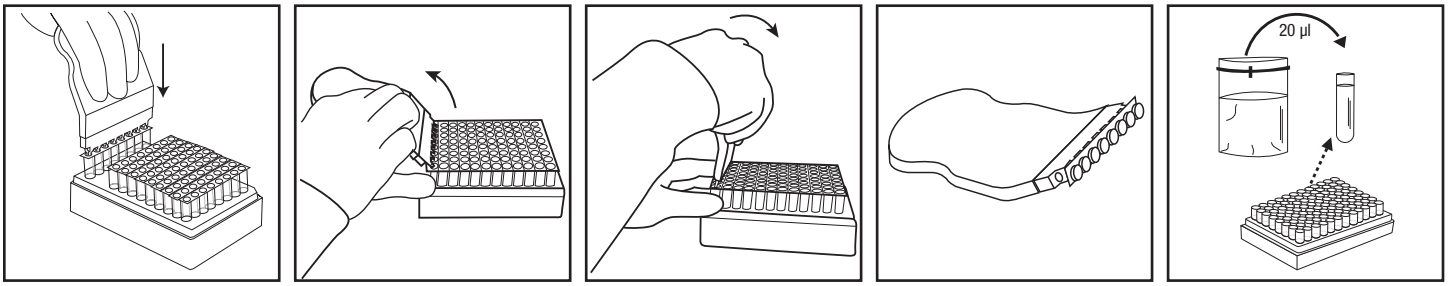
1. Lassen Sie die Neogen Lyselösung im Gefäß über Nacht (16–18 Stunden) bei Raumtemperatur (20–25 °C) aufwärmen. Um die Neogen Lyselösungsgefäße auf Raumtemperatur zu erwärmen, können Sie sie für mindestens 2 Stunden auf die Laborbank stellen, für 1 Stunde bei 37 ± 1 °C inkubieren oder sie für 30 Sekunden bei 100 °C in ein Trocken-Doppelblock-Heizgerät setzen.
2. Mischen Sie die mit Kappen verschlossenen Gefäße. Fahren Sie innerhalb von 4 Stunden nach dem Mischen mit dem nächsten Schritt fort.
3. **Nehmen Sie die angereicherte Probe aus dem Inkubator.**
   - **3.1.1 Massieren Sie den Boden des Anreicherungsbeutels vorsichtig, bevor Sie die Probe in das Neogen-Lyselösungs-Gefäß übertragen.**
   - **3.1.2 Für erneute Tests oder Bestätigungsschritte können weitere Proben erforderlich sein. Rollen Sie nach der Probenahme den Beutel ab, um Luft und Raum zu minimieren und, und um die Anreicherung vor Luft zu schützen. Falls eine Bestätigung der mutmaßlichen Ergebnisse erforderlich ist, fahren Sie mit den Bestätigungsschritten fort, sobald die mutmaßlichen Ergebnisse vorliegen.**
4. Für jede Probe (steriles Anreicherungsmedium) und die Negativkontrolle (NC) wird jeweils ein Gefäß mit Neogen Lyselösung benötigt.
   - 4.1 Die Neogen Lyselösung-Gefäßstreifen können auf die gewünschte Anzahl an Gefäßen zurechtgeschnitten werden. Wählen Sie die erforderliche Anzahl Gefäße oder Streifen mit 8 Gefäßen aus. Setzen Sie die Neogen Lyselösungsgefäße in einen leeren Gefäßträger.
   - 4.2 Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, öffnen Sie jeweils nur einen Neogen Lyselösungs-Gefäßstreifen und verwenden Sie bei jeder einzelnen Übertragung eine neue Pipette.
   - 4.3 Übertragen Sie die angereicherte Probe wie unten beschrieben auf die Neogen Lyselösungsgefäße:

     Übertragen Sie **zuerst** die angereicherten Proben jeweils einzeln in ein Neogen Lyselösungsgefäß. Übertragen Sie die NC **zuletzt.**

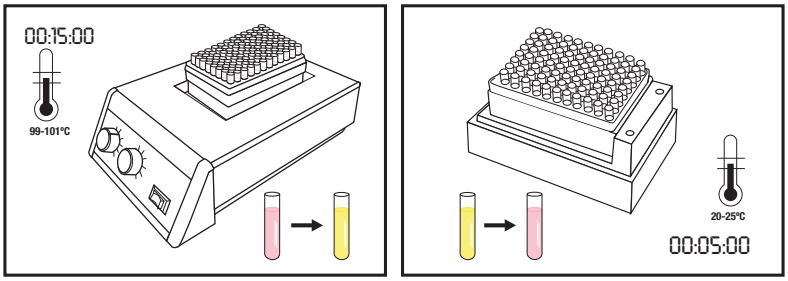
   - 4.4 Öffnen Sie jeden Neogen Streifen mit Lyselösungsgefäßen einzeln mit dem Neogen® Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeug – Lyse.

4.5 Entsorgen Sie die Kappen der Neogen Lyselösungsgefäße. Wenn noch Lysat für weitere Tests übrigbleibt, bewahren Sie die Kappen in einem sauberen Container auf, um sie nach der Lyse wieder aufzusetzen.
4.5.1 Informationen zur Verarbeitung von nicht verwendetem Lysat finden Sie in Anhang A.
4.6 Übertragen Sie 20 µl Probe in eine Neogen-Lyselösung.

5. Wiederholen Sie bei Bedarf die Schritte 4.4 bis 4.6 bei allen zu prüfenden Proben.



6. Sobald Sie alle Proben übertragen haben, übertragen Sie 20 µl der Negativkontrolle (steriles Anreicherungsmedium, z. B. gepuffertes Peptonwasser BPW) in ein Neogen Lyselösungsgefäß. Als Negativkontrolle kein Wasser verwenden.
7. Stellen Sie fest, ob der Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz die erforderliche Temperatur von 100 ± 1 °C erreicht hat.
8. Stellen Sie den Träger ohne Deckel mit Neogen Lyselösungsgefäßen in den Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz und erwärmen Sie ihn 15 Minuten ± 1 Minute lang. Dabei ändert sich die Farbe der Neogen Lyselösung von rosafarben (kalt) zu gelb (heiß).
   8.1 Proben, die während der Lyse nicht ordnungsgemäß wärmebehandelt wurden, stellen möglicherweise ein biologisches Risiko dar und sollten NICHT in das Neogen Molekulare Detektions – Gerät eingesetzt werden.
9. Nehmen Sie den Träger ohne Deckel mit den Neogen Lyselösungsgefäßen aus dem Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz. Lassen Sie ihn im Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz 5 bis 10 Minuten lang abkühlen. Der Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz wird bei Raumtemperatur ohne den Neogen® Molekulare Detektion – Kühlblockträger verwendet und sollte direkt auf die Laborbank gesetzt werden. Wenn die Neogen-Lyselösung abgekühlt ist, nimmt sie wieder eine rosa Farbe an.
10. Nehmen Sie den Träger mit den Neogen Lyselösungsgefäßen aus dem Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz.

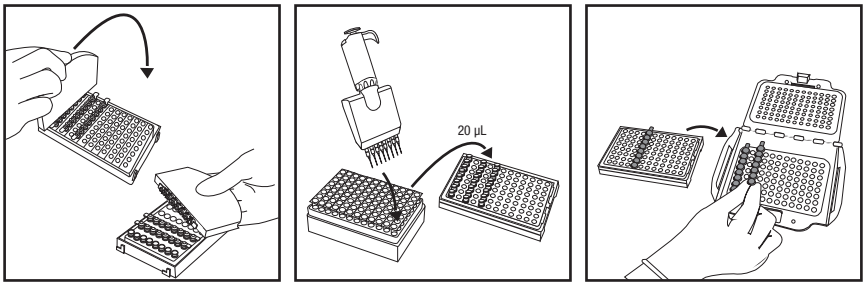


Amplifikation

1. Für jede Probe und ihre Negativkontrolle ist ein Reagenzgefäß für Neogen Molekularer Detektions Assay 2 – *Campylobacter* erforderlich.
   1.1 Die Gefäßstreifen können auf die gewünschte Anzahl der Gefäße zurechtgeschnitten werden. Wählen Sie die Anzahl der erforderlichen Reagenzgefäße für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* bzw. der Gefäßstreifen zu 8 Gefäßen.
   1.2 Setzen Sie die Gefäße in einen leeren Gefäßträger.
   1.3 Vermeiden Sie es, die Reagenzkügelchen im unteren Teil der Gefäße aufzurühren.
2. Wählen Sie ein Gefäß mit Neogen Reagenzkontrolle und stellen Sie es in den Gefäßträger.
3. Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, öffnen Sie jeweils nur einen Reagenzgefäßstreifen des Neogen Molekularen Detektions Assays 2 – *Campylobacter* und verwenden Sie bei jedem Übertragungsschritt eine neue Pipettenspitze.
4. Übertragen Sie wie unten beschrieben die einzelnen Lysate in ein Reagenzgefäß für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* und ein Gefäß mit Neogen Reagenzkontrolle:

Übertragen Sie jedes Probenlysat **zuerst** in ein eigenes Reagenzgefäß für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter*, gefolgt von der Negativkontrolle. Hydrieren Sie das Gefäß mit Neogen Reagenzkontrolle **als letztes**.

5. Öffnen Sie die Reagenzgefäße für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* mit dem Neogen® Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeug – Reagenz, und zwar immer nur einen Streifen auf einmal. Werfen Sie die Kappe weg.
   5.1 **Übertragen Sie 20 µl des Probenlysats aus der oberen Hälfte der Flüssigkeit (Ablagerungen vermeiden) im Neogen Lyselösungsgefäß in das entsprechende Reagenzgefäß für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter*. Pipettieren Sie schräg in die Gefäße, um ein Aufrühren der Kügelchen zu vermeiden. Mischen Sie anschließend den Gefäßinhalt, indem Sie ihn 5 Mal auf und ab pipettieren.**
   5.2 Wiederholen Sie Schritt 5.1, bis Sie jedes einzelne Probenlysat einem entsprechenden Reagenzgefäß für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* im Streifen hinzugefügt haben.
   5.3 Verschließen Sie die Reagenzgefäße für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* mit den mitgelieferten zusätzlichen Kappen und üben Sie mit der abgerundeten Seite des Neogen Molekulare Detektion – Cap/Decap-Werkzeugs – Reagenz in einer Vorwärts- und Rückwärtsbewegung Druck aus, um sicherzustellen, dass die Kappe fest sitzt.
   5.4 Wiederholen Sie bei Bedarf die Schritte 5.1 bis 5.3 bei allen zu prüfenden Proben.
   5.5 Sobald Sie alle Probenlysate übertragen haben, wiederholen Sie die Schritte 5.1 bis 5.3, um 20 µl des NC-Lysats in ein Reagenzgefäß für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* zu übertragen.
   5.6 Übertragen Sie **20 µl des NC-Lysats in ein Gefäß mit Neogen Reagenzkontrolle.** Pipettieren Sie schräg in die Gefäße, um ein Aufrühren der Kügelchen zu vermeiden. Mischen Sie anschließend den Gefäßinhalt, indem Sie ihn 5 Mal auf und ab pipettieren.
6. Beladen Sie eine saubere und dekontaminierte Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe mit den mit Kappen verschlossenen Gefäßen. Schließen und verriegeln Sie die Klappe der Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe.



7. Überprüfen und bestätigen Sie die Konfiguration des Testdurchlaufs in der Neogen Molekulare Detektion – Software.
8. Klicken Sie auf die Schaltfläche „Start“ in der Software und wählen Sie anschließend das zu verwendende Gerät aus. Die Klappe des gewählten Geräts öffnet sich automatisch.
9. Setzen Sie die Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe in das Neogen Molekulare Detektion – Gerät und schließen Sie die Klappe, um mit dem Test zu beginnen. Die Ergebnisse sind innerhalb von 60 Minuten verfügbar, obgleich positive Ergebnisse möglicherweise schneller erfasst werden.
10. Nehmen Sie nach Abschluss des Tests die Neogen Molekulare Detektion – Beladehilfe aus dem Neogen Molekulare Detektion – Gerät und entsorgen Sie die Gefäße, indem Sie sie 1 Stunde lang in ausreichender Entfernung vom Vorbereitungsbereich in einer 1–5%igen Haushaltsbleichmittellösung (v:v in Wasser) einweichen.

HINWEIS: Um das Risiko eines falsch positiven Ergebnisses infolge einer Kreuzkontamination zu minimieren, öffnen Sie niemals Reagenzgefäße, die amplifizierte DNS enthalten. Dies betrifft Reagenzien für den Neogen Molekularen Detektions Assay 2 – *Campylobacter* sowie Gefäße mit Neogen Reagenzkontrolle und Neogen Matrixkontrolle. Die verschlossenen Reagenzgefäße stets durch einstündiges Einweichen in einer Lösung mit 1–5 % Haushaltsbleichmittel (v:v in Wasser) außerhalb des Vorbereitungsbereichs des Nachweises entsorgen.

Auslegung der Ergebnisse

Die durch die Detektion der Nukleinsäureamplifikation entstehende Lichtkurve wird anhand eines Algorithmus ausgewertet. Die Ergebnisse werden automatisch von der Software analysiert und je nach Ergebnis farbcodiert. Ein positives oder negatives Ergebnis wird durch die Analyse einer bestimmten Anzahl an eindeutigen Kurvenparametern bestimmt. Die vorläufigen positiven Ergebnisse werden in Echtzeit erstellt, während negative und zu überprüfende Ergebnisse erst nach Abschluss des Testdurchlaufs dargestellt werden.

Vorläufig positive Ergebnisse sollten anhand der Standardarbeitsanweisung (SOP) für Laboratorien oder durch das anschließende Referenzverfahren[1,2] bestätigt werden, beginnend mit der Übertragung der Neogen *Campylobacter* Anreicherungsbouillon auf selektive *Campylobacter*-Platten mit mikroaerophiler Inkubation und Bestätigung von Isolaten anhand entsprechender biochemischer, mikroskopischer und serologischer Verfahren. Rollen Sie nach der Probenahme den Anreicherungsbeutel ab, um die Qualität optimal zu bewahren.

HINWEIS: Selbst ein negatives Ergebnis führt nicht zu einem Ergebnis von null, da das System und die Amplifikationsreagenzien des Neogen Molekularen Detektions Assays 2 – *Campylobacter* über einen „Hintergrund“ verfügen, der in relativem Verhältnis zur Lichteinheit (RLU) steht.

Falls es in seltenen Fällen zu einer ungewöhnlichen Lichtleistung kommt, wird diese vom Algorithmus als „Zu überprüfen“ gekennzeichnet. Neogen empfiehlt, den Nachweis der so gekennzeichneten Proben zu wiederholen. Falls das Ergebnis weiterhin als „Zu überprüfen“ gekennzeichnet bleibt, bestätigen Sie das Ergebnis anhand Ihres bevorzugten Testverfahrens oder gemäß den jeweils geltenden Richtlinien[1,2].

Anhang A. Unterbrechungen: Lagerung und erneutes Testen von wärmebehandelten Lysaten

1. Um ein wärmebehandeltes Lysat zu lagern, setzen Sie eine saubere Kappe auf das Neogen Lyselösungsgefäß (siehe Lyse, Abschnitt 4.5).
2. Lagern Sie sie bis zu 72 Stunden bei 2 bis 8 °C.
3. Bereiten Sie eine gelagerte Probe zur Amplifikation vor, indem Sie sie zum Mischen 2 bis 3 Mal umdrehen.
4. Öffnen Sie die Gefäße.
5. Setzen Sie die gemischten Lysatgefäße in den Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz und erwärmen Sie sie 5 Minuten ± 1 Minute lang bei 100 ± 1 °C.
6. Nehmen Sie den Träger mit den Neogen Lyselösungsgefäßen aus dem Neogen Molekulare Detektion – Heizblockeinsatz. Lassen Sie ihn im Neogen Molekulare Detektion – Kühlblockeinsatz 5 bis 10 Minuten lang abkühlen.
7. Setzen Sie das Protokoll ab dem oben beschriebenen Abschnitt **Amplifikation** fort.

Literaturnachweise:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Eine Kopie dieses Dokuments erhalten Sie über Ihren Neogen Food Safety-Repräsentanten.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

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
Scotland, UK

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



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

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Istruzioni sul prodotto

Analisi molecolare di seconda generazione per il rilevamento di *Campylobacter*

Descrizione del prodotto e uso previsto

L'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen® per il rilevamento di *Campylobacter* è utilizzata con il Sistema per l'analisi molecolare Neogen® per il rilevamento rapido e specifico di *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* e *Campylobacter coli* in alimenti arricchiti e campioni ambientali derivanti da processi di trasformazione alimentare.

L'Analisi molecolare Neogen per il rilevamento dei microrganismi patogeni utilizza l'amplificazione isotermica mediata da loop per amplificare rapidamente le sequenze di acidi nucleici a elevata specificità e sensibilità, combinata alla bioluminescenza per rilevare l'amplificazione. I risultati presunti positivi sono riportati in tempo reale, mentre quelli negativi si visualizzano al completamento dell'analisi. I risultati presunti positivi vanno confermati utilizzando il proprio metodo d'elezione o secondo quanto specificato dalle normative locali[1,2].

L'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* è destinata all'uso in un ambiente di laboratorio da parte di professionisti formati in tecniche di laboratorio. Neogen non ha documentato l'utilizzo del presente prodotto in settori diversi da quello alimentare e delle bevande. Ad esempio, Neogen non ha documentato il presente prodotto per l'analisi su campioni di tipo farmaceutico, cosmetico, clinico o veterinario. L'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* non è stata valutata con tutti i possibili prodotti alimentari, processi alimentari, protocolli di test o ceppi di batteri.

Come tutti i metodi analitici, i risultati possono essere influenzati dall'origine, dalla formulazione e dalla qualità del terreno di arricchimento. Anche fattori quali i metodi di campionamento, i protocolli di analisi, la preparazione del campione, la manipolazione e le tecniche di laboratorio possono influenzare i risultati. Neogen consiglia la valutazione del metodo, compreso il terreno di arricchimento, nell'ambiente dell'utente, utilizzando un numero sufficiente di campioni che presentano particolari caratteristiche alimentari e microbiche, per assicurare che il metodo soddisfi i criteri dell'utente.

Neogen ha valutato l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* con il Brodo di arricchimento Neogen® per *Campylobacter* e il brodo di arricchimento privo di sangue Bolton.

Lo Strumento per l'analisi molecolare Neogen® è destinato all'uso su campioni sottoposti a trattamento termico durante la fase di lisi dell'analisi, atto ad annientare gli organismi presenti nel campione. I campioni non correttamente trattati termicamente durante la fase di lisi dell'analisi possono essere considerati un potenziale rischio biologico e NON devono essere inseriti nello Strumento per l'analisi molecolare Neogen.

Neogen Food Safety è certificata ISO (International Organization for Standardization) 9001 per la progettazione e la produzione.

Il kit di prova per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* è composto da 96 test, descritti nella Tabella 1.

Tabella 1. Componenti del kit di analisi molecolare Neogen

Articolo	Identificazione	Quantità	Contenuto	Commenti
Soluzione di lisi (LS) Neogen®	Soluzione rosa in tubi trasparenti	96 (12 strisce da 8 tubi)	580 µl di LS per tubo	In rastrelliera e pronti all'uso
Tubi di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen® per il rilevamento di *Campylobacter*	Tubi viola	96 (3 buste; contenenti 4 strisce da 8 tubi)	Miscela di rilevamento e amplificazione specifica liofilizzata	Pronti all'uso
Tappi supplementari	Tappi viola	96 (12 strisce da 8 tappi)		Pronti all'uso
Controllo reagente Neogen® (RC)	Tubi trasparenti con apertura a scatto	16 (2 buste da 8 tubi singoli)	Miscela di rilevamento e amplificazione DNA di controllo liofilizzato	Pronti all'uso

Il controllo negativo (NC), non fornito nel kit, è un terreno di arricchimento sterile, ad esempio Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*. Non utilizzare l'acqua come NC.

Una guida introduttiva rapida è disponibile sul sito web www.neogen.com

Sicurezza

L'utente è tenuto a leggere, comprendere e seguire tutte le informazioni per la sicurezza contenute nelle istruzioni del Sistema per l'analisi molecolare Neogen e dell'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter*. Conservare le istruzioni di sicurezza per poterle consultare in futuro.

⚠ **AVVERTENZA:** indica una situazione pericolosa che, se non evitata, potrebbe provocare la morte o lesioni gravi e/o danni materiali.

AVVISO: indica una situazione potenzialmente pericolosa che, se non evitata, potrebbe provocare danni materiali.

⚠ AVVERTENZA

Non utilizzare l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* per la diagnosi delle condizioni di soggetti umani o animali.

L'utente deve addestrare il proprio personale nell'esecuzione corretta delle tecniche di prova: ad esempio, buone prassi di laboratorio[3], ISO/IEC 17025[4], o ISO 7218[5].

Per ridurre i rischi associati a risultati falsi negativi che comportano l'emissione di un prodotto contaminato:

- Attenersi al protocollo ed eseguire i test esattamente come descritto nelle Istruzioni sul prodotto.
- Conservare l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* come indicato sulla confezione e nelle Istruzioni sul prodotto.
- Utilizzare sempre l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* entro la data di scadenza.
- Preparare il Brodo di arricchimento Neogen® per *Campylobacter* seguendo le Istruzioni sul prodotto
- Non sterilizzare in autoclave il Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*
- Utilizzare l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* su campioni ambientali e alimentari che sono stati validati internamente o da terzi.
- Utilizzare l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* solo con superfici, disinfettanti, protocolli e ceppi di batteri che sono stati validati internamente o da terzi.
- Per un campione ambientale contenente un tampone neutralizzante con il complesso di aril solfonato, eseguire una diluizione in rapporto 1:2 prima di eseguire il test (1 parte di campione in 1 parte di brodo di arricchimento sterile). Un'altra opzione consiste nel trasferire 10 µl di arricchimento del tampone neutralizzante all'interno dei tubi per soluzione di lisi Neogen. Prodotti per il trattamento dei campioni di Neogen® che includono Tampone neutralizzante con complesso aril-solfonato: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G, e HS2410NB2G.

Per ridurre i rischi associati all'esposizione a sostanze chimiche e a pericoli biologici

- Eseguire un test per patogeni in un laboratorio adeguatamente equipaggiato, sotto la supervisione di personale esperto. Il terreno di arricchimento incubato e le attrezzature o le superfici che sono venute in contatto con il terreno di arricchimento incubato potrebbero contenere patogeni a livelli sufficienti da comportare rischi per la salute umana.
- Durante la manipolazione di reagenti e campioni contaminati, seguire sempre le pratiche standard di sicurezza di laboratorio, compreso l'utilizzo di abbigliamento protettivo e protezioni appropriate per gli occhi.
- Evitare il contatto con il contenuto dei tubi di reagente e del terreno di arricchimento dopo l'amplificazione.
- Smaltire i campioni arricchiti in conformità agli standard normativi locali/regionali/nazionali.
- I campioni non correttamente trattati termicamente durante la fase di lisi dell'analisi possono essere considerati un potenziale rischio biologico e NON devono essere inseriti nello Strumento per l'analisi molecolare Neogen.

Per ridurre i rischi associati alla contaminazione crociata durante la preparazione dell'analisi

- Indossare sempre i guanti (per proteggere l'utente e prevenire l'introduzione di nucleasi).

Per ridurre i rischi associati all'esposizione a liquidi caldi

- Non superare l'impostazione di temperatura raccomandata sul riscaldatore.
- Non superare il tempo di riscaldamento raccomandato.
- Utilizzare un termometro calibrato e appropriato per verificare la temperatura dell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen® (ad es., un termometro a immersione parziale o con termocoppia digitale, non un termometro a immersione totale). Il termometro deve essere collocato nella posizione indicata nell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen.

AVVISO

Per ridurre i rischi associati alla contaminazione crociata durante la preparazione dell'analisi

- Cambiare i guanti prima di idratare le pastiglie di reagente.
- Si consiglia di utilizzare punte di pipetta di grado biologico molecolare sterili con barriera di aerosol (filtrate).
- Utilizzare una nuova punta di pipetta per ciascun trasferimento di campione.
- Adottare buone prassi di laboratorio per trasferire il campione dall'arricchimento al tubo di lisi. Per evitare la contaminazione della pipettatrice, l'utente può scegliere di aggiungere una fase di trasferimento intermedia. Ad esempio, l'utente può trasferire ciascun campione arricchito in un tubo sterile.
- Utilizzare una stazione di lavoro di biologia molecolare contenente una lampada germicida, laddove disponibile.
- Decontaminare periodicamente i banchi e l'attrezzatura di laboratorio (pipette, strumenti di inserimento/rimozione del tappo ecc.) con una soluzione di candeggina per uso domestico all'1-5% (diluita in acqua v:v) o una soluzione per la rimozione del DNA.

Per ridurre i rischi associati a un risultato falso positivo

- Non aprire mai i tubi di reagente dopo l'amplificazione.
- Gettare sempre i tubi contaminati immergendoli in una soluzione di candeggina per uso domestico all'1-5% (diluita in acqua v:v) per 1 ora lontano dall'area di preparazione dell'analisi.
- Non sterilizzare mai in autoclave i tubi di reagente dopo l'amplificazione.

Per ulteriori informazioni, consultare la Scheda di sicurezza dei materiali e le normative locali per lo smaltimento.

Per qualsiasi domanda su applicazioni o procedure specifiche, visitare il nostro sito web all'indirizzo www.neogen.com o contattare il distributore o il rappresentante Neogen di zona.

Responsabilità dell'utente

Gli utenti sono tenuti a leggere e apprendere le istruzioni e le informazioni sul prodotto. Visitare il nostro sito web all'indirizzo **www.neogen.com** o contattare il distributore locale o rappresentante Neogen per ulteriori informazioni.

Nella scelta di un metodo di test, è importante tener conto del fatto che fattori esterni quali i metodi di campionamento, i protocolli di test, la preparazione del campione, la manipolazione, le tecniche di laboratorio e il campione stesso possono influenzare i risultati.

È responsabilità dell'utente, nel selezionare un qualsiasi metodo di analisi o prodotto, valutare un numero sufficiente di campioni con le matrici appropriate e con particolari caratteristiche microbiche per soddisfare i criteri relativi alla metodologia di analisi scelta dall'utente.

L'utente ha inoltre la responsabilità di accertarsi che tutti i metodi di analisi utilizzati e i risultati ottenuti soddisfino i requisiti dei propri clienti e fornitori.

Come per qualsiasi metodo di analisi, i risultati ottenuti grazie al prodotto di Neogen Food Safety non costituiscono una garanzia della qualità delle matrici o dei processi sottoposti a prova.

Per aiutare i clienti nella valutazione del metodo per le varie matrici alimentari, Neogen ha elaborato il kit di Controllo della matrice di rilevamento molecolare Neogen®. Quando necessario, utilizzare il Controllo della matrice per il sistema di rilevamento molecolare Neogen (MC) per determinare se questa sia in grado di condizionare i risultati dell'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter*. In caso di adozione di un metodo Neogen, durante qualsiasi periodo di valutazione o durante l'esecuzione di test su matrici note o sconosciute o su matrici che hanno subito modifiche di materie prime o in seguito alla lavorazione, analizzare numerosi campioni rappresentativi della matrice, cioè campioni di diversa origine.

Si definisce matrice un tipo di prodotto con proprietà intrinseche quali la composizione e la lavorazione. Le differenze fra le matrici possono essere semplici come gli effetti causati dalle differenze nella loro lavorazione o presentazione, ad esempio: crude o pastorizzate, fresche o secche, ecc.

Limitazione di garanzia/Rimedio limitato

SALVO NEI CASI ESPRESSAMENTE INDICATI IN UNA SEZIONE DI GARANZIA LIMITATA DELLA CONFEZIONE DEL SINGOLO PRODOTTO, NEOGEN NON RICONOSCE ALCUNA GARANZIA ESPLICITA O IMPLICITA, INCLUSE, MA NON A ESSE LIMITATE, LE EVENTUALI GARANZIE DI COMMERCIABILITÀ O DI IDONEITÀ A UNO SCOPO PARTICOLARE. Qualora un prodotto della Neogen Food Safety sia difettoso, Neogen o il suo distributore autorizzato provvederanno, a loro discrezione, alla sostituzione o al rimborso del prezzo d'acquisto del prodotto. Questi sono gli unici rimedi a disposizione del cliente. Si dovrà avvisare immediatamente Neogen entro sessanta giorni dal riscontro di eventuali difetti sospetti nel prodotto, provvedendo a rispedirlo a Neogen. Per ulteriori domande, contattare il rappresentante Neogen o il distributore autorizzato Neogen.

Limitazione di responsabilità da parte di Neogen

NEOGEN NON SARÀ RESPONSABILE DI PERDITE O DANNI, DIRETTI, INDIRETTI, SPECIALI, INCIDENTALI O EMERGENTI, INCLUSA, MA NON IN VIA STRETTAMENTE LIMITATIVA, LA PERDITA DI PROFITTO. In nessun caso la responsabilità legale di Neogen andrà oltre il prezzo d'acquisto del prodotto presunto difettoso.

Conservazione e smaltimento

Conservare l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* a 2-8 °C (35-47 °F). Non congelare. Conservare il kit lontano da fonti luminose. Dopo aver aperto il kit, verificare che la busta d'alluminio non risulti danneggiata. Qualora la busta d'alluminio fosse danneggiata, non utilizzare i prodotti contenuti all'interno. Dopo l'apertura, i tubi di reagente inutilizzati dovrebbero essere sempre conservati in una busta richiudibile con essiccante all'interno per mantenere la stabilità dei reagenti liofilizzati. Conservare le buste richiudibili a 2-8 °C (35-47 °F) per periodi non superiori a 90 giorni.

Non utilizzare l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* oltre la data di scadenza. La data di scadenza e il numero di lotto sono riportati sull'etichetta esterna della scatola. Dopo l'utilizzo, il terreno di arricchimento e i tubi per l'analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* possono potenzialmente contenere materiali patogeni. Una volta completato il test, attenersi agli standard di settore vigenti in materia di smaltimento di rifiuti contaminati. Per ulteriori informazioni, consultare la Scheda di sicurezza dei materiali e le normative locali per lo smaltimento.

Istruzioni per l'uso

Seguire attentamente tutte le istruzioni. In caso contrario, si rischia di ottenere risultati non precisi.

Decontaminare periodicamente i banchi e l'attrezzatura di laboratorio (pipette, strumenti di inserimento/rimozione del tappo ecc.) con una soluzione di candeggina per uso domestico all'1-5% (diluita in acqua v:v) o una soluzione per la rimozione del DNA.

L'utente è tenuto a completare la formazione di qualifica operatore (OQ) per il Sistema per l'analisi molecolare Neogen, come descritta nel documento "Protocolli di qualifica per l'installazione (IQ)/qualifica operativa (OQ) e istruzioni del Sistema per l'analisi molecolare Neogen"[6].

Preparazione dei terreni di coltura

Preparare il Brodo di arricchimento Neogen® per *Campylobacter* (CE250) seguendo le Istruzioni sul prodotto. **Non sterilizzare in autoclave il terreno di coltura prima dell'uso.** Utilizzare il terreno entro 24 ore dalla preparazione. Conservare il brodo preparato a 2-8 °C[7] al riparo dalla luce se non sarà utilizzato immediatamente dopo la preparazione. Accertarsi che il terreno di coltura sia portato a una temperatura di 20-30 °C prima dell'uso.

Raccolta dei campioni

Il Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* non deve essere utilizzato per il risciacquo di animali o terreni di trasporto. Raccogliere e trasportare i campioni in ottemperanza alle procedure stabilite per la raccolta dei campioni.

Arricchimento del campione

Nella Tabella 2 sono riportate le indicazioni sui protocolli di arricchimento generici di campioni ambientali e alimentari.

È responsabilità dell'utente convalidare protocolli di campionamento o rapporti di diluizione alternativi, per assicurare che il presente metodo di test soddisfi i propri criteri.

Preparazione del campione

a. Risciacqui di carcasse e di pezzi di pollame crudo

1. Risciacquare una carcassa eviscerata di pollame crudo con 400 ml di Acqua Peptonata Tamponata ISO (BPW) per un minuto. Per le parti di pollame crudo, risciacquare 1,8-2 Kg (4 lb ± 10%) di parti di volatili con 400 ml di BPW[1,8].
2. Per le carcasse e le parti di pollame crudo, far sgocciolare il liquido in eccesso prima di risciacquare il campione per evitare il trasferimento di una quantità eccessiva di liquido di lavorazione nella sacca del campione[8].
3. Per il campione trattato con cetilpiridinio cloruro (CPC) è necessario aggiungere 5 ml per l di Polisorbato 80 (IUPAC: Poliossietilene (20) sorbitano mono-oleato; CAS 9005-65-6) al Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* preparato. È possibile aggiungere Polisorbato 80 all'acqua prima della sterilizzazione per agevolare la dissoluzione, oppure aggiungerlo direttamente all'acqua sterile prima di preparare il Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*.
4. Trasferire asetticamente 30 ml di risciacquo in una sacca sterile e aggiungere 30 ml di Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*.

b. Spugna di carcassa

1. Idratare le spugne prima di prelevare il campione con al massimo 25 ml di BPW[(1)]. Durante il trasporto dei campioni, accertarsi che il sacchetto sia stato arrotolato e conservato a 2-8 °C.
2. Sfregare la carcassa di pollame con un tampone o raccogliere il campione con una spugna.
3. Inserire il tampone in un sacchetto sterile e aggiungere 25 ml di Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*. Accertarsi che il tampone o la spugna sia ricoperto di terreno di arricchimento.

c. Prodotti di pollame crudo

1. Pesare asetticamente 325 ± 32,5 g di campione e inserirlo in un sacchetto sterile. Aggiungere 1625 ± 32,5 ml di BPW al prodotto di pollame crudo. Per sciogliere i grumi, miscelare bene tramite breve massaggio con le mani.
2. Dopo la miscelazione, aggiungere 30 ml della miscela di prodotto di pollame crudo in un sacchetto sterile quindi aggiungere 30 ml di Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* e miscelare bene.

d. Carne cruda e pronta al consumo

1. Pesare asetticamente 25 g di campione e inserirlo in un sacchetto sterile. Per agevolare il campionamento è consigliato un sacchetto con filtro.
2. Aggiungere 225 ml di Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*.
3. Massaggiare a mano per rompere i grumi, evitare di creare bolle durante la miscelazione. Non trattare il sacchetto mediante miscelatore o agitatore.

e. Tamponi di avvio della produzione principale

1. Raccogliere campioni con tamponi di avvio o calze seguendo le procedure stabilite per la raccolta dei campioni.
2. Inserire UNA calza all'interno di un sacchetto sterile e aggiungere 100 ml di Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*.

f. Campione prelevato a mano

1. Prelevare il campione con un tampone inumidito in precedenza attenendosi alle procedure di campionamento stabilite.
2. Inserire il tampone in un sacchetto sterile e aggiungere 100 ml di Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*.

Incubazione dell'arricchimento

1. Arrotolare il sacchetto per ridurre al minimo lo spazio di testa ed evitare di esporre l'arricchimento all'aria. Massaggiare delicatamente il sacchetto per 10 ± 2 secondi. **Non trattare il sacchetto mediante miscelatore o agitatore ed evitare di creare bolle durante la miscelazione.**
2. Incubare aerobicamente il sacchetto a 41,5 ± 1 °C. Per i tempi di incubazione appropriati, fare riferimento alla tabella 2.

AVVERTENZA: se si sceglie di usare un tampone neutralizzante che contiene complesso aril-solfonato come soluzione idratante per la spugna, è necessario eseguire una diluizione in rapporto 1:2 (1 parte di campione in 1 parte di brodo di arricchimento sterile) del campione ambientale arricchito prima di eseguire il test, al fine di ridurre i rischi associati a risultati falsi negativi che comportino l'emissione di un prodotto contaminato. Un'altra opzione consiste nel trasferire 10 µl di arricchimento del tampone neutralizzante all'interno dei tubi per soluzione di lisi Neogen.

È responsabilità dell'utente convalidare protocolli di campionamento o rapporti di diluizione alternativi, per assicurare che il presente metodo di test soddisfi i propri criteri.

Tabella 2. Protocolli di arricchimento generici.

Matrice campione	Dimensione campione	Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* (ml)[b]	Temperatura di arricchimento (± 1 °C)	Tempo di arricchimento (ore)	Volume dell'analisi del campione (µl)[c]
• Risciacqui di carcasse[a] • Risciacqui di pezzi di volatili[a]	30 ml di mezzo di risciacquo in BPW	30	41,5	22-26	20
• Spugna di carcassa[a]	1 spugna pre-umidificata con al massimo 25 ml di BPW	25	41,5	22-26	20
• Carne cruda • Carne pronta al consumo	25 g	225	41,5	24-28	20
• Tamponi di avvio della produzione principale	1 tampone da stivale	100	41,5	22-26	20
• Tampone manuale dalla produzione principale	1 dispositivo pre-umidificato	100	41,5	22-26	20

(a) Se i volatili sono trattati con cetilpiridinio cloruro (CPC) è necessario aggiungere 5 ml per l di Polisorbato 80 (IUPAC: Poliossietilene (20) sorbitano mono-oleato; CAS 9005-65-6) al Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* preparato. È possibile aggiungere Polisorbato 80 all'acqua prima della sterilizzazione, oppure aggiungerlo all'acqua sterile prima di preparare il Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*.

(b) Utilizzare il Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* entro 24 ore dalla preparazione. Il terreno deve essere a temperatura ambiente (25-30 °C) prima dell'uso.

(c) Prima di prelevare il campione di arricchimento per l'analisi, massaggiare delicatamente il fondo del sacchetto. **Dopo aver raccolto il campione, arrotolare il sacchetto per evitare l'esposizione dell'arricchimento all'aria.** Può essere richiesto un altro campione per la ripetizione dei test o le fasi di conferma.

Istruzioni specifiche per metodi validati

AOAC® Performance Tested℠ (PTM), Certificato n. 111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

Negli studi PTM℠ dell'Istituto di ricerca AOAC, l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* è risultata essere un efficace metodo per il rilevamento di *Campylobacter*. Le matrici testate nello studio sono riportate nella Tabella 3.

Tabella 3. Protocolli di arricchimento secondo AOAC PTM℠, Certificato n. 111803.

Matrice campione	Dimensione campione	Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* (ml)[c]	Temperatura di arricchimento (± 1 °C)	Tempo di arricchimento (ore)	Volume dell'analisi del campione (µl)[d]
Carcassa intera risciacquata in 400 ml di BPW[a] [b]	30 ml di mezzo di risciacquo in BPW	30	41,5	22-26	20
Pezzo di volatile (1,8-2 Kg) risciacquato in 400 ml di BPW[a] [b]	30 ml di mezzo di risciacquo in BPW	30	41,5	22-26	20
Spugna di carcassa di tacchino[a] [b]	1 spugna pre-umidificata con al massimo 25 ml di BPW	25	41,5	24-26	20
Carne di pollo cruda macinata (325 ± 32,5 g) risciacquata in 1625 ± 32,5 ml BPW[b]	30 ml di miscela di prodotto in BPW	30	41,5	24-28	20
Crocchette di pollo	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Se i volatili sono trattati con cetilpiridinio cloruro (CPC) è necessario aggiungere 5 ml per l di Polisorbato 80 (IUPAC: Poliossietilene (20) sorbitano mono-oleato; CAS 9005-65-6) al Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* preparato. È possibile aggiungere Polisorbato 80 all'acqua prima della sterilizzazione, oppure aggiungerlo all'acqua sterile prima di preparare il Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter*.

(b) In alternativa, questa matrice può essere arricchita con 30 ml di brodo di arricchimento a doppia concentrazione privo di sangue Bolton (BF-BEB) per 48 ± 2 ore a 42 ± 1,0 °C in condizioni microaerobiche. Trasferire 20 µl di campione in soluzione di lisi Neogen.

(c) Utilizzare il Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* entro 24 ore dalla preparazione. Il terreno deve essere a temperatura ambiente (25-30 °C) prima dell'uso.

(d) Prima di prelevare il campione di arricchimento per l'analisi, massaggiare delicatamente il fondo del sacchetto. **Dopo aver raccolto il campione, arrotolare il sacchetto per evitare l'esposizione dell'arricchimento all'aria.** Può essere richiesto un altro campione per la ripetizione dei test o le fasi di conferma.

Preparazione del Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen®

1. Bagnare un panno o uno strofinaccio monouso con una soluzione di candeggina per uso domestico all'1-5% (diluita in acqua v:v) e pulire il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen.
2. Sciacquare con acqua il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen.
3. Utilizzare un panno usa e getta per asciugare il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen.
4. Assicurarsi che il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen sia asciutto prima dell'uso.

Preparazione del supporto per il Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare Neogen®

Posizionare il supporto per il Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare Neogen direttamente sul banco di laboratorio: il Vassoio per blocco di raffreddamento estraibile per il sistema rilevamento molecolare Neogen non viene utilizzato. Utilizzare il blocco alla temperatura ambiente del laboratorio (20-25 °C).

Preparazione dell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen®

Posizionare l'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen in un'unità riscaldante a secco con doppio blocco. Accendere l'unità riscaldante a secco con blocco e impostare la temperatura per consentire all'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen di raggiungere e mantenere una temperatura di 100 ± 1 °C.

NOTA: a seconda dell'unità riscaldante, attendere circa 30 minuti affinché l'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen raggiunga la temperatura. Utilizzando un termometro adeguatamente calibrato (ad es., un termometro a immersione parziale o uno digitale a termocoppia, non un termometro a immersione totale) inserito nella posizione designata, verificare che l'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen sia a 100 ± 1 °C.

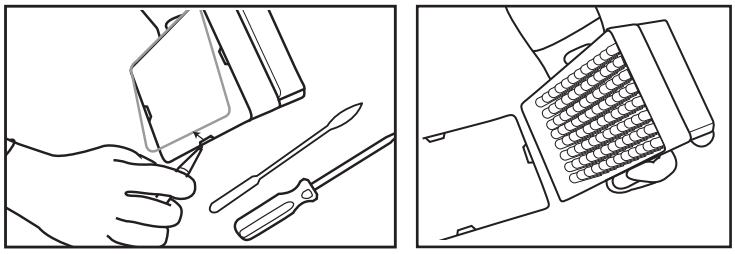
Preparazione dello Strumento per l'analisi molecolare Neogen®

1. Avviare il software per l'analisi molecolare Neogen® ed eseguire l'accesso. Contattare il proprio rappresentante Neogen Food Safety per verificare che la versione del software in uso sia quella più aggiornata.
2. Accendere lo Strumento per l'analisi molecolare Neogen.
3. Creare o modificare un'analisi con i dati per ciascun campione. Fare riferimento al Manuale per l'utente del Sistema per l'analisi molecolare Neogen per i dettagli.

NOTA: lo Strumento per l'analisi molecolare Neogen deve raggiungere lo stato Pronto prima di inserire il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen con tubi di reazione. Tale fase di riscaldamento dura 20 minuti circa ed è indicata da una spia ARANCIONE sulla barra di stato dello strumento. Quando lo strumento è pronto per avviare l'analisi, la barra di stato diventa VERDE.

Lisi

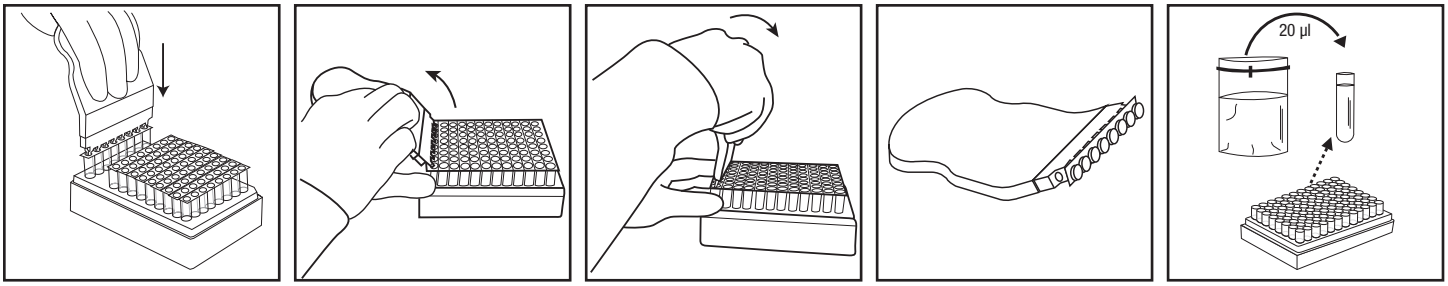
Rimuovere la parte inferiore della rastrelliera per la soluzione di lisi Neogen con un cacciavite prima di posizionarla nell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen.



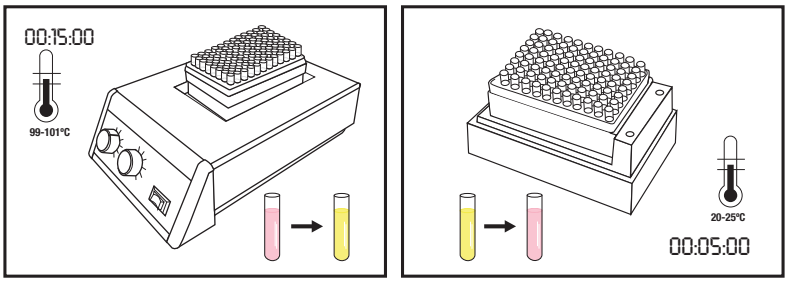
1. Far riscaldare i tubi per soluzione di lisi Neogen lasciando la rastrelliera a temperatura ambiente (20-25 °C) per una notte (16-18 ore). Le alternative per equilibrare i tubi per soluzione di lisi Neogen a temperatura ambiente sono: posizionare i tubi per soluzione di lisi Neogen sul banco di laboratorio per almeno 2 ore; incubarli in un incubatore a 37 ± 1 °C per 1 ora; oppure posizionarli in un'unità riscaldante a secco con doppio blocco per 30 secondi a 100 °C.
2. Capovolgere i tubi provvisti di tappo per miscelare. Procedere con la fase successiva entro 4 ore dopo l'inversione.
3. **Rimuovere il campione arricchito dall'incubatore.**
   - **3.1.1 Massaggiare delicatamente il fondo del sacchetto di arricchimento prima di trasferire il campione nel tubo per soluzione di lisi Neogen.**
   - **3.1.2 Può essere richiesto un altro campione per la ripetizione dei test o le fasi di conferma. Dopo aver raccolto il campione, arrotolare il sacchetto per ridurre al minimo lo spazio di testa ed evitare di esporre l'arricchimento all'aria. Se è necessaria la conferma dei risultati presunti, procedere con le fasi di conferma non appena si ottiene il risultato presunto.**
4. È necessario un tubo per soluzione di lisi Neogen per ciascun campione e campione NC (Controllo Negativo) (terreno di arricchimento sterile).
   - 4.1 Le strisce di tubi per soluzione di lisi Neogen possono essere tagliate nel numero di tubi desiderato. Selezionare il numero necessario di tubi o strisce da 8 tubi. Posizionare i tubi per soluzione di lisi Neogen in una rastrelliera vuota.
   - 4.2 Al fine di evitare la contaminazione crociata, stappare una striscia di tubi per soluzione di lisi Neogen alla volta e utilizzare una nuova punta di pipetta per ciascuna fase di trasferimento.
   - 4.3 Trasferire il campione arricchito nei tubi per soluzione di lisi Neogen come descritto di seguito:

     Trasferire **innanzitutto** ciascun campione arricchito in un tubo per soluzione di lisi Neogen singolo. Trasferire l'NC per **ultimo**.
   - 4.4 Utilizzare lo Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare Neogen® - Lisi per rimuovere il tappo da una striscia di tubi per soluzione di lisi Neogen, una striscia alla volta.
   - 4.5 Gettare via il tappo del tubo per soluzione di lisi Neogen; se il lisato viene conservato per effettuare nuovamente il test, posizionare i tappi in un contenitore pulito per consentirne nuovamente l'applicazione dopo la lisi.
     - 4.5.1 Per l'elaborazione del lisato conservato, consultare l'Appendice A.
   - 4.6 Trasferire 20 µl di campione in un tubo per soluzione di lisi Neogen.

5. Ripetere i punti da 4.4 a 4.6 fin quando è necessario, per il numero di campioni da testare.



6. Quando tutti i campioni sono stati trasferiti, trasferire 20 µl di NC (terreno di arricchimento sterile, ad esempio BPW) in un tubo per soluzione di lisi Neogen. Non utilizzare l'acqua come NC.
7. Verificare che la temperatura dell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen sia a 100 ± 1 °C.
8. Posizionare la rastrelliera per tubi per soluzione di lisi Neogen, scoperta, nell'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen e riscaldare per 15 ± 1 minuti. Durante il riscaldamento, la soluzione di lisi Neogen virerà dal rosa (freddo) al giallo (caldo).
   8.1 I campioni non correttamente trattati termicamente durante la fase di lisi dell'analisi possono essere considerati un potenziale rischio biologico e NON devono essere inseriti nello Strumento per l'analisi molecolare Neogen.
9. Rimuovere la rastrelliera dei tubi per soluzione di lisi Neogen senza coperchio dal Blocco riscaldante per il sistema di rilevamento molecolare Neogen e far raffreddare nel supporto per il Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare Neogen per almeno 5 minuti e per un massimo di 10 minuti. Il supporto per il Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare Neogen, utilizzato a temperatura ambiente senza il Vassoio per Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare Neogen®, deve essere posto direttamente sul banco del laboratorio. Quando è fredda, la soluzione di lisi Neogen torna a essere di colore rosa.
10. Rimuovere la rastrelliera dei tubi per soluzione di lisi Neogen dal supporto per il Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare Neogen.

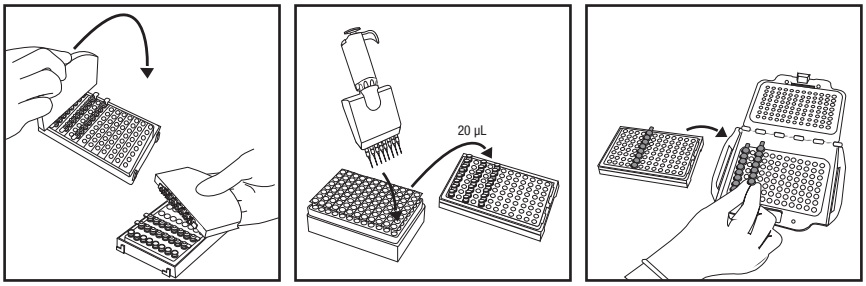


Amplificazione

1. È richiesto un tubo di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* per ciascun campione e per l'NC.
   1.1 Le strisce dei tubi possono essere tagliate nel numero di tubi desiderati. Selezionare il numero necessario di tubi di reagente singoli o di strisce da 8 tubi per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter*.
   1.2 Posizionare i tubi in una rastrelliera vuota.
   1.3 Evitare di spostare le pastiglie di reagente poste sul fondo dei tubi.
2. Selezionare un tubo di Controllo reagente Neogen e posizionarlo nella rastrelliera.
3. Al fine di evitare la contaminazione crociata, rimuovere i tappi da una striscia di tubi di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* alla volta e utilizzare un nuovo puntale per pipetta per ciascuna fase di trasferimento.
4. Trasferire ciascuno dei lisati in un tubo di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* e un tubo di Controllo reagente Neogen come indicato di seguito:

Trasferire **innanzitutto** ciascun lisato campione nei tubi di reagente singoli per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter*, quindi trasferire l'NC. Idratare il tubo di Controllo reagente Neogen per **ultimo**.

5. Utilizzare lo Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare Neogen® - Reagente per rimuovere il tappo da un tubo di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter*; una striscia di tubi per volta. Gettare il tappo.
   5.1 **Trasferire 20 µl di lisato campione dalla metà superiore del liquido (evitare il deposito) di un tubo per soluzione di lisi Neogen nel corrispondente tubo di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter*. Erogare con un'inclinazione per evitare il movimento delle pastiglie. Miscelare pipettando delicatamente su e giù per 5 volte.**
   5.2 Ripetere il punto 5.1 finché ciascun lisato campione non è stato aggiunto al corrispondente tubo di reagente per l'analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* nella striscia.
   5.3 Chiudere i tubi di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* con i tappi supplementari forniti e utilizzare il lato arrotondato dello Strumento di inserimento/rimozione del tappo per il rilevamento molecolare Neogen - Reagente per applicare pressione con un movimento in avanti e all'indietro assicurandosi di stringere bene il tappo.
   5.4 Ripetere i punti da 5.1 a 5.3 fin quando è necessario, per il numero di campioni da testare.
   5.5 Quando tutti i lisati sono stati trasferiti, ripetere i punti da 5.1 a 5.3 per trasferire 20 µl di lisato NC in un tubo di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter*.
   5.6 Trasferire **20 µl di lisato NC in un tubo di Controllo reagente Neogen.** Erogare con un'inclinazione per evitare il movimento delle pastiglie. Miscelare pipettando delicatamente su e giù per 5 volte.
6. Caricare i tubi provvisti di tappo su un Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen pulito e decontaminato. Chiudere saldamente il coperchio del Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen.



7. Controllare e confermare l'analisi configurata sul Software per l'analisi molecolare Neogen.
8. Fare clic sul pulsante Start nel software e selezionare lo strumento da utilizzare. Il coperchio dello strumento selezionato si apre automaticamente.
9. Posizionare il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen nello Strumento per l'analisi molecolare Neogen e chiudere il coperchio per avviare l'analisi. I risultati sono forniti entro 60 minuti, sebbene quelli positivi possano essere rilevati prima.
10. Una volta completata l'analisi, rimuovere il Vassoio per caricamento rapido per il sistema di rilevamento molecolare Neogen dallo Strumento per l'analisi molecolare Neogen e smaltire i tubi immergendoli in una soluzione di candeggina per uso domestico 1-5% (diluita con acqua v:v) per 1 ora e lontano dall'area di preparazione dell'analisi.

AVVISO: per ridurre il rischio di falsi positivi dovuti alla contaminazione crociata, non aprire mai i tubi di reagente contenenti DNA amplificato. Questi includono i tubi di reagente per l'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter*, i tubi di Controllo reagente Neogen e i tubi di Controllo della matrice Neogen. Smaltire sempre provette di reagente sigillate immergendole in una soluzione di candeggina per uso domestico all'1-5% (diluita con acqua v:v) per un'ora e fuori dall'area di preparazione dell'analisi.

Risultati e interpretazione

Un algoritmo interpreta la curva di emissione luminosa risultante dal rilevamento dell'amplificazione degli acidi nucleici. I risultati sono analizzati automaticamente dal software e codificati mediante un colore in base all'esito. Un risultato positivo o negativo è determinato dall'analisi di un numero di parametri unici della curva. I risultati presunti positivi sono riportati in tempo reale mentre i risultati Negativi e Da esaminare sono visualizzati al completamento dell'analisi.

I risultati presunti positivi vanno confermati in base alle procedure operative standard del laboratorio o seguendo un metodo di conferma appropriato[1,2], iniziando dal trasferimento dall'arricchimento del Brodo di arricchimento Neogen per *Campylobacter* a piastre selettive di *Campylobacter* con incubazione microaerofila, dalla conferma degli isolati utilizzando metodi biochimici e sierologici adeguati. Per mantenere al meglio l'arricchimento, arrotolare il sacchetto dell'arricchimento dopo la raccolta del campione.

NOTA: anche un campione negativo non fornirà una lettura zero poiché il sistema e i reagenti di amplificazione dell'Analisi molecolare di seconda generazione Neogen per il rilevamento di *Campylobacter* riportano un valore di "background" dell'unità di luce relativa (RLU).

Nel raro caso di emissione luminosa insolita, l'algoritmo la classifica come Da esaminare. Neogen consiglia all'utente di ripetere l'analisi per qualsiasi campione da esaminare. Se il risultato continua a essere Da esaminare, procedere con il test di conferma utilizzando il proprio metodo di elezione o come specificato dalle normative locali[1,2].

Appendice A. Interruzione del protocollo: Conservazione e nuovo test dei lisati termotrattati

1. Per conservare un lisato termotrattato, richiudere il tubo per soluzione di lisi Neogen con un tappo pulito (vedere la sezione Lisi, 4.5)
2. Conservare a 2-8 °C fino a 72 ore.
3. Preparare il campione conservato per l'amplificazione capovolgendolo 2-3 volte per miscelarlo.
4. Togliere il tappo ai tubi.
5. Collocare i tubi di lisato miscelato sull'Inserto del blocco di calore per il sistema di rilevamento molecolare Neogen e riscaldare a 100 ± 1 °C per 5 ± 1 minuti.
6. Rimuovere la rastrelliera dei tubi per soluzione di lisi Neogen dal Blocco riscaldante per il sistema di rilevamento molecolare Neogen e far raffreddare nel supporto per il Blocco di raffreddamento estraibile per il sistema di rilevamento molecolare Neogen per almeno 5 minuti e per un massimo di 10 minuti.
7. Continuare il protocollo indicato nella sezione **Amplificazione** illustrata sopra.

Bibliografia:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contact your Neogen Food Safety representative to obtain a copy of this document.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Legenda dei simboli

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Instrucciones del Producto

Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter*

Descripción del producto y uso previsto

El Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen® se usa junto con el Sistema de Detección Molecular Neogen® para la detección rápida y específica de *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* y *Campylobacter coli* en muestras enriquecidas ambientales y de alimentos.

El Ensayo Detección Molecular Neogen usa amplificación isotérmica mediada por asas para amplificar rápidamente las secuencias de ácido nucleico con alta especificidad y sensibilidad, combinadas con bioluminiscencia para detectar la amplificación. Los resultados presuntamente positivos se reportan en tiempo real, mientras que los resultados negativos se revelan una vez terminado el ensayo. Los resultados presuntivos positivos se deben confirmar con el método que usted prefiera o según lo especifiquen las regulaciones locales[1,2].

El Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen está previsto para el uso en laboratorios por profesionales capacitados en el empleo de técnicas de laboratorio. Neogen no documentó el uso de este producto en otras industrias que no sean la alimentaria o la de bebidas. Por ejemplo, Neogen no documentó este producto para el análisis de muestras clínicas, veterinarias, cosméticas o farmacéuticas. El Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen no ha sido evaluado con todos los productos alimenticios ni todos los procesos alimenticios, tampoco con todos los protocolos de evaluación ni con todas las cepas de bacterias posibles.

Como con todos los métodos de prueba, el origen, la formulación y la calidad del medio de enriquecimiento pueden influir sobre los resultados. Factores tales como los métodos de muestreo, los protocolos de análisis, la preparación de la muestra, la manipulación y la técnica de laboratorio también pueden afectar los resultados. Neogen recomienda la evaluación del método lo que incluye el medio de enriquecimiento usando un número suficiente de muestras en alimentos representativos y con exposición a ciertas cepas o bacterias desafiantes para garantizar que el método satisface los criterios del usuario en su propio entorno.

Neogen ha evaluado el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen con el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen® y Caldo de enriquecimiento sin sangre Bolton.

El Equipo de Detección Molecular Neogen® está previsto para ser utilizado con muestras que hayan sido tratadas con calor durante el paso de lisis del ensayo, que se diseñó para destruir los organismos presentes en la muestra. Las muestras que no se hayan tratado debidamente con calor durante el paso de lisis del ensayo pueden considerarse un posible riesgo biológico y NO deben introducirse en el Equipo de Detección Molecular Neogen.

Neogen Food Safety cuenta con certificación de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) 9001 de diseño y fabricación.

El kit de prueba para el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen contiene 96 pruebas, que se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes del kit para el Ensayo de Detección Molecular Neogen

Artículo	Identificación	Cantidad	Contenido	Comentarios
Solución de Lisis (LS) Neogen®	Solución rosada en tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de LS por tubo	En gradilla y lista para usar
Tubos de reactivos para el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen®	Tubos púrpura	96 (3 bolsas con 4 tiras de 8 tubos)	Mezcla de detección y amplificación específica liofilizada	Listos para usar
Tapas adicionales	Tapas púrpuras	96 (12 tiras de 8 tapas)		Listos para usar
Control de Reactivos Neogen® (RC)	Tubos transparentes con tapa de bisagra	16 (2 bolsas de 8 tubos individuales)	Mezcla de detección y amplificación de control liofilizado de DNA	Listos para usar

El Control Negativo (NC), no provisto en el kit, es un medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, Caldo de Enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen. No use agua como un NC.

Puede encontrar una guía de inicio rápido en www.neogen.com

Seguridad

El usuario debe leer, comprender y proceder con toda la información de seguridad incluida en las instrucciones para el Sistema de Detección Molecular Neogen y el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen. Guarde las instrucciones de seguridad para consultas futuras.

⚠ **ADVERTENCIA:** Indica una situación peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar la muerte o lesiones graves, y/o daños materiales.

ATENCIÓN: Indica una situación potencialmente peligrosa que, si no se evita, podría ocasionar daños materiales.

⚠ ADVERTENCIA

No use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen para el diagnóstico de afecciones en seres humanos ni animales.

El usuario debe capacitar a su personal en lo que respecta a las técnicas de prueba adecuadas, por ejemplo, Buenas prácticas de laboratorio[3], ISO/IEC 17025[4] o ISO 7218[5].

Para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que provoque la liberación de productos contaminados:

- Siga el protocolo y realice las pruebas exactamente como se indica en las instrucciones del producto.
- Almacene el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen como se indica en el embalaje y en las instrucciones del producto.
- Siempre use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen antes de su fecha de vencimiento.
- Prepare el Caldo de Enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen® según las instrucciones del producto.
- No autoclave el Caldo de Enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.
- Use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen con muestras ambientales y de alimentos que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- Use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen solo con superficies, desinfectantes, protocolos y cepas de bacterias que hayan sido validadas internamente o por un tercero.
- En el caso de muestras ambientales que contengan una solución amortiguadora neutralizante con un complejo de aril sulfonato, prepare una dilución en una proporción de 1:2 (1 parte de muestra en 1 parte de caldo de enriquecimiento estéril) antes de realizar la prueba. Otra opción es transferir 10 µL de la muestra de la solución amortiguadora neutralizante enriquecida a los tubos de Solución de Lisis Neogen. Productos de manejo de muestras Neogen® que incluyen una Solución Amortiguadora Neutralizante con el complejo aril sulfonato: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G y HS2410NB2G.

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

- Realice las pruebas de patógenos en un laboratorio debidamente equipado, bajo la supervisión de personal capacitado. El medio de enriquecimiento incubado y el equipo o las superficies que hayan entrado en contacto con el medio de enriquecimiento podrían contener patógenos en niveles suficientes para provocar un riesgo para la salud humana.
- Siempre proceda de acuerdo con las prácticas estándar de seguridad del laboratorio. Eso incluye usar la ropa de protección adecuada y protección para los ojos al manipular reactivos y muestras contaminadas.
- Evite el contacto con el contenido del medio de enriquecimiento y de los tubos de reactivos después de la amplificación.
- Deseche las muestras enriquecidas conforme a las normativas locales, regionales y nacionales vigentes y a los estándares de la industria.
- Las muestras que no se hayan tratado debidamente con calor durante el paso de lisis del ensayo pueden considerarse un posible riesgo biológico y NO deben introducirse en el Equipo de Detección Molecular Neogen.

Para reducir los riesgos relacionados con contaminación cruzada mientras se prepara el ensayo:

- Use siempre guantes (para proteger al usuario y evitar que se introduzcan nucleasas).

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

- No exceda la temperatura recomendada al configurar el calentador.
- No exceda el tiempo de calentamiento recomendado.

- Use un termómetro calibrado adecuado para verificar la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen® (por ej., un termómetro de inmersión parcial o un termómetro digital termopar, no un termómetro de inmersión total). El termómetro debe colocarse en la ubicación designada en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen.

ATENCIÓN

Para reducir los riesgos relacionados con contaminación cruzada mientras se prepara el ensayo:

- Cámbiese los guantes antes de hidratar los gránulos reactivos.
- Se recomienda usar puntas de pipetas estériles de calidad de biología molecular con barrera para aerosoles (con filtro).
- Use una nueva punta de pipeta para cada transferencia de muestra.
- Use las Buenas Prácticas de Laboratorio para transferir la muestra del enriquecimiento al tubo de lisis. Para evitar la contaminación de la pipeta, el usuario puede elegir agregar un paso de transferencia intermedia. Por ejemplo, el usuario puede transferir cada muestra enriquecida a un tubo estéril.
- Use una estación de trabajo de calidad para biología molecular con una lámpara germicida, siempre que disponga de una.
- Descontamine periódicamente las mesas y el equipo de laboratorio (pipetas, herramientas para tapar/destapar, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) o en una solución para eliminación de DNA.

Para reducir los riesgos relacionados con un resultado falso positivo:

- Nunca abra los tubos de reactivos después de la amplificación.
- Siempre deseche los tubos contaminados sumergiéndolos en una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) durante 1 hora y lejos del área en que se prepara el ensayo.
- Nunca ponga en autoclave los tubos de reactivos después de la amplificación.

Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información y conocer las normativas locales para el desecho de materiales.

Si tiene preguntas acerca de los procedimientos o las aplicaciones específicas, visite nuestro sitio web en www.neogen.com o comuníquese con su representante o distribuidor local de Neogen.

Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones e información del producto. Visite nuestro sitio web en **www.neogen.com** o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de Neogen para obtener más información.

Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que factores externos tales como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de la muestra, la manipulación, la técnica de laboratorio y la muestra en sí pueden afectar los resultados.

Al seleccionar cualquier método de prueba o producto, es responsabilidad del usuario evaluar un número suficiente de muestras con retos microbianos y matrices apropiadas para satisfacer al usuario en cuanto a que el método de prueba cumple con los criterios necesarios.

Además, es responsabilidad del usuario determinar que cualquier método de prueba y sus resultados 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 calidad de las matrices ni de los procesos analizados.

Para ayudar a los clientes a evaluar el método de varias matrices, Neogen ha desarrollado el kit de Control de Matriz para Detección Molecular Neogen®. Cuando sea necesario, utilice el Control de Matriz (MC) para Detección Molecular Neogen para determinar si la matriz tiene la capacidad de impactar en los resultados del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen. Analice varias muestras representativas de la matriz, es decir, las muestras obtenidas de diferente origen, durante cualquier periodo de validación al adoptar el método de Neogen o al analizar matrices nuevas o desconocidas, o matrices que hayan sido sometidas a cambios en el proceso o la materia prima.

Una matriz se puede definir como un tipo de producto con propiedades intrínsecas, tales como composición y proceso. Las diferencias entre las matrices pueden ser tan simples como los efectos causados por las diferencias en su procesamiento o presentación, por ejemplo, productos crudos versus pasteurizados; alimentos frescos versus secos, etc.

Limitación de garantía/Recurso limitado

SALVO LO EXPRESAMENTE ESTIPULADO EN UNA SECCIÓN DE GARANTÍA LIMITADA O EN EL EMBALAJE DE UN PRODUCTO ESPECÍFICO, NEOGEN RENUNCIA A TODAS LAS GARANTÍAS EXPRESAS Y TÁCITAS INCLUIDA, ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIABILIDAD O IDONEIDAD PARA UN USO EN PARTICULAR. Si un producto de Neogen Food Safety es defectuoso, Neogen o su distribuidor autorizado reemplazará el producto o reembolsará el precio de compra del producto, a su elección. Estos son sus recursos exclusivos. Deberá notificar inmediatamente a Neogen en un lapso de sesenta días a partir del descubrimiento de cualquier sospecha de defecto en un producto y devolver dicho producto a Neogen. Póngase en contacto con su representante de Neogen o distribuidor autorizado de Neogen para que se le responda cualquier otra pregunta.

Limitación de responsabilidad de Neogen

NEOGEN NO SERÁ RESPONSABLE DE NINGUNA PÉRDIDA O DAÑO, YA SEA DIRECTO, INDIRECTO, ESPECIAL, DAÑOS ACCIDENTALES O CONSECUENCIAS, INCLUIDOS ENTRE OTROS, LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS. En ningún caso la responsabilidad de Neogen conforme a ninguna teoría legal excederá el precio de compra del producto supuestamente defectuoso.

Almacenamiento y desecho

Siempre conserve el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen entre 2 °C-8 °C (35 °F-47 °F). No lo congele. Durante el almacenamiento, mantenga el kit fuera del alcance de la luz. Después de abrir el kit, verifique que la bolsa de aluminio no esté dañada. Si la bolsa está dañada, no use el producto. Después de abrir el embalaje, los tubos de reactivo no utilizados se deberán guardar siempre en la bolsa resellable junto con el desecante para conservar la estabilidad de los reactivos liofilizados. Almacene las bolsas reselladas a una temperatura entre 2 °C-8 °C (35 °F-47 °F) durante 90 días como máximo.

No use el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen después de su fecha de vencimiento. La fecha de vencimiento y el número de lote están impresos en la etiqueta externa de la caja. Después de usarlos, el medio de enriquecimiento y los tubos del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen podrían contener materiales patógenos. Una vez terminada la prueba, proceda de acuerdo con los estándares actuales de la industria para el desecho de residuos contaminados. Consulte la Hoja de Datos de Seguridad para obtener más información y conocer las normativas locales para el desecho de materiales.

Instrucciones de uso

Siga todas las instrucciones atentamente. De lo contrario, los resultados obtenidos podrían llegar a ser incorrectos.

Descontamine periódicamente las mesas y el equipo de laboratorio (pipetas, herramientas para tapar/destapar, etc.) con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) o en una solución para eliminación de DNA.

El usuario debe completar la capacitación de calificación del operador (OQ) del Sistema de Detección Molecular Neogen según se describe en el documento “Protocolos de Calificación para la Instalación (IQ)/Calificación Operativa (OQ) e Instrucciones para el Sistema de Detección Molecular Neogen”[6].

Preparación del medio

Prepare el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen® (CE250) según las instrucciones del producto. **No autoclave el medio antes de usarlo.** Use el medio preparado dentro de las 24 horas posteriores a la preparación. Almacene el caldo preparado entre 2 °C-8 °C[7], protegido de la luz si no lo usará inmediatamente tras la preparación. Asegúrese de que el medio esté templado entre 20 °C-30 °C antes del uso.

Recolección de muestras

El Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen no se debe usar para enjuagar aves ni como medio de transporte. Reúna y transporte las muestras de acuerdo con sus procedimientos establecidos para la toma de muestras.

Enriquecimiento de la muestra

La tabla 2 presenta una guía para los protocolos generales de enriquecimiento de muestras ambientales y de alimentos.

Es responsabilidad del usuario validar protocolos de muestreo o proporciones de dilución alternativos para garantizar que este método de prueba satisface los criterios del usuario.

Preparación de la muestra

a. Enjuague las carcasas y las piezas crudas de carne de aves

1. Enjuague la carcasa de un ave eviscerada con 400 mL de agua peptonada buferada (BPW) durante un minuto. Si enjuagara piezas de carne de ave cruda, enjuague 1,8 a 2 kg (4 lb ± 10 %) de piezas de ave con 400 mL de BPW[1,8].
2. Para las carcasas y las piezas crudas de carne de ave, deje que el exceso de líquido se derrame antes de enjuagar la muestra para evitar transferir el exceso de líquido de procesamiento en la bolsa de muestra[8].

3. Para carnes de ave que se hayan tratado con Cloruro de cetilpiridinio (CPC), si fuera necesario, añada 5 mL por cada litro de Polisorbato 80 (IUPAC: Monooleato de sorbitán polioxietilenado (20); CAS 9005-65-6) en el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen preparado. Se puede agregar Polisorbato 80 al agua antes de esterilizarlo para facilitar la disolución o se puede agregar directamente al agua estéril antes de preparar el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.
4. Transfiera asépticamente 30 mL de enjuague a una bolsa estéril y añada 30 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.

b. Esponja de carcasa

1. Las esponjas deben estar hidratadas con hasta 25 mL de BPW antes de tomar la muestra[1]. Si transportara las muestras, asegúrese de que la bolsa esté enrrollada hacia abajo y manténgala entre 2 °C-8 °C.
2. Realice el hisopado de la carcasa o tome la muestra con una esponja.
3. Coloque el hisopo en una bolsa estéril y añada 25 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen. Asegúrese de que el hisopo o la esponja queden cubiertos por el medio de enriquecimiento.

c. Productos crudos de carne de aves

1. Pese asépticamente 325 ± 32,5 g de muestra y colóquela en una bolsa estéril. Agregue 1625 mL ± 32,5 mL de BPW al producto crudo de carne de ave. Para dispersar los grumos, mezcle y masajee intensamente con las manos.
2. Luego de mezclar, agregue 30 mL de la mezcla de producto crudo de carne de ave en una bolsa estéril y 30 mL del Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen, y mezcle intensamente.

d. Carne cruda y lista para consumir

1. Pese asépticamente 25 g de muestra y colóquela en una bolsa estéril. Se recomienda usar una bolsa con filtro para facilitar la toma de muestras.
2. Añada 225 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.
3. Masajee con la mano para romper cualquier grumo, evite crear burbujas durante el mezclado. No procese la bolsa con un homogeneizador peristáltico o a licuadora.

e. Hisopados de botas en la producción primaria

1. Tome la muestra con botas cubrecalzados o medias y siga los procedimientos de recolección de muestras establecidos.
2. Coloque UNA media en una bolsa estéril y añada 100 mL de Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.

f. Hisopado de arrastre

1. Tome la muestra con un dispositivo de hisopado previamente humedecido siguiendo los procedimientos de recolección de muestras establecidos.
2. Coloque el hisopo en una bolsa estéril y añada 100 mL de Caldo de enriquecimiento para Campylobacter Neogen.

Incubación del enriquecimiento

1. Estire hacia abajo la bolsa para minimizar el espacio vacío y evitar la exposición del enriquecimiento al aire. Masajee suavemente la bolsa durante 10 ± 2 segundos. **No procese la bolsa con un homogeneizador peristáltico o licuadora y evite crear burbujas al mezclar.**
2. Incube la bolsa aeróbicamente a 41,5 °C ± 1 °C, consulte la tabla 2 para conocer el tiempo de incubación adecuado.

ADVERTENCIA: Si decidiera usar una solución amortiguadora neutralizante que contenga el complejo aril sulfonato como solución hidratante para la esponja, deberá preparar una dilución 1:2 (1 parte de muestra en 1 parte de caldo de enriquecimiento estéril) de la muestra ambiental enriquecida antes de realizar la prueba para reducir los riesgos asociados con un resultado falso negativo que provoque la liberación del producto contaminado. Otra opción es transferir 10 µL de la muestra de la solución amortiguadora neutralizante enriquecida a los tubos de Solución de Lisis Neogen.

Es responsabilidad del usuario validar protocolos de muestreo o proporciones de dilución alternativos para garantizar que este método de prueba satisface los criterios del usuario.

Tabla 2. Protocolos Generales de Enriquecimiento.

Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen (mL)[b]	Temperatura de enriquecimiento (±1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra (µL)[c]
• Enjuagues de carcasas[a] • Enjuagues de piezas de ave[a]	30 mL de la solución de enjuague en BPW	30	41,5	22-26	20
• Esponja para carcasa[a]	1 esponja previamente humedecida con 25 mL de BPW	25	41,5	22-26	20
• Carne cruda • Carne lista para comer	25 g	225	41,5	24-28	20
• Hisopados de botas en la producción primaria	1 hisopado de botas	100	41,5	22-26	20
• Hisopado de arrastre de la producción primaria	1 dispositivo prehumedecido	100	41,5	22-26	20

(a) Si a las aves se las ha tratado con Cloruro de cetilpiridinio (CPC), es necesario añadir 5 mL por cada litro de (Polisorbato 80, IUPAC: Monooleato de sorbitán polioxietilenado (20); CAS 9005-65-6) en el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen preparado. Se puede agregar Polisorbato 80 al agua antes de esterilizarla o al agua estéril antes de preparar el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.

(b) El Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen se debe usar dentro de 24 horas de preparación. El medio debe estar a temperatura ambiente (25 °C-30 °C) antes del uso.

(c) Antes de tomar muestras de enriquecimiento para el análisis, masajee suavemente el fondo de la bolsa. **Después de tomar la muestra, enrolle la bolsa para evitar la exposición del enriquecimiento al aire.** Puede ser necesario tomar una muestra adicional para los pasos de reevaluación o confirmación.

Instrucciones específicas para métodos validados

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) N.° de certificado 111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

En los estudios de AOAC Research Institute y PTM℠, se descubrió que el Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen era un método efectivo para la detección de *Campylobacter*. Las matrices evaluadas en el estudio se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Protocolos de enriquecimiento según AOAC PTM℠ N.º de certificado 111803.

Matriz de la muestra	Tamaño de la muestra	Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen (mL)[c]	Temperatura de enriquecimiento (±1 °C)	Tiempo de enriquecimiento (horas)	Volumen de análisis de la muestra (µL)[d]
Carcasa entera enjuagada en 400 mL de BPW[a] [b]	30 mL de la solución de enjuague en BPW	30	41,5	22-26	20
Parte de ave (1,8 a 2 kg) enjuagada en 400 mL de BPW[a] [b]	30 mL de la solución de enjuague en BPW	30	41,5	22-26	20
Esponja para carcasa de pavo[a] [b]	1 esponja previamente humedecida con 25 mL de BPW	25	41,5	24-26	20
Producto de ave triturado (325 g ± 32,5 g) enjuagado en 1625 mL ± 32,5 mL de BPW[b]	30 mL de la mezcla de producto en BPW	30	41,5	24-28	20
Trozos de pollo empanizado	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Si a las aves se las ha tratado con Cloruro de cetilpiridinio (CPC), es necesario añadir 5 mL por cada litro de (Polisorbato 80, IUPAC: Monooleato de sorbitán polioxietilenado (20); CAS 9005-65-6) en el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen preparado. Se puede agregar Polisorbato 80 al agua antes de esterilizarla o al agua estéril antes de preparar el Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen.

(b) Alternativamente, esta matriz puede enriquecerse con 30 mL de 2X Caldo de enriquecimiento sin sangre Bolton (BF-BEB) durante 48 ± 2 a 42 ± 1,0 °C en condiciones microaeróbicas. Transfiera los 20 µL de muestra a una Solución de Lisis Neogen.

(c) El Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen se debe usar dentro de 24 horas de preparación. El medio debe estar a temperatura ambiente (25 °C-30 °C) antes del uso.

(d) Antes de tomar muestras de enriquecimiento para el análisis, masajee suavemente el fondo de la bolsa. **Después de tomar la muestra, enrolle la bolsa para evitar la exposición del enriquecimiento al aire.** Puede ser necesario tomar una muestra adicional para los pasos de reevaluación o confirmación.

Preparación de la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen®

1. Humedezca un paño o una toalla desechable con una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) y limpie la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen.
2. Enjuague la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen con agua.
3. Utilice una toalla desechable para secar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen.
4. Antes de utilizarla, asegúrese de que la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen esté seca.

Preparación del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen®

Coloque la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen directamente sobre la mesa del laboratorio: No se usa la Bandeja para el Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular Neogen. Use el bloque a temperatura ambiente del laboratorio (20 °C-25 °C).

Preparación del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen®

Coloque el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen en una unidad o plancha de calentamiento seca. Encienda la unidad de calentamiento de bloques seca y ajuste la temperatura para permitir que el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen alcance y mantenga una temperatura de 100 °C ± 1 °C.

NOTA: Según la unidad de calentamiento, espere aproximadamente 30 minutos para que el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen alcance la temperatura deseada. Con un termómetro calibrado apropiado (por ej., un termómetro de inmersión parcial o un termómetro digital termopar, no un termómetro de inmersión total) colocado en la ubicación designada, verifique que el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen se encuentre a 100 °C ± 1 °C.

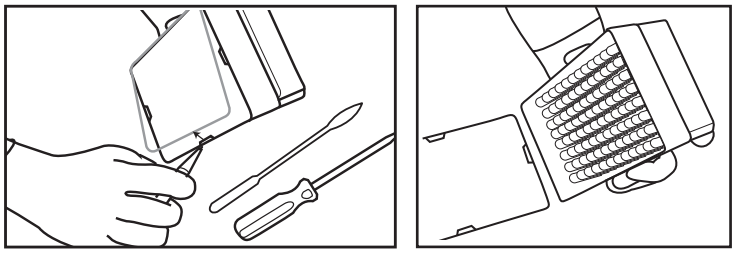
Preparación del Equipo de Detección Molecular Neogen®

1. Inicie el software de Detección Molecular Neogen® e inicie sesión. Contacte a su representante de Neogen Food Safety para verificar que tiene la última versión del software.
2. Encienda el Equipo de Detección Molecular Neogen.
3. Cree o edite un ensayo con datos para cada muestra. Para obtener detalles, consulte el Manual del Usuario del Sistema de Detección Molecular Neogen.

NOTA: El Equipo de Detección Molecular Neogen debe alcanzar el estado de Listo antes de insertar la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen con los tubos de reacción. Este paso de calentamiento lleva unos 20 minutos y aparece indicado por una luz NARANJA en la barra de estado del equipo. Una vez que el equipo esté listo para iniciar un ensayo, la barra de estado se cambiará a color VERDE.

Lisis

Retire la parte inferior de la Gradilla para Solución de Lisis de Neogen con un destornillador antes de colocarla en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen.



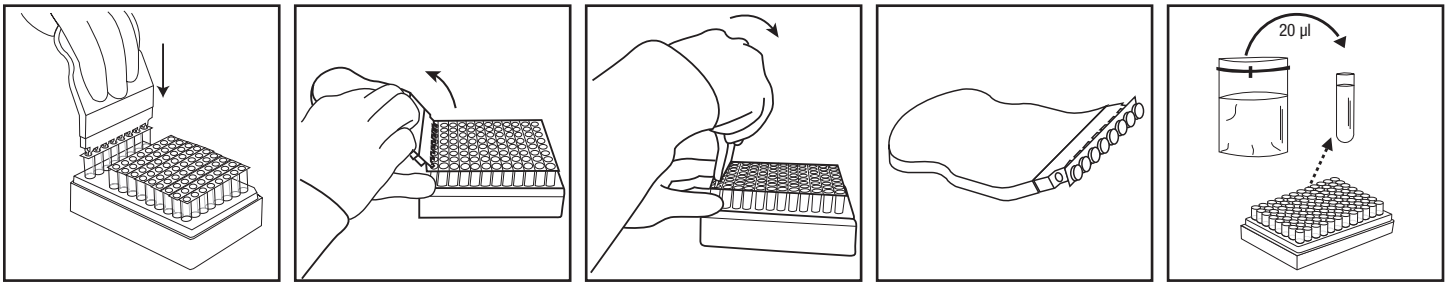
1. Permita que los tubos de Solución de Lisis Neogen se calienten colocando la gradilla a temperatura ambiente (20 °C-25 °C) durante la noche (16-18 horas). Las alternativas para que los tubos de Solución de Lisis Neogen alcancen temperatura ambiente son colocar los tubos de Solución de Lisis Neogen sobre la mesa de laboratorio durante por lo menos 2 horas, incubar los tubos de Solución de Lisis Neogen en una incubadora a 37 °C ± 1 °C durante 1 hora o colocarlos en una unidad de calentamiento de dos bloques seca durante 30 segundos a 100 °C.
2. Invierta los tubos tapados para mezclarlos. Proceda con el paso siguiente dentro de las 4 horas después de la inversión.
3. **Retire la muestra enriquecida de la incubadora.**
   - **3.1.1 Masajee suavemente el fondo de la bolsa de enriquecimiento antes de transferir la muestra al tubo de Solución de Lisis de Neogen.**
   - **3.1.2 Puede ser necesario tomar una muestra adicional para los pasos de reevaluación o confirmación. Luego de obtener la muestra, estire hacia abajo la bolsa para minimizar el espacio vacío y evitar la exposición del enriquecimiento al aire. Si es necesario confirmar los resultados presuntivos, continúe con los pasos de confirmación tan pronto como obtenga el resultado presuntivo.**
4. Se requiere un tubo de Solución de Lisis Neogen para cada muestra y la muestra NC (medio de enriquecimiento estéril).
   - 4.1 Las tiras de tubos de Solución de Lisis Neogen pueden cortarse para obtener la cantidad deseada de tubos. Seleccione la cantidad de tubos o de tiras de 8 tubos necesarias. Coloque los tubos de Solución de Lisis Neogen en una gradilla vacía.
   - 4.2 Para evitar la contaminación cruzada, destape una tira de tubo de Solución de Lisis Neogen por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
   - 4.3 Transfiera la muestra enriquecida a los tubos de Solución de Lisis Neogen como se describe a continuación:

     Transfiera cada muestra enriquecida a un tubo de Solución de Lisis Neogen individual **primero**. Transfiera el NC **al final**.

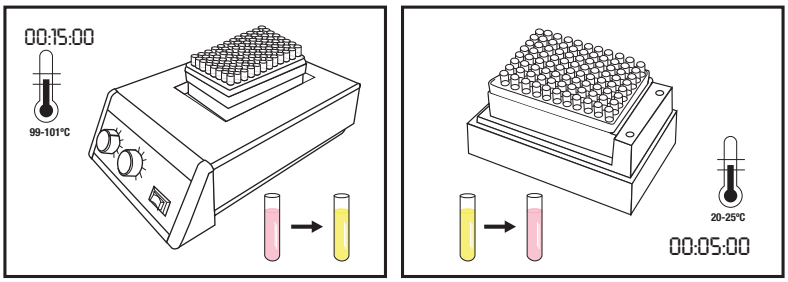
   - 4.4 Utilice la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Lisis Neogen® para destapar una tira de tubos de Solución de Lisis Neogen, una tira por vez.

4.5 Deseche la tapa del tubo de Solución de Lisis Neogen; si se conservara el lisado para una repetición de prueba, coloque las tapas en un envase limpio para su reaplicación luego de la lisis.
4.5.1 Para ver cómo procesar el lisato conservado, consulte el Apéndice A.
4.6 Transfiera los 20 µL de muestra a un tubo de Solución de Lisis Neogen.

5. Repita los pasos 4.4 a 4.6 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.



6. Cuando se hayan transferido todas las muestras, transfiera 20 µL del NC (medio de enriquecimiento estéril, por ejemplo, BPW) a un tubo de Solución de Lisis Neogen. No use agua como un NC.
7. Verifique que la temperatura del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen sea de 100 °C ± 1 °C.
8. Coloque la gradilla descubierta de tubos de Solución de Lisis Neogen en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen y caliente durante 15 ± 1 minutos. Durante el calentamiento, la Solución de Lisis Neogen cambiará de rosado (frío) a amarillo (caliente).
   8.1 Las muestras que no se hayan tratado debidamente con calor durante el paso de lisis del ensayo pueden considerarse un posible riesgo biológico y NO deben introducirse en el Equipo de Detección Molecular Neogen.
9. Retire la gradilla descubierta de tubos Solución de Lisis Neogen del Bloque de Calor para la Detección Molecular Neogen y deje que se enfríe en la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos. Cuando se usa la Inserción del Bloque de Frío del Sistema de Detección Molecular Neogen a temperatura ambiente sin la Bandeja para el Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen®, debe colocarse directamente sobre el banco de laboratorio. Cuando esté frío, la Solución de Lisis Neogen se revertirá a un color rosado.
10. Retire la gradilla de tubos de Solución de Lisis Neogen de la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen.



Amplificación

1. Se necesita un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen por cada muestra y el NC.
   1.1 Las tiras de tubos pueden cortarse para obtener la cantidad de tubos deseada. Seleccione la cantidad de Tubos de Reactivos del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen o tiras de 8 tubos según sea necesario.
   1.2 Coloque los tubos en una gradilla vacía.
   1.3 Evite mover las perlas de reactivo en el fondo de los tubos.
2. Seleccione un tubo de Control de Reactivos Neogen y colóquelo en la gradilla.
3. Para evitar la contaminación cruzada, destape un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen por vez y use una nueva punta de pipeta para cada paso de transferencia.
4. Transfiera cada uno de los lisados a un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen y a un Tubo de Control de Reactivos Neogen como se describe a continuación:

Transfiera el lisado de cada muestra a los Tubos de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen **primero,** seguido por el NC. Hidrate el Tubo de Control de Reactivos Neogen **al final.**

5. Use la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Reactivo Neogen® para destapar el Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen, una tira a la vez. Deseche la tapa.

5.1 **Transfiera 20 µL del lisado de muestra de la ½ superior del líquido (evite el precipitado) en el tubo de Solución de Lisis Neogen que corresponde al Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen. Aplique en un ángulo que permita evitar que se muevan los gránulos. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.**

5.2 Repita el paso 5.1 hasta que se haya añadido una muestra individual del lisado a un Tubo de Reactivos del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen en la tira.

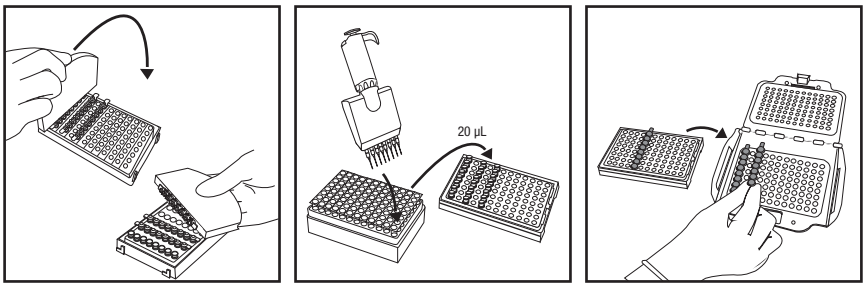
5.3 Cubra los Tubos de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen con las tapas adicionales provistas y utilice el lado redondeado de la Herramienta para Encapuchado/Desencapuchado del Sistema de Detección Molecular – Reactivo Neogen para aplicar presión con un movimiento hacia adelante y hacia atrás para asegurarse de que la tapa quede bien ajustada.

5.4 Repita los pasos 5.1 a 5.3 según sea necesario para la cantidad de muestras que se deben analizar.

5.5 Cuando se hayan transferido todos los lisados de la muestra, repita los pasos 5.1 a 5.3 para transferir 20 µL de lisado NC a un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen.

5.6 Transfiera **20 µL del lisado NC a un tubo de Control de Reactivos Neogen.** Aplique en un ángulo que permita evitar que se muevan los gránulos. Mezcle pipeteando suavemente hacia arriba y hacia abajo 5 veces.

6. Cargue los tubos tapados en una Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen limpia y descontaminada. Cierre y trabe la tapa de la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen.



7. Revise y confirme la corrida configurada en el Software de Detección Molecular Neogen.
8. Haga clic en el botón de inicio del software y seleccione el equipo que usará. La tapa del equipo seleccionado se abrirá automáticamente.
9. Coloque la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen en el Equipo de Detección Molecular Neogen y cierre la tapa para comenzar con el ensayo. Obtendrá los resultados al cabo de 60 minutos, aunque los positivos pueden detectarse antes.
10. Una vez terminado el ensayo, retire la Bandeja de Carga Rápida para el Sistema de Detección Molecular Neogen del Equipo de Detección Molecular Neogen y deseche los tubos sumergiéndolos en una solución de cloro de uso doméstico del 1 % al 5 % (v:v en agua) durante 1 hora y lejos del área en que se prepara el ensayo.

ATENCIÓN: Para minimizar el riesgo de falsos positivos a causa de contaminación cruzada, nunca abra tubos de reactivo que contengan DNA amplificado. Esto incluye un Tubo de Reactivo del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen, el Control de Reactivos Neogen y los Tubos de Control de Matriz Neogen. Siempre deseche los tubos de reactivo sellados sumergiéndolos en una solución de lejía de uso doméstico al 1 % a 5 % (v:v en agua) durante 1 hora y lejos del área en que se prepara el análisis.

Resultados e interpretación

Un algoritmo interpreta la curva de producción de luz que se obtiene de la detección de ácido nucleico amplificado. El software analiza automáticamente los resultados y los expresa en color según el resultado. Los resultados Positivo o Negativo se determinan mediante el análisis de una cantidad de parámetros característicos de la curva. Los resultados presuntivos positivos se informan en tiempo real, mientras que los resultados Negativo e Inspeccionar se muestran una vez terminado el análisis.

Las muestras con resultados presuntivos positivos deben ser confirmadas de acuerdo con los procedimientos operativos estándares del laboratorio o mediante la confirmación del método de referencia apropiado[1,2], comenzando con la transferencia del Caldo de enriquecimiento para *Campylobacter* Neogen a las placas selectivas para *Campylobacter* con incubación microaerofílica, confirmación de aislados usando métodos bioquímicos, microscópicos y serológicos adecuados apropiados. Para un mejor mantenimiento del enriquecimiento, enrolle la bolsa de enriquecimiento después de tomar una muestra.

NOTA: Incluso una muestra negativa no arrojará una lectura de cero, ya que los reactivos de amplificación del Ensayo Detección Molecular 2 para *Campylobacter* Neogen contienen un nivel basal de unidades relativas de luz.

En el raro caso de que se emita una señal de luz inusual, el algoritmo lo indicará como “Inspeccionar”. Neogen recomienda al usuario repetir el ensayo para aquellas muestras etiquetadas como Inspeccionar. Si el resultado sigue siendo Inspeccionar, continúe con la prueba de confirmación usando su método preferido o según se especifique en las reglamentaciones locales[1,2].

Apéndice A. Interrupción por protocolo: Almacenamiento y repetición de pruebas de lisados tratados con calor

1. Para almacenar un lisado tratado con calor, vuelva a tapar el Tubo de Solución de Lisis Neogen con una tapa limpia (consulte Lisis, 4.5)
2. Almacene entre 2 °C y 8 °C por hasta 72 horas.
3. Prepare una muestra almacenada para amplificación invirtiéndola 2 a 3 veces para mezclar.
4. Destape los tubos.
5. Coloque los tubos de lisado mezclados en el Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen y caliéntelos a 100 °C ± 1 °C durante 5 ± 1 minutos.
6. Retire la gradilla descubierta de tubos Solución de Lisis Neogen del Bloque de Calor para el Sistema de Detección Molecular Neogen y deje que se enfríe en la Inserción del Bloque de Frío para el Sistema de Detección Molecular Neogen al menos durante 5 minutos y por un máximo de 10 minutos.
7. Siga el protocolo en la sección **Amplificación** que se detalla arriba.

Referencias:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contacte a su representante de Neogen Food Safety para obtener una copia de este documento.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Explicación de los 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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Productinstructies

Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter*

Productbeschrijving en beoogd gebruik

De Neogen® Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* wordt samen met het Neogen® Moleculair Detectiesysteem gebruikt voor een snelle en specifieke detectie van *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* en *Campylobacter coli* in verrijkte voedingsmiddelen en omgevingsmonsters uit de voedingsindustrie.

De Neogen Moleculaire Detectie Assay maakt gebruik van lusgebonden isothermische amplificatie voor de snelle amplificatie van nucleïnezuurschakels met een hoge specificiteit en gevoeligheid, in combinatie met bioluminescentie om de amplificatie op te sporen. Vermoedelijk positieve resultaten worden onmiddellijk gerapporteerd, terwijl negatieve resultaten pas na de voltooiing van de analyse worden weergegeven. Vermoedelijk positieve resultaten moeten worden bevestigd door middel van de door u verkozen methode of conform de lokale wet- en regelgeving[1,2].

De Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* is bestemd voor gebruik in een laboratoriumomgeving door professionals die zijn geschoold in laboratoriumtechnieken. Neogen heeft het gebruik van dit product niet gedocumenteerd in andere sectoren dan de voedings- of dranksector. Neogen heeft dit product bijvoorbeeld niet gedocumenteerd voor farmaceutische, cosmetische, klinische of veterinaire monsters. De Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* is niet geëvalueerd voor alle mogelijke voedingsmiddelen, voedselverwerkingsprocessen, testprotocollen of voor alle mogelijke bacteriestammen.

Zoals bij alle testmethoden, kunnen de bron, de formulering en de kwaliteit van het verrijkingsmedium de resultaten beïnvloeden. Factoren als bemonsteringsmethoden, testprotocollen, monstervoorbereiding, hantering en laboratoriumtechniek kunnen tevens de resultaten beïnvloeden. Neogen beveelt evaluatie van de methode aan, met inbegrip van het verrijkingsmedium, in de omgeving van de gebruiker aan de hand van een voldoende aantal monsters met specifieke voedingsmiddelen en microbiële uitdagingen om ervoor te zorgen dat de methode aan de criteria van de gebruiker voldoet.

Neogen heeft de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* geëvalueerd met de Neogen® *Campylobacter* verrijkingsbouillon en bloedvrije Bolton verrijkingsbouillon.

Het Neogen® Moleculair Detectieinstrument is bedoeld voor gebruik bij monsters die tijdens de lyseanalysestap een warmtebehandeling hebben ondergaan, die ontwikkeld is om de in het monster aanwezige organismen te vernietigen. Monsters die tijdens de lyseanalysestap niet de juiste warmtebehandeling hebben ondergaan, kunnen als een potentieel biologisch gevaar worden beschouwd en mogen NIET in het Neogen Moleculaire Detectieinstrument worden geplaatst.

Neogen Food Safety is ISO 9001-gecertificeerd voor het ontwerp en de productie (ISO staat voor Internationale Organisatie voor Standaardisatie).

De Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter*-testset bevat 96 tests, die beschreven staan in Tabel 1.

Tabel 1. Onderdelen Neogen Moleculaire Detectie Assay-testset

Artikel	Identificatie	Hoeveelheid	Inhoud	Opmerkingen
Neogen® Lyse-oplossing (LS)	Roze oplossing in doorzichtige buisjes	96 (12 stroken van 8 buisjes)	580 µl LS per buisje	In rek en klaar voor gebruik
Neogen® Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisjes	Paarse buisjes	96 (3 zakjes met 4 stroken van 8 buisjes)	Gevriesdroogde specifieke amplificatie- en detectiemix	Klaar voor gebruik
Extra doppen	Paarse doppen	96 (12 stroken van 8 doppen)		Klaar voor gebruik
Neogen® Reagenscontrole (RC)	Doorzichtige buisjes met kliksluiting	16 (2 zakjes met 8 individuele buisjes)	Gevriesdroogd controle-DNA, amplificatie- en detectiemix	Klaar voor gebruik

De negatieve controle (NC), die niet in de set is meegeleverd, is een steriel verrijkingsmedium, zoals Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon. Gebruik geen water als NC.

U kunt een snelstartgids raadplegen via www.neogen.com

Veiligheid

De gebruiker moet alle veiligheidsinformatie in de instructies van het Neogen Moleculair Detectiesysteem en de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* lezen, begrijpen en in acht nemen. Bewaar de veiligheidsinstructies om deze later te kunnen raadplegen.

⚠ **WAARSCHUWING:** Geeft een gevaarlijke situatie aan die, indien deze niet wordt vermeden, de dood, ernstig letsel en/of materiële schade tot gevolg zou kunnen hebben.

OPMERKING: Geeft een mogelijk gevaarlijke situatie aan die, indien deze niet wordt vermeden, materiële schade tot gevolg zou kunnen hebben.

⚠ WAARSCHUWING

Gebruik de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* niet voor de diagnose van aandoeningen bij mensen of dieren.

De gebruiker moet zijn personeel scholen in de huidige en juiste testtechnieken, zoals Good Laboratory Practices[3], ISO/IEC 17025[4], of ISO 7218[5].

Op de volgende wijze kunt u de risico's beperken van een vals negatief resultaat dat tot vrijgave van een besmet product leidt:

- Volg het protocol en voer de tests exact uit zoals aangegeven in de productinstructies.
- Bewaar de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* zoals wordt aangegeven op de verpakking en in de productinstructies.
- Gebruik de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* altijd vóór de vervaldatum.
- Bereid Neogen® *Campylobacter* verrijkingsbouillon volgens de aanwijzingen in de productinstructies.
- Autoclaveer Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon niet.
- Gebruik de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* met voedsel- en omgevingsmonsters die intern of door een derde partij zijn gevalideerd.
- Gebruik de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* alleen met oppervlakken, reinigingsmiddelen, protocollen en bacteriestammen die intern of door een derde partij zijn gevalideerd.
- Voor een omgevingsmonster dat een neutraliserende bufferoplossing bevat met een arylsulfonaatcomplex, verdunt u 1:2 voorafgaand aan het testen (1 deel monster op 1 deel steriele verrijkingsbouillon). Ook kan 10 µl van de neutraliserende bufferverrijking naar de buisjes met Neogen lyse-oplossing worden overgebracht. Neogen® monsterverwerkende producten, waaronder een neutraliserende buffer met arylsulfonaatcomplex: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G en HS2410NB2G.

Op de volgende wijze kunt u de risico's van blootstelling aan biologische en chemische gevaren beperken:

- Voer de pathogeentests uit in een goed uitgerust laboratorium onder het toezicht van opgeleid personeel. Geïncubeerde verrijkingsmedia en -apparatuur of oppervlakken die met geïncubeerde verrijkingsmedia in contact zijn gekomen, bevatten mogelijk voldoende pathogenen om een gevaar voor de menselijke gezondheid te vormen.
- Volg bij de hantering van reagentia en besmette monsters altijd de standaard veiligheidsvoorschriften voor laboratoria op, met inbegrip van het dragen van toepasselijke beschermende kleding en oogbescherming.
- Vermijd contact met de inhoud van de verrijkingsmedia en reagensbuisjes na amplificatie.
- Voer verrijkte monsters af conform de plaatselijke/regionale/nationale regelgevingsnormen.
- Monsters die tijdens de lyseanalysestap niet de correcte warmtebehandeling hebben ondergaan, kunnen als een potentieel biologisch gevaar worden beschouwd en mogen NIET in het Neogen Moleculaire Detectieinstrument worden geplaatst.

Op de volgende wijze kunt u tijdens de voorbereiding van de test de risico's van kruisbesmetting beperken:

- Draag altijd handschoenen (om de gebruiker te beschermen en de introductie van nucleases te voorkomen).

Op de volgende wijze kunt u de risico's van blootstelling aan hete vloeistoffen beperken:

- Overschrijd de aanbevolen temperatuurinstelling op de verwarmer niet.
- Overschrijd de aanbevolen verwarmingstijd niet.
- Gebruik een geschikte, gekalibreerde thermometer om de temperatuur van het Neogen® Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk te controleren (zoals een gedeeltelijk ondergedompelde thermometer of digitale thermokoppelthermometer, geen volledig ondergedompelde thermometer). De thermometer moet op de aangewezen locatie in het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk worden geplaatst.

OPMERKING

Op de volgende wijze kunt u tijdens de voorbereiding van de test de risico's van kruisbesmetting beperken:

- Verwissel uw handschoenen alvorens reagenspellets te hydrateren.
- Het gebruik van steriele pipettips geschikt voor moleculaire biologie met spuitbusbarrière (gefilterd) wordt aanbevolen.
- Gebruik een nieuwe pipettip bij elke monsteroverdracht.
- Maak gebruik van Good Laboratory Practices bij de monsteroverdracht van de verrijking naar het lysebuisje. Ter voorkoming van pipetbesmetting kan de gebruiker ervoor kiezen een extra overdrachtsstap toe te voegen. De gebruiker kan bijvoorbeeld elk verrijkt monster naar een steriel buisje overbrengen.
- Gebruik waar mogelijk een moleculair biologiewerkstation met een kiemdodende lamp.
- Ontsmet regelmatig laboratoriumtafels en -apparatuur (pipetten, cap/decap gereedschap, enz.) met een bleekwateroplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) of DNA-verwijderingsoplossing.

Op de volgende wijze kunt u het risico beperken op vals positieve resultaten:

- U dient reagensbuisjes nooit na amplificatie te openen.
- Verwijder de verontreinigde buisjes altijd door ze 1 uur lang onder te dompelen in een huishoudbleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water), uit de buurt van de testbereidingsruimte.
- U dient reagensbuisjes nooit na amplificatie te autoclaveren.

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende informatie en lokale wet- en regelgeving inzake afvalverwerking.

Als u vragen hebt over specifieke toepassingen of procedures, kunt u onze website www.neogen.com bezoeken of contact opnemen met uw plaatselijke vertegenwoordiger of distributeur van Neogen.

Verantwoordelijkheid van de gebruiker

Gebruikers worden geacht zich vertrouwd te maken met de productinstructies en -informatie. Bezoek onze website op **www.neogen.com** of neem contact op met uw plaatselijke Neogen-vertegenwoordiger of -distributeur voor meer informatie.

Bij het kiezen van een testmethode is het belangrijk om te erkennen dat externe factoren, zoals bemonsteringsmethoden, testprotocollen, monstervoorbereiding, hantering, laboratoriumtechniek en het monster zelf invloed op de resultaten kunnen hebben.

De gebruiker is verantwoordelijk voor de selectie van een testmethode of product waarbij een voldoende aantal monsters met gepaste matrices en microbiële uitdagingen wordt onderzocht, zodat de gekozen testmethode aan de criteria van de gebruiker voldoet.

Het is ook de verantwoordelijkheid van de gebruiker om te bepalen of testmethoden en resultaten aan de vereisten van klanten en leveranciers voldoen.

Zoals bij elke testmethode vormen de verkregen resultaten van het gebruik van een Neogen Food Safety-product geen garantie voor de kwaliteit van de geteste matrices of processen.

Om klanten te helpen bij het evalueren van de methode voor verschillende matrices heeft Neogen de Neogen® Moleculaire Detectie Matrix-controleset ontwikkeld. Gebruik indien nodig de Neogen Moleculaire Detectie - Matrix controle (MC) om te bepalen of de matrix het vermogen heeft om de resultaten van de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* te beïnvloeden. Test meerdere monsters die representatief zijn voor de matrix, zoals monsters met een verschillende oorsprong, tijdens een willekeurige validatieperiode bij het aannemen van de Neogen-methode of bij het testen van nieuwe of onbekende matrices of matrices die grondstof- of procesveranderingen hebben ondergaan.

Een matrix kan worden gedefinieerd als een soort product met intrinsieke eigenschappen, zoals samenstelling en proces. Verschillen tussen de matrices hangen af van hun verwerking of presentatie, bijvoorbeeld rauw ten opzichte van gepasteuriseerd; vers ten opzichte van gedroogd enzovoort.

Beperkte garantie / beperkt verhaal

BEHALVE WAAR UITDRUKKELIJK VERMELD IN EEN SECTIE MET BETREKKING TOT DE BEPERKTE GARANTIE VAN EEN AFZONDERLIJKE PRODUCTVERPAKKING, WIJST NEOGEN ALLE UITDRUKKELIJKE EN IMPLICIETE GARANTIES AF, MET INBEGRIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT, ELKE GARANTIE MET BETREKKING TOT DE VERHANDELBAARHEID EN DE GESCHIKTHEID VOOR EEN BEPAALD DOEL. Als een Neogen Food Safety-product gebrekkig is, zal Neogen of zijn gevolmachtigde distributeur naar eigen keuze het product vervangen of de aankoopprijs van het product terugbetalen. Dit is het enige rechtsmiddel waarover u beschikt. Indien u vermoedt dat een product gebrekkig is, moet u Neogen daarvan binnen 60 dagen na de vaststelling op de hoogte brengen en het product naar Neogen terugsturen. Neem contact op met uw Neogen-vertegenwoordiger of erkende Neogen-distributeur voor verdere vragen.

Beperking van Neogen aansprakelijkheid

NEOGEN IS NIET AANSPRAKELIJK VOOR ENIG(E) VERLIES OF SCHADE, ONGEACHT OF HET GAAT OM DIRECTE, INDIRECTE, SPECIALE, INCIDENTELE OF GEVOLGSCHADE, MET INBEGRIP VAN, MAAR NIET BEPERKT TOT WINSTDERVING. In geen geval zal de wettelijke aansprakelijkheid van Neogen onder om het even welke juridische theorie de aankoopprijs van het vermeend gebrekkige product overschrijden.

Opslag en afvalverwerking

Sla de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* op tussen 2 en 8 °C (35 en 47 °F). Niet invriezen. Bewaar de set tijdens opslag uit het licht. Controleer na het openen van de set of het foliezakje niet beschadigd is. Gebruik het product niet als het zakje beschadigd is. Na opening moeten de ongebruikte reagensbuisjes altijd worden bewaard in de hersluitbare zak met droogmiddel om de stabiliteit van de gevriesdroogde reagentia te behouden. Sla opnieuw verzegelde zakjes op tussen 2 en 8 °C (35 en 47 °F) niet langer dan 90 dagen.

Gebruik de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* niet na de vervaldatum. De vervaldatum en het batchnummer zijn terug te vinden op het etiket aan de buitenzijde van de doos. Na gebruik bevatten het verrijkingsmedium en de buisjes van de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* mogelijk pathogeen materiaal. Zodra de tests zijn afgerond, dient u de van kracht zijnde industrienormen betreffende de afvoer van besmet afval op te volgen. Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende informatie en lokale wet- en regelgeving inzake afvalverwerking.

Gebruiksaanwijzingen

Volg alle instructies zorgvuldig op. Wanneer dit niet gebeurt, kan dit onnauwkeurige resultaten tot gevolg hebben.

Ontsmet regelmatig laboratoriumtafels en apparatuur (pipetten, cap/decap gereedschap, enz.) met een bleekwateroplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) of DNA-verwijderingsoplossing.

De gebruiker dient de kwalificatietraining voor de bediener van het Neogen Moleculair Detectiesysteem te voltooien, zoals beschreven in het document 'Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System'[6].

Bereiding van media

Bereid Neogen® *Campylobacter* verrijkingsbouillon (CE250) volgens de aanwijzingen in de productinstructies. **Autoclaveer het medium nooit voorafgaand aan het gebruik.** Gebruik het bereide medium binnen 24 uur na bereiding. Sla de bereide bouillon op tussen 2 en 8 °C[7], beschermd tegen licht, indien de bouillon niet onmiddellijk na bereiding wordt gebruikt. Zorg ervoor dat de temperatuur van het medium zich voorafgaand aan het gebruik tussen 20 en 30 °C bevindt.

Monsterverzameling

Gebruik de Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon nooit voor vogelspoeling of als transportmedium. Verzamel en vervoer monsters volgens uw vastgestelde procedures voor het verzamelen van monsters.

Monsterverrijking

Tabel 2 biedt advies voor algemene verrijkingsprotocollen voor voedings- en omgevingsmonsters.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om alternatieve bemonsteringsprotocollen of verdunningsverhoudingen te valideren om ervoor te zorgen dat deze testmethode aan de criteria van de gebruiker voldoet.

Monstervoorbereiding

a. Spoeling van karkas en spoeling van rauwe gevogeltedelen

1. Spoel één minuut lang een van de ingewanden ontdaan karkas van gevogelte met 400 ml gebufferd peptoonwater (BPW). Bij het spoelen van rauwe gevogeltedelen spoelt u 1,8 tot 2 kg (4 lb ± 10%) vogeldelen met 400 ml BPW[1,8].
2. Laat voorafgaand aan het spoelen van het monster de overtollige vloeistoffen van karkassen en rauwe gevogeltedelen druppen om tegen te gaan dat procesvloeistoffen naar de monsterzak worden overgebracht[8].
3. Bij gevogelte dat is behandeld met cetylpyridiniumchloride (CPC), is het noodzakelijk om 5 ml per l polysorbaat 80 (IUPAC: polyoxyethyleen (20) sorbitanmonooleaat; CAS 9005-65-6) aan de bereide Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon toe te voegen. Polysorbaat 80 kan voorafgaand aan de sterilisatie aan water worden toegevoegd om het oplossen te vergemakkelijken of het kan voorafgaand aan de bereiding van Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon direct aan steriel water worden toegevoegd.
4. Breng op steriele wijze 30 ml spoeling over naar een steriele zak en voeg 30 ml Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon toe.

b. Karkasspon

1. Sponzen dienen vochtig te zijn gemaakt met maximaal 25 ml BPW voordat het monster wordt genomen[1]. Zorg er bij transport van de monsters voor dat de zak naar beneden is gerold en wordt bewaard tussen 2 en 8 °C.
2. Neem een uitstrijkje van het karkas van het gevogelte of neem een monster met behulp van een spons.

3. Plaats het staafje in een steriele zak en voeg 25 ml Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon toe. Zorg ervoor dat het staafje of de spons volledig met de verrijkingsmedia wordt bedekt.

c. Producten met rauw gevogelte

1. Weeg op steriele wijze 325 ± 32,5 g van het monster af en plaats het in een steriele zak. Voeg 1625 ± 32,5 ml BPW toe aan het product met rauw gevogelte. Meng het product door de zak handmatig te masseren om klonten te verkleinen.
2. Voeg na het mengen 30 ml van het rauwe gevogelte mengsel toe aan een steriele zak en voeg vervolgens 30 ml Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon toe en meng grondig.

d. Rauw en direct eetbaar vlees

1. Weeg op steriele wijze 25 g van het monster af en plaats het in een steriele zak. Een filterzak wordt aanbevolen om monsterneming te vergemakkelijken.
2. Voeg 225 ml Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon toe.
3. Masseer de zak handmatig om klonten te verkleinen, voorkom dat er tijdens het mengen luchtbellen ontstaan. Verwerk de zak niet met behulp van een Stomacher of blender.

e. Overschoenen voor primaire productie

1. Verzamel monsters met overschoenen of sokken volgens uw vastgestelde procedures voor het verzamelen van monsters.
2. Plaats ÉÉN sok in een steriele zak en voeg 100 ml Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon toe.

f. Sleep-staafje

1. Verzamel monsters met voorbevochtigd teststaafje volgens uw vastgestelde procedures voor het verzamelen van monsters.
2. Plaats het staafje in een steriele zak en breng 100 ml Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon over.

Incubatie van verrijking

1. Rol de zak naar beneden om de bovenruimte te minimaliseren en tegen te gaan dat de verrijking aan lucht wordt blootgesteld. Masseer de zak voorzichtig gedurende ongeveer 10 ± 2 seconden. **Verwerk de zak niet met behulp van een Stomacher of blender en voorkom dat er luchtbellen tijdens het mengen ontstaan.**
2. Incubeer de zak aëroob op 41,5 ± 1 °C, raadpleeg tabel 2 voor de juiste incubatietijd.

WAARSCHUWING: Mocht u gebruik maken van een neutraliserende buffer die arylsulfonaatcomplex bevat als hydraterende oplossing voor de spons,verdunt u het verrijkte omgevingsmonster 1:2 voorafgaand aan het testen (1 deel monster op 1 deel steriele verrijkingsbouillon) om de risico's te beperken van een vals negatief resultaat dat tot vrijgave van een besmet product leidt. Ook kan 10 µl van de neutraliserende bufferverrijking naar de buisjes met Neogen lyse-oplossing worden overgebracht.

Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om alternatieve bemonsteringsprotocollen of verdunningsverhoudingen te valideren om ervoor te zorgen dat deze testmethode aan de criteria van de gebruiker voldoet.

Tabel 2. Algemene verrijkingsprotocollen.

Monstermatrix	Monstergrootte	Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon (ml)[b]	Verrijkings-tempera-tuur (± 1 °C)	Verrijkingstijd (uur)	Volume monster-analyse (µl)[c]
• Spoelingen van karkas[a] • Spoelingen van vogeldelen[a]	30 ml spoelwater in BPW	30	41,5	22-26	20
• Karkasspons[a]	1 spons voorbevochtigd met maximaal 25 ml BPW	25	41,5	22-26	20
• Rauw vlees • Direct eetbaar vlees	25 g	225	41,5	24-28	20
• Overschoenen voor primaire productie	1 overschoen	100	41,5	22-26	20
• Sleep-staafje uit primaire productie	1 voorbevochtigd hulpmiddel	100	41,5	22-26	20

(a) Als vogels met cetylpyridiniumchloride (CPC) behandeld zijn, is het noodzakelijk om 5 ml per l (polysorbaat 80; IUPAC: polyoxyethyleen (20) sorbitanmonooleaat; CAS 9005-65-6) toe te voegen aan de bereide Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon. Polysorbaat 80 kan voorafgaand aan de sterilisatie aan water worden toegevoegd of het kan voorafgaand aan de bereiding van Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon aan steriel water worden toegevoegd.
(b) Gebruik Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon binnen 24 uur na bereiding. Zorg dat het medium voorafgaand aan gebruik op omgevingstemperatuur is (25-30 °C).
(c) Masseer de onderkant van de zak voorzichtig voordat u een verrijkingsmonster voor analyse verzamelt. **Nadat het monster is verzameld, rolt u de zak naar beneden om tegen te gaan dat de verrijking aan lucht wordt blootgesteld.** Aanvullende monsters kunnen voor hertesten of bevestigingsstappen zijn vereist.

Specifieke instructies voor gevalideerde methoden

AOAC® Performance Tested℠ (PTM)-certificaat nr. 111803

Uit de PTM℠-studies van het AOAC Research Institute blijkt dat de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* een effectieve methode is voor de detectie van *Campylobacter*. De in de studie geteste matrices die worden getoond in Tabel 3.

Tabel 3. Verrijkingsprotocollen conform AOAC PTM℠-certificaat nr. 111803.

Monstermatrix	Monstergrootte	Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon (ml)[(c)]	Verrijkingstemperatuur (± 1 °C)	Verrijkingstijd (uur)	Volume monsteranalyse (µl)[(d)]
Volledig karkas gespoeld in 400 ml BPW[(a) (b)]	30 ml spoelwater in BPW	30	41,5	22-26	20
Delen van gevogelte (1,8 tot 2 kg) gespoeld in 400 ml BPW[(a) (b)]	30 ml spoelwater in BPW	30	41,5	22-26	20
Karkasspons van kalkoen[(a) (b)]	1 spons voorbevochtigd met maximaal 25 ml BPW	25	41,5	24-26	20
Gemalen rauw gevogelte (325 ± 32,5 g) gespoeld in 1625 ± 32,5 ml BPW[(b)]	30 ml product-mengsel in BPW	30	41,5	24-28	20
Kipnuggets	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Als vogels met cetylpyridiniumchloride (CPC) behandeld zijn, is het noodzakelijk om 5 ml per l (polysorbaat 80; IUPAC: polyoxyethyleen (20) sorbitanmonooleaat; CAS 9005-65-6) toe te voegen aan de bereide Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon. Polysorbaat 80 kan voorafgaand aan de sterilisatie aan water worden toegevoegd of het kan voorafgaand aan de bereiding van Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon aan steriel water worden toegevoegd.
(b) Deze matrix kan ook worden verrijkt met 30 ml 2X bloedvrije Bolton verrijkingsbouillon (BF-BEB) gedurende 48 ± 2 uur op 42 ± 1,0 °C in microaërobe omstandigheden. Draag 20 µl van het monster over naar de Neogen lyse-oplossing.
(c) Gebruik Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon binnen 24 uur na bereiding. Zorg dat het medium voorafgaand aan gebruik op omgevingstemperatuur is (25-30 °C).
(d) Masseer de onderkant van de zak voorzichtig voordat u een verrijkingsmonster voor analyse verzamelt. **Nadat het monster is verzameld, rolt u de zak naar beneden om tegen te gaan dat de verrijking aan lucht wordt blootgesteld.** Aanvullende monsters kunnen voor hertesten of bevestigingsstappen zijn vereist.

Voorbereiding van de Neogen® Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray

1. Maak een doek of wegwerpdoekje vochtig met een bleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) en reinig de Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray.
2. Spoel de Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray met water.
3. Veeg de Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray met een wegwerpdoekje droog.

4. Zorg ervoor dat de Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray droog is voor gebruik.

Voorbereiding van het Neogen® Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk

Plaats het Neogen Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk rechtstreeks op de laboratoriumtafel: de Neogen Moleculaire Detectie - Lade voor koelblok wordt niet gebruikt. Gebruik het koelblok op de omgevingstemperatuur van het laboratorium (20-25 °C).

Voorbereiding van het Neogen® Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk

Plaats het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk in een droge dubbelblokverhitter. Schakel de droge blokverwarmer in en stel de temperatuur zo in dat het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk 100 ± 1 °C kan bereiken en aanhouden.

OPMERKING: Afhankelijk van de verhitter laat u het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk ongeveer 30 minuten op temperatuur komen. Gebruik een geschikte, gekalibreerde, op de aangewezen locatie geplaatste thermometer (zoals een gedeeltelijk ondergedompelde thermometer of digitale thermokoppelthermometer, geen volledig ondergedompelde thermometer) om te controleren of het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk zich op 100 ± 1 °C bevindt.

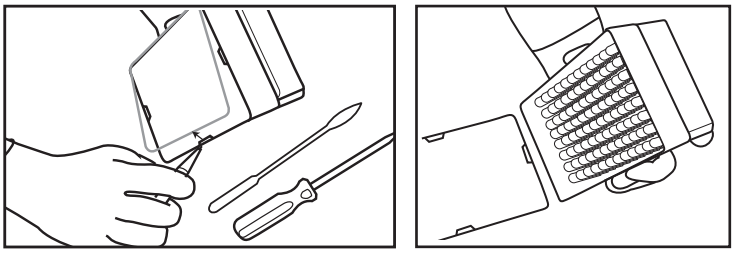
Voorbereiding van het Neogen® Moleculair Detectieinstrument

1. Start de Neogen® Moleculair Detectiesoftware en meld u aan. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor Neogen Food Safety om ervoor te zorgen dat u de nieuwste versie van de software hebt.
2. Zet het Neogen Moleculaire Detectieinstrument aan.
3. Maak of bewerk een run met de gegevens van elk monster. Raadpleeg de handleiding van het Neogen Moleculair Detectiesysteem voor meer informatie.

OPMERKING: Het Neogen Moleculaire Detectieinstrument moet de status Klaar bereiken voordat u de Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray met reagensbuisjes invoert. Deze verwarmingsstap duurt ongeveer 20 minuten en wordt met een ORANJE lampje op de statusbalk van het instrument aangeduid. Wanneer het instrument klaar is voor een run, wordt de statusbalk GROEN.

Lyse

Verwijder de bodem van het rek met Neogen lyse-oplossing met een schroevendraaier voordat u het in het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk plaatst.



1. Laat de buisjes met Neogen lyse-oplossing opwarmen door het rek een nacht lang (16-18 uur) op omgevingstemperatuur (20-25 °C) te plaatsen. U kunt de buisjes met Neogen lyse-oplossing eveneens op omgevingstemperatuur brengen door de buisjes ten minste 2 uur lang op de laboratoriumtafel te plaatsen, de buisjes 1 uur lang op een temperatuur van 37 ± 1 °C in een incubator te incuberen of ze 30 seconden lang op een temperatuur van 100 °C in een droge dubbelblokverwarmer te plaatsen.
2. Keer de buisjes met dop om om ze te mengen. Ga binnen 4 uur na het omkeren verder met de volgende stap.
3. **Haal het verrijkte monster uit de incubator.**
   - **3.1.1 Masseer de onderkant van de verrijkingszak voorzichtig voordat u het monster naar het buisje met Neogen lyse-oplossing overbrengt.**
   - **3.1.2 Aanvullende monsters kunnen voor hertesten of bevestigingsstappen zijn vereist. Nadat het monster is verzameld, rolt u de zak naar beneden om de bovenruimte te minimaliseren en tegen te gaan dat de verrijking aan lucht wordt blootgesteld. Als bevestiging van vermoedelijke resultaten is vereist, gaat u verder met de bevestigingsstappen zodra het vermoedelijke resultaat is verkregen.**
4. Er is een buisje met Neogen lyse-oplossing vereist voor elk monster, evenals het NC-monster (steriel verrijkingsmedium).
   - 4.1 Stroken met buisjes met Neogen lyse-oplossing kunnen worden afgesneden tot op het gewenste aantal buisjes. Selecteer het aantal vereiste buisjes of 8-buisstroken. Plaats de buisjes met Neogen lyse-oplossing in een leeg rek.
   - 4.2 Haal de stroken van de buisjes met Neogen lyse-oplossing een voor een uit de verpakking en gebruik een nieuwe pipettip voor elke overdrachtsstap om zo kruisbesmetting te voorkomen.

4.3 Breng het verrijkte monster over naar de buisjes met Neogen lyse-oplossing zoals hieronder beschreven:

> Breng **eerst** elk verrijkt monster over naar een individueel buisje met Neogen lyse-oplossing. Breng de NC als **laatste** over.

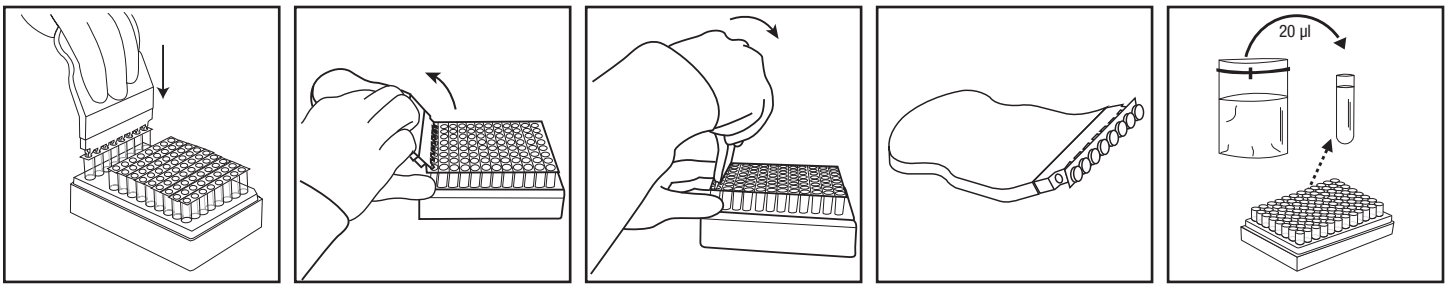
4.4 Gebruik de lyse van het Neogen® Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Lyse om één voor één een strook van een buisje met Neogen lyse-oplossing open te maken.

4.5 Gooi de dop van het buisje met Neogen lyse-oplossing weg - als er lysaat voor een hertest wordt bewaard, dienen de doppen in een schone bak te worden geplaatst om deze na de lyse opnieuw aan te brengen.

4.5.1 Zie Appendix A voor de verwerking van bewaard lysaat.

4.6 Breng 20 µl van het monster over in een buisje met Neogen lyse-oplossing.

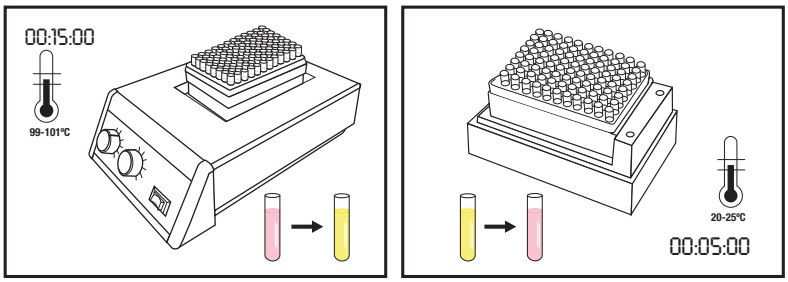
5. Herhaal, indien nodig, stappen 4.4 tot 4.6 voor alle monsters die worden getest.



6. Wanneer alle monsters overgebracht zijn, brengt u 20 µl NC (steriel verrijkingsmedium, bijv. BPW) over naar een buisje met Neogen lyse-oplossing. Gebruik geen water als NC.
7. Controleer of de temperatuur van het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk zich op 100 ± 1 °C bevindt.
8. Plaats het onbedekte rek met buisjes met Neogen lyse-oplossing in het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk en verwarm 15 ± 1 minuten. Tijdens de verwarming verandert de Neogen lyse-oplossing van roze (koel) naar geel (heet).

8.1 Monsters die tijdens de lyseanalysestap niet de juiste warmtebehandeling hebben ondergaan, kunnen als een potentieel biologisch gevaar worden beschouwd en mogen NIET in het Neogen Moleculaire Detectieinstrument worden geplaatst.

9. Haal het onbedekte rek met buisjes met Neogen lyse-oplossing uit het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblok en laat het minimaal 5 minuten en maximaal 10 minuten afkoelen in het Neogen Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk. Het Neogen Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk, gebruikt op omgevingstemperatuur zonder de Neogen® Moleculaire Detectie - Lade voor Koelblok, moet rechtstreeks op de laboratoriumtafel leunen. Zodra de Neogen lyse-oplossing koel is, krijgt deze een roze kleur.
10. Haal het rek met buisjes met Neogen lyse-oplossing uit het Neogen Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk.



Amplificatie

1. Er is één Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisje vereist voor ieder monster en de NC.

1.1 Buisstrookjes kunnen tot op het gewenste aantal buisjes worden afgesneden. Selecteer het aantal vereiste individuele Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisjes of 8-buisstroken.

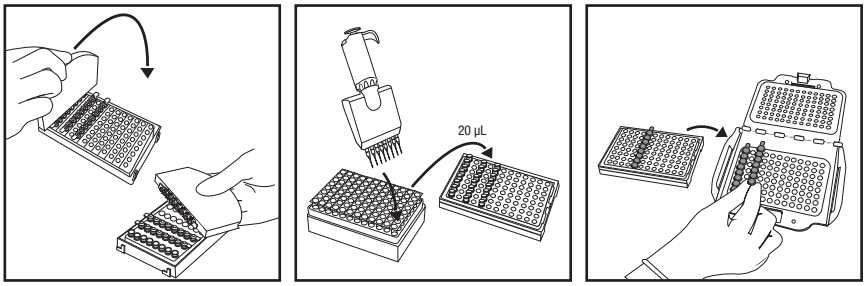
1.2 Plaats de buisjes in een leeg rek.

1.3 Zorg ervoor dat het reagens op de bodem van de buisjes niet wordt verstoord.

2. Selecteer één buisje voor Neogen Reagenscontrole en plaats dit in het rek.
3. Open de stroken van de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisjes een voor een en gebruik een nieuwe pipettip voor elke overdrachtsstap om zo kruisbesmetting te voorkomen.
4. Breng alle lysaten over naar een Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisje en een buisje voor Neogen Reagenscontrole zoals hieronder beschreven:

Breng als **eerste** elk lysaatmonster over naar een individueel Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisje, gevolgd door de NC. Hydrateer het buisje voor Neogen Reagenscontrole als **laatste.**

5. Open de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisjes een voor een met het Neogen® Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Reagens. Gooi de dop weg.
   5.1 **Breng 20 µl van het lysaatmonster uit de bovenste laag van de vloeistof (voorkom bezinksel) in het buisje met Neogen lyse-oplossing over naar het bijbehorende Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisje. Laat het mengsel in een hoek uitlopen om de pellets niet te verstoren. Meng het mengsel door voorzichtig 5 keer naar boven en naar onder te pipetteren.**
   5.2 Herhaal stap 5.1 totdat elk individueel lysaatmonster aan het bijbehorende Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisje in de strook is toegevoegd.
   5.3 Bedek de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisjes met de bijgeleverde extra dop en gebruik de afgeronde zijde van het Neogen Moleculaire Detectie Cap/Decap gereedschap - Reagens om in een voor- en achterwaartse beweging druk uit te oefenen om ervoor te zorgen dat de dop goed vastzit.
   5.4 Herhaal stappen 5.1 tot 5.3, indien nodig, voor alle monsters die moeten worden getest.
   5.5 Zodra alle lysaatmonsters zijn overgebracht, herhaalt u stappen 5.1 tot 5.3 om 20 µl NC-lysaat over te brengen naar een Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisje.
   5.6 Breng **20 µl NC-lysaat over naar een buisje voor Neogen Reagenscontrole.** Laat het mengsel in een hoek uitlopen om de pellets niet te verstoren. Meng het mengsel door voorzichtig 5 keer naar boven en naar onder te pipetteren.
6. Plaats de buisjes met dop in een schone en ontsmette Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray. Sluit en vergrendel het deksel van de Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray.



7. Controleer en bevestig de geconfigureerde run en start de Neogen Moleculaire Detectiesoftware.
8. Klik op de startknop van de software en selecteer het te gebruiken instrument. Het deksel van het geselecteerde instrument wordt automatisch geopend.
9. Plaats de Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray in het Neogen Moleculaire Detectieinstrument en sluit het deksel om de analyse te beginnen. De resultaten zijn binnen 60 minuten beschikbaar, maar positieve resultaten kunnen sneller worden gedetecteerd.
10. Nadat de test is afgerond, haalt u de Neogen Moleculaire Detectie - Speed Loader Tray uit het Neogen Moleculaire Detectieinstrument en verwijdert u de buisjes door ze eerst gedurende 1 uur, op een plaats die ver van de testbereidingsruimte verwijderd is, in een bleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water) te dompelen.

OPMERKING: Om het risico op vals positieve resultaten door kruisbesmetting te beperken, mag u nooit reagensbuisjes met geamplificeerd DNA openen. Dit geldt voor Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter* reagensbuisjes, buisjes voor Neogen Reagenscontrole en Neogen Matrix Controlebuisjes. Verwijder de verzegelde reagensbuisjes altijd door ze 1 uur lang onder te dompelen in een huishoudbleekmiddeloplossing van 1-5% (volumeconcentratie in water), uit de buurt van de testbereidingsruimte.

Resultaten en interpretatie

Een algoritme interpreteert de lichtuitvoercurve die het resultaat is van de nucleïnezuuramplificatie. De software analyseert de resultaten automatisch en deze worden op basis van het resultaat met een kleurencode aangegeven. Een positief of negatief resultaat wordt bepaald door de analyse van een aantal unieke curveparameters. Vermoedelijk positieve resultaten worden onmiddellijk gerapporteerd, terwijl de negatieve en inspectieresultaten pas na de afronding van de analyse worden weergegeven.

Vermoedelijk positieve resultaten moeten worden bevestigd aan de hand van de standaard werkmethoden van het laboratorium of door de gepaste methode voor bevestiging te volgen[1,2], te beginnen met de overdracht van de primaire Neogen *Campylobacter* verrijkingsbouillon-verrijking naar selectieve *Campylobacter*-platen met microaerofiele incubatie, bevestiging van de isolaten met gebruik van toepasselijke biochemische, microscopische en serologische methoden. Voor het beste onderhoud van de verrijking rolt u de verrijkingszak naar beneden nadat een monster is verzameld.

OPMERKING: Zelfs een negatief monster heeft geen nulmeting tot gevolg, want het systeem en de Neogen Moleculair Detectie Assay 2 - *Campylobacter*-amplificatiereagentia geven een relatieve lichteenheid (RLU) achtergrondlezing.

In het onwaarschijnlijke geval van ongebruikelijke lichtuitvoer, definieert het algoritme dit als 'Inspecteren'. Neogen beveelt de gebruiker aan om de test voor de te inspecteren monsters opnieuw uit te voeren. Als het resultaat nog steeds 'Inspecteren' is, voert u een bevestigingstest uit aan de hand van uw voorkeursmethode of volgens lokale wet- en regelgeving[1,2].

Appendix A. Protocolonderbreking: Warmtebehandelde lysaten opslaan en hertesten

1. U kunt een warmtebehandeld lysaat opslaan door opnieuw een schone dop op het buisje met Neogen lyse-oplossing te plaatsen (zie hoofdstuk 4.5 Lyse).
2. Sla maximaal 72 uur op bij een temperatuur van 2 tot 8 °C.
3. Bereid een opgeslagen monster voor op de amplificatie door het 2-3 keer om te keren om het te mengen.
4. Verwijder de doppen van de buisjes.
5. Plaats de gemengde lysaatbuisjes op het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblokinzetstuk en verwarm gedurende 5 ± 1 minuten op een temperatuur van 100 ± 1 °C.
6. Haal het rek met buisjes met Neogen lyse-oplossing uit het Neogen Moleculaire Detectie - Verwarmingsblok en laat het minimaal 5 minuten en maximaal 10 minuten in het Neogen Moleculaire Detectie - Koelblokinzetstuk afkoelen.
7. Ga verder met het protocol in het hierboven omschreven hoofdstuk **Amplificatie**.

Referenties:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detectiemethode.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Hoofdstuk 21, Deel 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor Neogen Food Safety om een exemplaar van dit document te ontvangen.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Verklaring van symbolen

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Produktinformation

Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter*

Produktbeskrivning och avsedd användning

Neogen® Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* används med Neogen® Molekylärt Detektionssystem för snabb och specifik detektion av *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* och *Campylobacter coli* i prover från anrikade livsmedel och livsmedelsbearbetningsmiljöer.

Neogen Molekylär Detektionsanalys använder LAMP-teknik (Loop-Mediated Isothermal Amplification) för att snabbt amplifiera nukleinsyrasekvenser med hög specificitet och sensitivitet kombinerat med bioluminiscens för att detektera amplifieringen. Presumtivt positiva resultat rapporteras i realtid medan negativa resultat visas när analysen har slutförts. Presumtivt positiva resultat bör bekräftas med hjälp av egen vald metod eller som specificeras av lokala föreskrifter[1,2].

Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* är avsedd för användning i laboratoriemiljö av yrkespersoner som är utbildade i laboratorieteknik. Neogen har inte dokumenterat användningen av denna produkt inom andra industrier än livsmedels- och dryckesindustrin. Neogen har exempelvis inte dokumenterat produkten för testning av läkemedel, kosmetika, kliniska prover eller veterinärprover. Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* har inte utvärderats med samtliga möjliga livsmedelsprodukter, livsmedelsbearbetningsmetoder, testprotokoll eller bakteriestammar.

Precis som för alla testmetoder kan källan till, beredningen av och kvaliteten på anrikningsmedlet påverka resultaten. Faktorer som provtagningsmetod, testprotokoll, provpreparering, hantering och laboratorieteknik kan också påverka resultaten. Neogen rekommenderar att metoden, inklusive anrikningsmedlet, utvärderas i användarens miljö med tillräckligt många prover av särskilda livsmedel och mikrobiella utmaningar för att säkerställa att metoden uppfyller användarens kriterier.

Neogen har bedömt Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* med Neogen® *Campylobacter* Enrichment Broth och den blodfria Bolton Enrichment Broth.

Neogen® Molekylärt Detektionsinstrument är avsett att användas med prover som har värmebehandlats under analysens lyseringssteg, vilket är utformat för att förstöra organismer i provet. Prover som inte har värmebehandlats korrekt under analysens lyseringssteg bör betraktas som en potentiell biologisk fara och ska INTE föras in i Neogen Molekylärt Detektionsinstrument.

Neogen Food Safety är certifierat enligt den internationella standardiseringsorganisationen (ISO) 9001 avseende konstruktion och tillverkning.

Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* testsats innehåller 96 tester, som beskrivs i tabell 1.

Tabell 1. Neogen Molekylär Detektionsanalys-kitkomponenter

Artikel	Identifikation	Antal	Innehåll	Kommentarer
Neogen® Lyseringslösning (LS)	Rosa lösning i genomskinliga rör	96 (12 remsor om 8 rör)	580 µl LS per rör	I ställ och klara att användas
Neogen® Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* Reagensrör	Lila rör	96 (3 påsar, innehållande 4 remsor om 8 rör)	Specifik frystorkad amplifierings- och detektionsblandning	Klara att användas
Extra lock	Lila lock	96 (12 remsor om 8 lock)		Klara att användas
Neogen® Reagenskontroll (RC)	Genomskinliga rör med knäpplock	16 (2 påsar om 8 enskilda rör)	Frystorkad kontroll-DNA, amplifierings- och detektionsblandning	Klara att användas

Den negativa kontrollen (NC), som inte medföljer i satsen, är ett sterilt anrikningsmedium, t.ex. Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Använd inte vatten som NC.

En snabbstartguide finns på www.neogen.com

Säkerhet

Användaren ska läsa, förstå och följa all säkerhetsinformation i anvisningarna till Neogen Molekylärt Detektionssystem och Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter*. Behåll säkerhetsanvisningarna för framtida bruk.

⚠ **VARNING:** Indikerar en farlig situation som, om den inte undviks, kan resultera i dödsfall eller allvarliga personskador och/eller materiella skador.

OBSERVERA: Indikerar en potentiellt farlig situation som, om den inte undviks, kan resultera i materiella skador.

⚠ VARNING

Använd inte Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* för diagnostisering av tillstånd hos människor eller djur.

Användaren måste utbilda sin personal i aktuella korrekta testmetoder: exempelvis Good Laboratory Practices[3], ISO/IEC 17025[4] eller ISO 7218[5].

För att minska riskerna som förknippas med ett falskt negativt resultat som leder till utgivning av kontaminerad produkt:

- Följ protokollet och utför testerna exakt så som beskrivs i relevant produktinformation.
- Förvara Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* enligt föreskrifterna på dess förpackning och i dess produktinformation.
- Använd alltid Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* före utgångsdatumet.
- Bered Neogen® *Campylobacter* Enrichment Broth enligt dess produktinformation
- Autoklavera inte Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth
- Använd Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* med livsmedels- och miljöprover som har validerats internt eller av en tredje part.
- Använd endast Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* med ytor, desinficeringsmedel, protokoll och bakteriestammar som har validerats internt eller av tredje part.
- För miljöprov innehållande neutraliseringsbuffert med arylsulfonatkomplex, späd till 1:2 innan testet utförs (1 del prov till 1 del steril anrikningsbuljong). Ett annat alternativ är att föra över 10 µl av neutraliserande buffertanrikning i Neogen Lyseringslösningsrör. Neogen® provhanteringsprodukter som inkluderar neutraliseringsbuffert med arylsulfonatkomplex: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G och HS2410NB2G.

För att minska riskerna som förknippas med exponering för kemikalier och biologiska smittorisker:

- Utför tester av patogener i ett välutrustat laboratorium under överinseende av utbildad personal. Inkuberat anrikningsmedel och utrustning eller ytor som har haft kontakt med inkuberat anrikningsmedel kan innehålla patogener vid nivåer som är tillräckliga för att utgöra en hälsorisk för människor.
- Följ alltid praxis för standardiserad laboratoriesäkerhet, inklusive användning av lämpliga skyddskläder och skyddsglasögon vid hantering av reagenser och kontaminerade prover.
- Undvik kontakt med innehållet i anrikningsmedlet och reagensrören efter amplifiering.
- Kassera anrikade prover enligt gällande lokala/regionala/nationella regelstandarder.
- Prover som inte har värmebehandlats korrekt under analysens lyseringssteg bör betraktas som en potentiell biologisk fara och ska INTE föras in i Neogen Molekylärt Detektionsinstrument.

För att minska riskerna för korskontaminering vid analysförberedelserna:

- Bär alltid handskar (för att skydda användaren och förhindra införsel av nukleaser).

För att minska riskerna som förknippas med exponering för heta vätskor:

- Överskrid inte rekommenderad temperaturinställning på uppvärmningsanordningen.
- Överskrid inte den rekommenderade uppvärmningstiden.
- Använd en lämplig, kalibrerad termometer (t.ex. en termometer för delvis nedsänkning eller en digital värmeelementstermometer, inte en termometer för fullständig nedsänkning) för att kontrollera temperaturen i Neogen® Molekylär Detektion, Insats för värmeblock. Termometern måste placeras på anvisad plats i Neogen Molekylär Detektion, Insats för värmeblock.

OBSERVERA

För att minska riskerna för korskontaminering vid analysförberedelserna:

- Byt handskar innan reagenspelletsarna vätes.
- Användning av sterila pipettspetsar med aerosolbarriär (filtrerade) för molekylärbiologiskt bruk rekommenderas.
- Använd en ny pipettspets för varje provöverföring.

- Följ god laboratoriesed vid överföringen av provet från anrikningsröret till lyseringsröret. För att undvika kontaminering av pipetten kan användaren välja att lägga till ett mellanliggande överföringssteg. Exempelvis kan användaren föra över varje anrikat prov till ett sterilt rör.
- Använd en arbetsstation avsedd för molekylärbiologi med bakteriedödande lampa om sådan finns tillgänglig.
- Dekontaminera laboratoriebänkar och utrustning (pipetter, verktyg för att fästa och ta av lock o.s.v.) regelbundet med en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning eller DNA-borttagningslösning.

För att minska riskerna som förknippas med ett falskt positivt resultat:

- Öppna aldrig reagensrör efter amplifieringen.
- Kassera alltid kontaminerade rör genom att blötlägga dem i en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning i 1 timme och på avstånd från platsen där analysen förbereds.
- Autoklavera aldrig reagensrör efter amplifieringen.

Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information och lokala föreskrifter för kassering.

Om du har frågor om specifika tillämpningar eller procedurer kan du besöka vår hemsida på www.neogen.com eller kontakta din lokala representant eller återförsäljare för Neogen.

Användaransvar

Det åligger användarna att bekanta sig med produktinstruktioner och produktinformation. Besök vår hemsida på adressen **www.neogen.com** eller kontakta din lokala Neogen-representant eller -leverantör för mer information.

Vid val av testmetod är det viktigt att inse att externa faktorer som provtagningsmetod, testprotokoll, provpreparering, hantering, laboratorieteknik och även provet kan påverka resultaten.

Det åligger användaren att vid val av testmetoder utvärdera tillräckligt många prover med lämpliga matriser och utmaningar, för att övertyga användaren att den valda metoden uppfyller kraven.

Det åligger också användaren att fastställa att en testmetod och dess resultat uppfyller kraven från dennes kunder och leverantörer.

Liksom med alla testmetoder utgör inte resultat som erhållits från användning av någon produkt från Neogen Livsmedelshygien en garanti för kvaliteten hos de matriser eller processer som testats.

För att hjälpa kunder att utvärdera metoden för olika livsmedelsmatriser har Neogen utvecklat satsen Neogen® Molekylär Detektion Matris Kontroll. Vid behov kan Neogen Molekylär Detektion Matris Kontroll (MC) användas för att avgöra om matrisen kan påverka resultaten hos Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter*. Testa flera prover som är representativa för matrisen, d.v.s. prover som inhämtats från olika källor, vid varje valideringstillfälle när Neogen-metoden används eller när nya eller okända matriser eller matriser som har genomgått råmaterial- eller bearbetningsändringar testas.

En matris kan definieras som en typ av produkt med särskilda egenskaper, såsom sammansättning eller bearbetning. Skillnaderna mellan matriser kan bestå av något så enkelt som effekterna som orsakas av skillnader i bearbetning eller utformning, till exempel rå kontra pastöriserad, färsk kontra torkad, o.s.v.

Garantibegränsningar/begränsad ersättning

MED UNDANTAG AV VAD SOM UTTRYCKLIGEN ANGES I AVSNITT OM GARANTIBEGRÄNSNING FÖR INDIVIDUELLA FÖRPACKNINGAR, FRÅNSÄGER SIG NEOGEN ALLA UTTRYCKLIGA OCH UNDERFÖRSTÅDDA GARANTIER, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSAT TILL, ALLA GARANTIER BETRÄFFANDE SÄLJBARHET ELLER LÄMPLIGHET FÖR ETT VISST ÄNDAMÅL. Om någon produkt från Neogen Livsmedelshygien är defekt kommer Neogen eller dess auktoriserade leverantör att efter eget gottfinnande ersätta produkten eller återbetala produktens inköpspris. Detta är den enda ersättning som ges. Kunden måste meddela Neogen och returnera produkten inom sextio dagar efter upptäckt av misstänkt defekt. Kontakta din Neogen-representant eller en godkänd Neogen-distributör om du har fler frågor.

Begränsning av Neogen:s ansvar

NEOGEN KOMMER INTE ATT PÅTA SIG NÅGOT ANSVAR FÖR FÖRLUST ELLER SKADOR, VARE SIG DIREKTA, INDIREKTA, SÄRSKILDA, TILLFÄLLIGA ELLER EFTERFÖLJANDE SKADOR, INKLUSIVE, MEN INTE BEGRÄNSADE TILL, FÖRLORADE VINSTER. Under inga omständigheter ska Neogen:s ansvar i något som helst lagrum överskrida inköpspriset för den påstått defekta produkten.

Förvaring och kassering

Förvara Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* vid 2–8 °C (35–47 °F). Förvara inte i frys. Förvara satsen på en mörk plats. Kontrollera att foliepåsen är oskadad när satsen har öppnats. Använd inte om påsen är skadad. Efter att påsen har öppnats ska oanvända reagensrör alltid förvaras i den återförslutningsbara påsen med torkmedlet inuti för att bevara de frystorkade reagensernas stabilitet. Förvara återförslutna påsar vid 2–8 °C (35–47 °F) i högst 90 dagar.

Använd inte Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* efter utgångsdatumet. Utgångsdatum och partinummer anges på etiketten på lådans utsida. Efter användning kan anrikningsmedlet och rören till Neogen Molecular Detection Assay 2 -*Campylobacter* eventuellt innehålla patogena material. Följ gällande branschstandarder för kassering av kontaminerat avfall när testen har genomförts. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information och lokala föreskrifter för kassering.

Bruksanvisning

Följ alla anvisningar noggrant. Underlåtenhet att göra detta kan leda till felaktiga resultat.

laboratoriebänkar och utrustning (pipetter, verktyg för att fästa och ta av lock o.s.v.) regelbundet med en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning eller DNA-borttagningslösning.

Användaren måste genomgå utbildningen i driftkvalifikation (OQ) för Neogen Molekylärt Detektionssystem, enligt beskrivningen i dokumentet ”Protokoll för installationskvalifikation (IQ)/driftkvalifikation (OQ) och anvisningar för Neogen Molekylärt Detektionssystem”[6].

Beredning av medium

Bered Neogen® *Campylobacter* Enrichment Broth (CE250) enligt dess produktinformation. **Autoklavera inte medium före användning.** Använd det beredda mediet inom 24 timmar efter beredningen. Förvara beredd buljong vid 2–8 °C[7], skyddad mot ljus om den inte kommer att användas omedelbart efter beredningen. Säkerställ att mediets temperatur är 20–30 °C innan användning.

Provinsamling

Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth ska inte användas för sköljning av fåglar eller transportmedium. Samla in och transportera prover enligt dina etablerade provinsamlingsprocedurer.

Provanrikning

I tabell 2 visas en vägledning till allmänna anrikningsprotokoll för livsmedels- och miljöprover.

Användaren ansvarar för att validera alternativa provtagningsprotokoll eller spädningsförhållanden för att säkerställa att testmetoden uppfyller användarens kriterier.

Provberedning

a. Sköljning av kadaver och sköljningar av råa fjäderfädelar

1. Skölj en urtagen rå fjäderfäkropp med 400 ml buffrat peptonvatten (BPW) i en minut. Vid sköljning av råa fjäderfädelar sköljs 1,8 till 2 kg (4 lb ± 10 %) av fjäderfädelarna med 400 ml av BPW[1,8].
2. För kadaver och råa fjäderfädelar ska du låta överskottsvätska droppa av innan provet sköljs för att undvika överföring av överskottsbehandlingsvätska till provpåsen[8].
3. För fjäderfä som har behandlats med Cetylpyridiniumklorid (CPC) är det nödvändigt att tillsätta 5 ml per liter polysorbat 80 (IUPAC: Polyoxietylen (20) sorbitanmonooleat; CAS 9005-65-6) till beredd Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Polysorbat 80 kan tillsättas till vatten före sterilisering för att underlätta upplösning eller tillsättas till sterilt vatten före beredning av Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.
4. Överför aseptiskt 30 ml sköljvatten till en steril påse och tillsätt 30 ml Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

b. Svamp för kadaver

1. Svampar bör hydreras med upp till 25 ml BPW innan provet tas[1]. Om proverna transporteras ska påsen vara nedrullad och hållas vid 2–8 °C.
2. Svabba fjäderfäkadavret eller samla in prov med svampen.
3. Placera svabben i en steril påse och tillsätt 25 ml Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Se till att svabben eller svampen är täckt av anrikningsmediet.

c. Råa fjäderfädelar

1. Väg aseptiskt 325 ± 32,5 g prov och placera i en steril påse. Lägg till 1 625 ± 32,5 ml BPW till de råa fjäderfädelarna. Blanda ordentligt genom handmassage en kort stund för att skingra klumpar.
2. Tillsätt 30 ml av den råa fjäderfäproduktblandningen till en steril påse och tillsätt 30 ml Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth och blanda ordentligt.

d. Rått kött och kött som är redo att ätas

1. Väg aseptiskt 25 g prov och placera i en steril påse. En filterpåse rekommenderas för att underlätta provtagningen.
2. Tillsätt 225 ml av Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.
3. Massera för hand för att bryta upp klumpar och undvik att bubblor uppstår vid mixningen. Bearbeta inte påsen genom stomachering eller blandning.

e. Skosvabbar för primärproduktion

1. Samla in prov med hjälp av skosvabbar eller strumpor i enlighet med dina etablerade provinsamlingsprocedurer.
2. Placera EN strumpa i en steril påse och tillsätt 100 ml Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

f. Dragsvabb

1. Samla prov med förfuktad insamlingsenhet enligt dina etablerade provinsamlingsprocedurer.
2. Placera svabben i en steril påse och tillsätt 100 ml Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

Inkubering av anrikning

1. Rulla ner påsen för att minimera huvudutrymmet och förhindra att exponera anrikningen luften. Massera påsen försiktigt under ca 10 ± 2 sekunder. **Bearbeta inte påsen genom stomachering eller blandning och undvik att bubblor vid mixningen.**
2. Inkubera påsen aerobt vid 41,5 ± 1 °C, se tabell 2 för lämplig inkubationstid.

VARNING: Om du väljer att använda neutraliseringsbuffert som innehåller arylsuffonatkomplex som hydrerande lösning för svampen måste man ha en 1:2-spädning (1 del prov i 1 del steril anrikningsbuljong) för anrikningsmiljöprovet innan det testas för att minska riskerna som förknippas med ett falskt negativt resultat som leder till utsläpp av kontaminerad produkt. Ett annat alternativ är att föra över 10 µl av neutraliserande buffertanrikning i Neogen Lyseringslösningsrör.

Användaren ansvarar för att validera alternativa provtagningsprotokoll eller spädningsförhållanden för att säkerställa att testmetoden uppfyller användarens kriterier.

Tabell 2. Allmänna anrikningsprotokoll.

Provmatris	Provstorlek	Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth (ml)[(b)]	Anrikningstemperatur (± 1 °C)	Anrikningstid (tim)	Volym provanalys (µl)[(c)]
• Sköljning av kadaver[(a)] • Sköljning av fjäderfädel[(a)]	30 ml sköljvatten i BPW	30	41,5	22-26	20
• Svamp för kadaver[(a)]	1 svamp förfuktad med upp till 25 ml av BPW	25	41,5	22-26	20
• Rått kött • Kött som är redo att ätas	25 g	225	41,5	24-28	20
• Skosvabb från primärproduktionen	1 skosvabb	100	41,5	22-26	20
• Dragsvabb från primärproduktionen	1 förfuktad enhet	100	41,5	22-26	20

(a) Om fjäderfän behandlas med cetylpyridiniumklorid (CPC) måste 5 ml per liter tillsättas av (polysorbat 80; IUPAC: Polyoxietylen (20) sorbitan monooleat; CAS 9005-65-6) till beredd Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Polysorbat 80 kan tillsättas till vatten före sterilisering eller tillsättas till sterilt vatten före beredning av Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

(b) Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth ska användas inom 24 timmar efter beredning. Mediet bör ha omgivningstemperatur (25–30 °C) före användning.

(c) Innan du samlar in anrikningsprov för analys ska du försiktigt massera botten på påsen. **Efter insamling av provet ska påsen rullas ned för att förhindra att anrikningen exponeras mot luft.** Ytterligare prov kan krävas för omprövning eller bekräftande steg.

Specifika anvisningar för validerade metoder

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) certifikat #111803

I AOAC Research Institute PTM℠ studier, Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* en effektiv metod för att upptäcka *campylobacter*. Matriserna som testades i studien visas i tabell 3.

Tabell 3. Anrikningsprotokoll enligt AOAC PTM℠ certifikat #111803.

Provmatris	Provstorlek	Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth (ml)[c]	Anrikningstemperatur (± 1 °C)	Anrikningstid (tim)	Volym provanalys (µl)[d]
Hela kadavret rensat i 400 ml BPW[a] [b]	30 ml sköljvatten i BPW	30	41,5	22-26	20
Fjäderfädel (1,8 till 2 kg) rensad i 400 ml BPW[a] [b]	30 ml sköljvatten i BPW	30	41,5	22-26	20
Kalkonkadaver svamp[a] [b]	1 svamp förfuktad med upp till 25 ml av BPW	25	41,5	24-26	20
Rå fjäderfäfärs (325 ± 32,5 g) rensad i 1 625 ± 32,5 ml BPW[b]	30 ml produkt-blandning i BPW	30	41,5	24-28	20
Kyckling-nuggets	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Om fjäderfän behandlas med cetylpyridiniumklorid (CPC) måste 5 ml per liter tillsättas av (polysorbat 80; IUPAC: Polyoxietylen (20) sorbitan monooleat; CAS 9005-65-6) till beredd Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth. Polysorbat 80 kan tillsättas till vatten före sterilisering eller tillsättas till sterilt vatten före beredning av Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth.

(b) Alternativt kan denna matris anrikas med 30 ml 2X blodfri Bolton Enrichment Broth (BF-BEB) i 48 ± 2 h vid 42 ± 1,0 °C under mikroaeroba förhållanden. Överför 20 µl prov till Neogen Lyseringslösning.

(c) Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth ska användas inom 24 timmar efter beredning. Mediet bör ha omgivningstemperatur (25–30 °C) före användning.

(d) Innan du samlar in anrikningsprov för analys ska du försiktigt massera botten på påsen. **Efter insamling av provet ska påsen rullas ned för att förhindra att anrikningen exponeras mot luft.** Ytterligare prov kan krävas för omprövning eller bekräftande steg.

Förberedelse av Neogen® Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda

1. Fukta en trasa eller en engångshandduk med 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning för hushållsanvändning och torka av Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda.
2. Skölj Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda med vatten.
3. Torka av Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda med en pappershandduk.
4. Säkerställ att Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda är torr innan den används.

Förberedning av Neogen® Molekylär Detektion, Insats för kylblock

Placera Neogen Molekylär Detektion, Insats för kylblock direkt på laboratoriebänken: Neogen Molekylär Detektion, Kylblockslåda används inte. Använd blocket i laboratoriets omgivningstemperatur (20–25 °C).

Förberedelse av Neogen® Molekylär Detektion, Insats för värmeblock

Lägg Neogen Molekylär Detektion, Insats för värmeblock i en torr dubbelblocksvärmare. Aktivera den torra blockvärmaren och ställ in temperaturen så att Neogen Molekylär Detektion, Insats för Värmeblock tillåts uppnå och bibehålla en temperatur på 100 ± 1 °C.

OBSERVERA: Beroende på värmaren tar det cirka 30 minuter för Neogen Molekylär Detektion, Insats för värmeblock att uppnå rätt temperatur. Använd en lämplig, kalibrerad termometer (t.ex. en termometer för delvis nedsänkning eller en digital värmeelementstermometer, inte en termometer för fullständig nedsänkning) placerad på den avsedda platsen och kontrollera att Neogen Molekylär Detektion, Insats för värmeblock har en temperatur på 100 ± 1 °C.

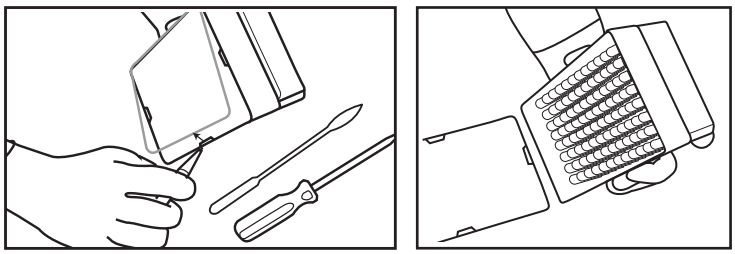
Beredning av Neogen® Molekylärt Detektionsinstrument

1. Öppna Neogen® Molekylär detektionsprogramvara och logga in. Kontakta din Neogen-representant för livsmedelssäkerhet för att säkerställa att du har den senaste versionen av programvaran.
2. Aktivera Neogen Molekylärt Detektionsinstrument.
3. Skapa eller redigera en datakörning för varje prov. Se användarhandboken till Neogen Molekylärt Detektionssystem för detaljerad information.

OBSERVERA: Neogen Molekylärt Detektionsinstrument måste försättas i redotillstånd innan Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda med reagensrör förs in. Detta uppvärmningssteg tar cirka 20 minuter och indikeras av en ORANGE lampa i instrumentets statusfält. När instrumentet är redo att starta en körning blir statusfältet GRÖNT.

Lysering

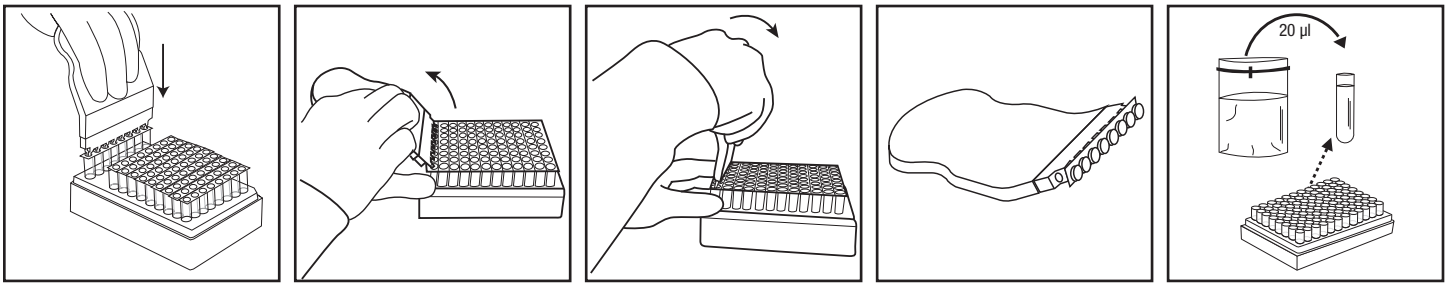
Avlägsna nedre delen av Neogen Provrörsställ för lyseringslösning med en skruvmejsel innan du placerar det i Neogen Molekylär Detektion, Insats för värmeblock.



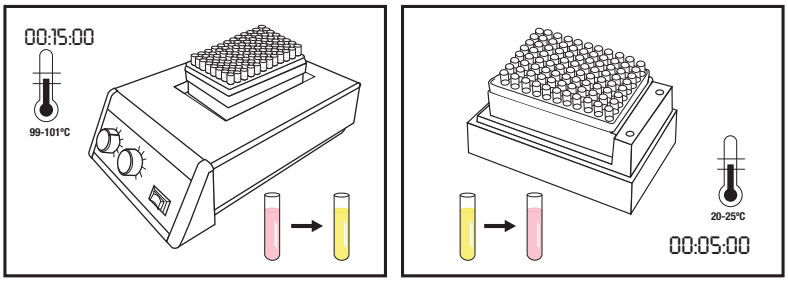
1. Låt Neogen Lyseringslösningsrör värmas upp genom att placera stället i rumstemperatur (20–25 °C) över natten (16–18 timmar). Alternativa metoder för att värma Neogen Lyseringslösningsrören till rumstemperatur är att ställa Neogen Lyseringslösningsrören på laboratoriebänken i minst 2 timmar, inkubera Neogen Lyseringslösningsrören vid 37 ± 1 °C i 1 timme eller placera dem i en torr dubbelblockvärmare i 30 sekunder vid 100 °C.
2. Invertera de lockförsedda rören för att blanda. Fortsätt till nästa steg inom 4 timmar efter invertering.
3. **Ta ut det anrikade provet från inkubatorn.**
   3.1.1 Massera försiktigt botten av anrikningspåsen innan du överför provet till Neogen Lyseringslösningsrör.
   3.1.2 Ytterligare prov kan krävas för omprövning eller bekräftande steg. Efter uppsamling av provet: Rulla ner påsen för att minimera huvudutrymmet och förhindra att exponera anrikningen luften. Om en bekräftelse av presumtiva resultat är nödvändig ska du fortsätta med bekräftande steg så snart som det presumtiva resultatet erhållits.
4. Ett Neogen Lyseringslösningsrör krävs för varje prov och NC-prov (sterilt anrikningsmedel).
   4.1 Remsor med Neogen Lyseringslösningsrör kan klippas för önskat antal rör. Välj antalet enskilda rör eller remsor om 8 rör som behövs. Placera Neogen Lyseringslösningsrören i ett tomt ställ.
   4.2 Undvik korskontaminering genom att öppna ett lock på en remsa med Neogen Lyseringslösningsrör i taget och använd en ny pipettspets vid varje överföringssteg.
   4.3 För över det anrikade provet till Neogen Lyseringslösningsrören enligt beskrivningen nedan:

   För över varje anrikat prov till ett enskilt Neogen Lyseringslösningsrör **först.** Överför NC **sist.**

   4.4 Använd Neogen® Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap - Lysering för att öppna en remsa med Neogen Lyseringslösningsrör, en remsa i taget.
   4.5 Kassera locket till Neogen Lyseringslösningsröret - om lysatet ska behållas för omprov ska locken placeras i en ren behållare för återanvändning efter lysering.
   4.5.1 Se bilaga A för information om behandling av förvarat lysat.
   4.6 Överför av 20 µl prov till ett Neogen Lyseringslösningsrör.
5. Upprepa efter behov steg 4.4 till 4.6 för det antal prover som ska testas.



6. När alla prover har överförts ska 20 µl NC (sterilt anrikningsmedel, t.ex. buffrat peptonvatten) överföras till ett Neogen Lyseringslösningsrör. Använd inte vatten som NC.
7. Kontrollera att temperaturen på Neogen Molekylär Detektion, Insats för värmeblock är 100 ± 1 °C.
8. Placera det oövertäckta stället med Neogen Lyseringslösningsrör i Neogen Molekylär Detektion, Insats för värmeblock och värm i 15 ± 1 minuter. Under uppvärmningen kommer Neogen Lyseringslösningen att ändra färg från rosa (kall) till gul (varm).
   8.1 Prover som inte har värmebehandlats korrekt under analysens lyseringssteg bör betraktas som en potentiell biologisk fara och ska INTE föras in i Neogen Molekylärt Detektionsinstrument.
9. Ta ut det oövertäckta stället med Neogen Lyseringslösningsrör från Neogen Molekylär Detektion, Värmeblock och låt det svalna i Neogen Molekylär Detektion, Insats för kylblock under minst 5 minuter men högst 10 minuter. Neogen Molekylär Detektion, Insats för kylblock som används vid omgivningstemperatur utan Neogen® Molekylär Detektion, Kylblockslåda ska placeras direkt på laboratoriebänken. När Neogen Lyseringslösningen svalnar återgår dess färg till rosa.
10. Ta ut stället med Neogen Lyseringslösningsrör från Neogen Molekylär Detektion, Insats för kylblock.



Amplifiering

1. Ett Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör krävs för varje prov och för NC-provet.
   1.1 Remsorna med rör kan klippas till önskat antal rör. Välj antalet enskilda Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör eller remsor om 8 rör som behövs.
   1.2 Placera rören i ett tomt ställ.
   1.3 Undvik att röra upp reagenspelletsarna i provrörens botten.
2. Välj ett rör för Neogen Reagenskontroll och placera det i stället.
3. Undvik korskontaminering genom att öppna ett lock på en remsa med Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör i taget och använd en ny pipettspets vid varje överföringssteg.
4. För över varje lysat till ett Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör och ett rör för Neogen Reagenskontroll enligt beskrivningen nedan:

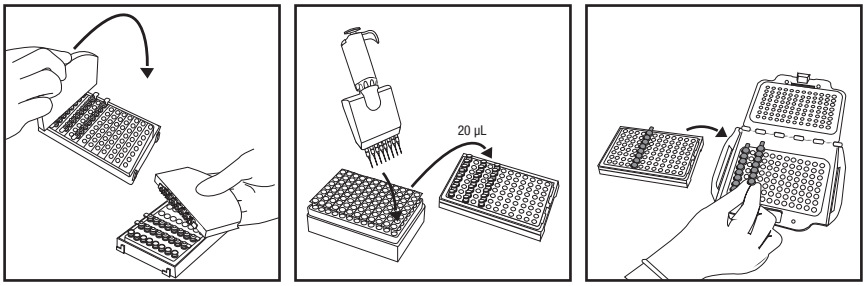
Överför varje provlysat till enskilda Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör **först,** följt av NC. Hydrera rör för Neogen Reagenskontroll **sist.**

5. Använd Neogen® Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap - Reagens för att öppna Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör - en rörremsa i taget. Kassera locket.
   5.1 **För över 20 µl av provlysat från den övre ½ av vätskan (undvik utfällning) i Neogen Lyseringslösningsröret till motsvarande Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör. Dispensera i en vinkel för att undvika att pelletsarna rörs upp. Blanda genom att pipettera upp och ned 5 gånger.**
   5.2 Upprepa steg 5.1 tills enskilda provlysat har lagts till i ett motsvarande Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör i remsan.
   5.3 Täck Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör med medföljande extralock och använd den rundade sidan av Neogen Molekylär Detektion, Cap/Decap Redskap - Reagens och pressa fram och tillbaka för att stänga locket ordentligt.
   5.4 Upprepa efter behov steg 5.1 till 5.3 för det antal prover som ska testas.

5.5 När alla provlysat har överförts upprepar du 5.1 till 5.3 för att föra över 20 µl NC-lysat i ett Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagensrör.

5.6 För över **20 µl av NC-lysat i ett rör för Neogen Reagenskontroll**. Dispensera i en vinkel för att undvika att pelletsarna rörs upp. Blanda genom att pipettera upp och ned 5 gånger.

6. Ladda de förslutna provrören i en ren och dekontaminerad Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda. Stäng och lås locket på Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda.



7. Granska och bekräfta den konfigurerade körningen i Neogen Molekylär detektionsprogramvara.
8. Klicka på startknappen i programmet och välj vilket instrument som ska användas. Det valda instrumentets lock öppnas automatiskt.
9. Placera Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda i Neogen Molekylärt Detektionsinstrument och stäng locket för att starta analysen. Resultaten ges inom 60 minuter, men positiva resultat kan detekteras tidigare.
10. Ta ut Neogen Molekylär Detektion, Snabbladdningslåda från Neogen Molekylärt Detektionsinstrument när analysen har slutförts och kassera rören genom att blötlägga dem i en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning för hushållsanvändning i 1 timme på avstånd från analysberedningsområdet.

OBSERVERA: För att minimera risken för falskt positiva resultat på grund av korskontaminering ska reagensprovrör med amplifierad DNA aldrig öppnas. Detta inkluderar rör för Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* reagens, Neogen Reagenskontroll och Neogen Matriskontroll. Kassera alltid förseglade reagensrör genom blötläggning i en 1–5 % (volym i vatten) blekmedelslösning i 1 timme och på avstånd från platsen där analysen förbereds.

Resultat och tolkning

En algoritm tolkar ljusutstrålningskurvan som genereras genom detektion av nukleinsyraamplifiering. Resultaten analyseras automatiskt av programmet och färgkodas baserat på resultatet. Ett positivt eller negativt resultat fastställs genom analys av ett antal unika kurvparametrar. Presumtivt positiva resultat rapporteras i realtid medan resultat som är negativa och sådana som är märkta Inspektera visas när körningen har slutförts.

Presumtivt positiva resultat bör bekräftas enligt laboratoriets standardrutiner eller genom att följa lämplig bekräftelse från referensmetoden[1,2], med början med överföringen från den primära Neogen *Campylobacter* Enrichment Broth-anrikningen till selektiva *Campylobacter*-plattor med mikroaerofil inkubation, åtföljt av bekräftelse av isolater med hjälp av lämpliga biokemiska, mikroskopiska och serologiska metoder. För bästa möjliga underhåll av anrikningen ska du rulla ner anrikningspåsen efter insamling av ett prov.

OBSERVERA: Inte ens ett negativt prov kommer att ge ett nollresultat eftersom systemet och amplifieringsreagenserna i Neogen Molecular Detection Assay 2 - *Campylobacter* innehåller en tidigare RLU-avläsning.

Skulle ovanlig ljusutstrålning förekomma, vilket är sällsynt, märker algoritmen detta med Inspektera. Neogen rekommenderar att användaren upprepar analysen av prover som resulterar i Inspektera. Om resultatet fortsätter att vara Inspektera ska du gå vidare till testbekräftelse med den metod du föredrar eller så som anges i lokala föreskrifter[1,2].

Bilaga A. Protokollavbrott: Förvaring och omprovning av värmebehandlade lysater

1. Återförslut Neogen Lyseringslösningsröret med ett rent lock (se avsnittet Lysering, 4.5) för att förvara ett värmebehandlat lysat
2. Förvara vid 2 till 8 °C i upp till 72 timmar.
3. Förbered ett förvarat prov för amplifiering genom att vända det upp och ned 2–3 gånger så att det blandas.
4. Avlägsna locken från rören.
5. Placera de blandade lysatrören i Neogen Molekylär Detektion, Insats för värmeblock och värm vid 100 ± 1 °C i 5 ± 1 minuter.
6. Ta ut stället med Neogen Lyseringslösningsrör från Neogen Molekylär Detektion, Värmeblock och låt det svalna i Neogen Molekylär Detektion, Insats för kylblock under minst 5 minuter men högst 10 minuter.
7. Fortsätt enligt protokollet i avsnittet **Amplifiering** som beskrivs ovan.

Referenser:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Kontakta din representat på Neogen Food Safety för att erhålla ett exemplar av detta dokument.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Symbolförklaringar

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Produktvejledning

Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*

Produktbeskrivelse og tilsigtet anvendelse

Neogen® Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* bruges sammen med Neogen® Molekylær Detektions System til hurtig og præcis detektering af *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* og *Campylobacter coli* i opformerede fødevareprøver og fødevaremiljøprøver.

Neogen Molekylær Detektions Analyse bruger loop-medieret, isotermisk amplifikation til hurtigt at forstærke nukleinsyresekvenser med høj specificitet og følsomhed kombineret med bioluminescens for at afsløre amplifikationen. Formodede positive resultater bliver rapporteret i realtid, mens negative resultater bliver vist, når analysen er gennemført. Formodede positive resultater bør verificeres ved hjælp af din foretrukne metode eller som angivet i de lokale vedtægter [1,2].

Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* er beregnet til brug i laboratorieomgivelser af professionelle, der er uddannet i laboratorieteknikker. Neogen har ikke dokumenteret brugen af dette produkt i andre brancher end føde- og drikkevarer. For eksempel har Neogen ikke dokumenteret dette produkt til test af medicinalvarer, kosmetiske, kliniske eller veterinære prøver. Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* er ikke blevet evalueret med alle mulige fødevarer, forarbejdningsprocesser, testprotokoller eller med alle mulige bakteriestammer.

Som for alle testmetoder kan kilden, sammensætningen og kvaliteten af opformeringsmediet påvirke resultatet. Faktorer såsom prøvetagningsmetoder, testprotokoller, klargørelse af prøver, håndtering samt laboratorieteknik kan ligeledes påvirke resultaterne. Neogen anbefaler evaluering af metoden inklusive opformeringsmediet i brugerens omgivelser ved hjælp af et tilstrækkeligt antal prøver med specifikke fødevarer og mikrobielle udfordringer for at sikre, at metoden opfylder brugerens kriterium.

Neogen har vurderet Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* med Neogen® *Campylobacter* Opformerings Bouillon.

Neogen® Molekylær Detektions Instrument er beregnet til brug sammen med prøver, der har gennemgået varmebehandling under analysens lysinbehandlingstrin, som er designet til at destruere organismer, der optræder i prøven. Prøver, som ikke er blevet korrekt varmebehandlet under analysens lysinbehandlingstrin, kan udgøre en væsentlig miljørisiko og bør IKKE sættes ind i Neogen Molekylær Detektions Instrument.

Neogen Food Safety er ISO 9001-certificeret (International Organisation for Standardisering) med hensyn til design og produktion.

Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* testkittet indeholder 96 tests, beskrevet i tabel 1.

Tabel 1. Komponenter i Neogen Molekylær Detektions Analyse analysesæt

Artikel	Identifikation	Kvantitet	Indholdsfortegnelse	Kommentarer
Neogen® Lysinopløsning (LS)	Lyserød opløsning i klare reagensglas	96 (12 strimler med 8 reagensglas)	580 µl LS pr. reagensglas	På holder og klar til brug
Neogen® Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* reagensglas	Lilla reagensglas	96 (3 poser, indeholdende 4 strimler med 8 reagensglas)	Frysetørret, specifik amplifikations- og detektionsblanding	Klar til brug
Ekstra hætter	Lilla hætter	96 (12 strimler med 8 hætter)		Klar til brug
Neogen® Reagens Kontrol (RC)	Klare reagensglas med flip-top	16 (2 poser med 8 individuelle reagensglas)	Frysetørret kontrol-DNA, amplifikations- og detektionsblanding	Klar til brug

Den negative kontrol (NC), som ikke medfølger i kittet, er et sterilt opformeringsmedie, f.eks. Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon. Brug ikke vand som en NC.

En kvik-start guide kan findes på www.neogen.com

Sikkerhed

Brugeren skal læse, være indforstået med og følge alle sikkerhedsoplysninger i vejledningen til Neogen Molekylær Detektions System og Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*. Gem sikkerhedsvejledningen til fremtidig reference.

⚠ **ADVARSEL:** Indikerer en farlig situation, som kan resultere i dødsfald eller alvorlig personskade og/eller skade på ejendele, hvis den ikke undgås.

BEMÆRK: Indikerer en potentielt farlig situation, som udgør en risiko for beskadigelse af ejendom, hvis den ikke undgås.

⚠ ADVARSEL

Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* må ikke anvendes til diagnosticering af sygdomme på mennesker eller dyr.

Brugeren skal uddanne sit personale i aktuelle korrekte prøveteknikker: for eksempel god laboratoriepraksis[3], ISO/IEC 17025[4] eller ISO 7218[5].

For at reducere risiciene forbundet med et falsk-negativt resultat, der fører til frigørelse af kontaminerede produkter:

- Følg protokollen, og udfør tests præcis som angivet i produktvejledningen.
- Opbevar Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* som angivet på pakken og i produktvejledningen.
- Anvend altid Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* inden udløbsdatoen.
- Forbered Neogen® *Campylobacter* Opformerings Bouillon som beskrevet i produktvejledningen.
- Udfør ikke autoklavering af Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon.
- Anvend Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* til fødevare- og miljøprøver der er blevet godkendt internt eller af tredjepart.
- Anvend udelukkende Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* med overflader, desinfektionsmidler, protokoller og bakteriestammer, der er blevet evalueret internt eller af tredjepart.
- For at lave en miljøprøve, der indeholder neutraliserende buffer med arylsulfonatkompleks, foretages fortynding 1:2 inden testning (1 del prøve til 1 del steril opformeringsbouillon). En anden mulighed er at overføre 10 µl af den neutraliserende opformeringsbuffer til Neogen lysinbehandlingsreagensglassene. Neogen®-produkter til prøvehåndtering, som inkluderer neutraliserende buffer med arylsulfonatkompleks: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G og HS2410NB2G.

For at reducere risiciene forbundet med eksponering med kemikalier og biologiske farer:

- Foretag patogentestning i et korrekt udstyret laboratorium under uddannet personales kontrol. Inkuberet opformeringsmedie og udstyr eller overflader, der har været i kontakt med inkuberet opformeringsmedie, kan indeholde patogenniveauer, der er tilstrækkelige til at udgøre en risiko for menneskelig sundhed.
- Følg altid sikkerhedspraksis for et standardlaboratorium, inklusive brug af passende beskyttelsesudstyr og beskyttelsesbriller under håndtering af reagenser og kontaminerede prøver.
- Undgå kontakt med indholdet af opformeringsmediet og reagensglas efter amplifikationen.
- Bortskaf opformerede prøver i overensstemmelse med aktuelle lokale/regionale/nationale lovbestemte standarder.
- Prøver, som ikke er blevet korrekt varmebehandlet under analysens lysinbehandlingstrin, kan udgøre en væsentlig miljørisiko og bør IKKE sættes ind i Neogen Molekylær Detektions Instrument.

Overhold følgende forholdsregler for at reducere risiciene i forbindelse med krydskontaminering under klargøring af analysen:

- Brug altid handsker (for at beskytte brugeren og undgå introduktion af nukleaser).

For at reducere risici forbundet med eksponering med varme væsker:

- Overskrid ikke den anbefalede temperaturindstilling på varmeelementet.
- Overskrid ikke den anbefalede opvarmningstid.
- Brug et passende, kalibreret termometer til at verificere temperaturen for Neogen® Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg (f.eks. et termometer til delvis nedsænkning eller et digitalt termoelementtermometer, ikke et termometer til hel nedsænkning). Termometeret skal anbringes på det dertil indrettede sted i Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg.

BEMÆRK

Overhold følgende forholdsregler for at reducere risiciene i forbindelse med krydskontaminering under klargøring af analysen:

- Skift handsker før reagenskuglehydrering.
- Der anbefales brug af sterile, aerosol-barriere (filtrerede), molekylærbiologiske pipettespidser.

- Brug en ny pipettespids til hver prøveoverførsel.
- Anvend god laboratoriepraksis til overførsel af prøven fra opformeringsglasset til lysinreagensglasset. For at undgå kontaminering af pipetterne kan brugeren vælge at tilføje et mellemliggende overførselstrin. For eksempel kan brugeren overføre hver enkel opformerede prøve til et sterilt reagensglas.
- Anvend om muligt en molekylærbiologisk arbejdsstation, der inkluderer en bakteriedræbende lampe.
- Dekontaminer med jævne mellemrum laboratoriets arbejdsborde og udstyr (pipetter, luknings-/åbningsredskaber osv.) med en 1-5 % (v:v i vand) husholdningsklorinopløsning eller DNA-renseopløsning.

For at reducere risiciene i forbindelse med et falsk-positivt resultat:

- Reagensglas må aldrig åbnes efter amplifikation.
- Før bortskaffelse af de kontaminerede reagensglas skal de altid iblødlægges i en 1-5 % (v:v i vand) husholdningsklorinopløsning i 1 time og holdes væk fra området for analyseforberedelse.
- Reagensglas må aldrig autoklaveres efter amplifikation.

Se sikkerhedsdatabladet for yderligere oplysninger og lokale vedtægter for bortskaffelse.

Hvis du har spørgsmål til specifikke anvendelser eller procedurer, bedes du besøge vores websted på www.neogen.com eller kontakte din lokale Neogen-repræsentant eller -distributør.

Brugerens ansvar

Brugeren er ansvarlig for at gøre sig bekendt med produktvejledninger og -oplysninger. Besøg vores hjemmeside på **www.neogen.com**, eller kontakt din lokale Neogen-repræsentant eller -distributør for at få yderligere oplysninger.

Når der vælges en testmetode, er det vigtigt, at man er klar over, at eksterne faktorer, såsom prøveudtagningsmetoder, testprotokoller, klargøring af prøven, håndtering, laboratorieteknikker samt selve prøven kan påvirke resultaterne.

Det er brugerens eget ansvar at vælge en testmetode, som evaluerer et tilstrækkeligt antal prøver med de passende matricer og mikrobielle udfordringer for derved at sikre brugeren, at den valgte testmetode lever op til brugerens krav.

Det er også brugerens eget ansvar at kontrollere, at alle testmetoder og resultater lever op til kundernes og leverandørernes krav.

Som med alle andre testmetoder gælder det, at de resultater, der opnås med dette Neogen Food Safety-produkt, ikke giver garanti for kvaliteten af de testede matricer og processer.

For at hjælpe kunder med at evaluere metoden til flere forskellige fødevarematricer har Neogen udviklet Neogen® Molekylær Detektions Matrix Kontrol-kit. Efter behov kan Neogen Molekylær Detektions Matrix Kontrol (MC) anvendes til at afgøre om matricen har evnen til at påvirke resultaterne af Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*. Test flere forskellige repræsentative prøver fra matricen, dvs. prøver hentet fra forskellige kilder, fra enhver valideringsperiode under anvendelse af Neogen-metoden eller under testning af nye eller ukendte matricer eller matricer, der har gennemgået ændringer i råmaterialet eller i processen.

En matrice kan defineres som en produkttype med iboende egenskaber såsom sammensætning og proces. Forskelle mellem matricer kan være så simple som effekterne forårsaget af forskelle i deres bearbejdning eller præsentation, f.eks. rå vs. pasteuriseret, frisk vs. tørret osv.

Begrænsning af garantier/begrænset retsmiddel

BORTSET FRA HVAD DER ER UDTRYKKELIGT ANFØRT I DEN BEGRÆNSEDE GARANTI PÅ DEN INDIVIDUELLE PRODUKTEMBALLAGE, FRASIGER NEOGEN SIG ALLE UDTRYKKELIGE OG UNDERFORSTÅEDE GARANTIER, HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL, ENHVER SALGBARHEDSGARANTI ELLER EGNETHED TIL EN BESTEMT ANVENDELSE. Hvis et Neogen Food Safety-produkt er behæftet med fejl eller mangler, vil Neogen eller en af dennes autoriserede distributører efter dennes eget skøn erstatte produktet eller refundere købsprisen. Dette er det eneste til rådighed værende retsmiddel. Du skal straks, inden for 60 dage efter at have opdaget enhver formodet fejl ved et produkt, meddele Neogen dette og returnere produktet til Neogen. Kontakt venligst din Neogen-repræsentant eller autoriserede Neogen-distributør for yderligere spørgsmål.

Begrænsning af Neogen's ansvar

NEOGEN KAN IKKE HOLDES ANSVARLIG FOR NOGEN TAB ELLER SKADER, UANSET OM DET DREJER SIG OM DIREKTE, INDIREKTE, SÆRSKILT DOKUMENTEREDE, HÆNDELIGE SKADER ELLER FØLGESKADER, HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL MISTET FORTJENESTE. Under ingen omstændigheder skal Neogen's erstatningsansvar kunne overstige købsprisen for det produkt, der efter sigende er behæftet med fejl.

Opbevaring og bortskaffelse

Opbevar Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* ved 2-8°C (35-47°F). Undlad frysning. Opbevar kittet på et mørkt sted. Efter åbning skal det kontrolleres, at folieposen er intakt. Hvis posen er beskadiget, må produktet ikke anvendes. Efter åbning bør ubenyttede reagensglas altid opbevares i den genlukkelige pose med tørremidlet indeni for at opretholde de frysetørrede reagensers stabilitet. Opbevar de forseglede poser ved temperaturer ved 2-8°C (35-47°F) i højst 90 dage.

Anvend ikke Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* efter udløbsdatoen. Udløbsdato og varepartinummer findes på æskens udvendige mærkat. Efter brug kan det berigede medie og Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* reagensglas muligvis indeholde sygdomsfremkaldende materialer. Når testning er fuldført, bedes du følge de gældende branchestandarder for bortskaffelse af kontamineret affald. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere oplysninger og lokale vedtægter for bortskaffelse.

Brugsanvisning

Følg omhyggeligt alle vejledninger. Hvis dette ikke overholdes, kan det medføre unøjagtige resultater.

Dekontaminer med jævne mellemrum laboratoriets arbejdsborde og udstyr (pipetter, luknings-/åbningsredskaber osv.) med en 1-5 % (v:v i vand) husholdningsklorinopløsning eller DNA-renseopløsning.

Brugeren skal fuldføre undervisningen til Neogen Molekylær Detektions System brugerkvalifikation (OQ) som beskrevet i dokumentet "Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System"[6].

Medieforberedelse

Forbered Neogen® *Campylobacter* Opformerings Bouillon (CE250) som beskrevet i produktvejledningen. **Mediet må ikke autoklaveres før anvendelse.** Anvend forberedt medie indenfor 24 timer efter forberedelsen. Opbevar forberedt bouillon ved 2-8°C[7] og beskyttet mod lys, hvis den ikke skal anvendes umiddelbart efter forberedelsen. Sørg for, at mediet har en temperatur på 20-30°C før brug.

Prøveindsamling

Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon må ikke anvendes til fjerkræskylning eller som transportmedie. Udfør indsamling og transport i overensstemmelse med jeres fastlagte prøvetagningsprocedurer.

Prøveopformering

Tabel 2 viser retningslinjer for generelle opformeringsprotokoller for fødevare- og miljøprøver.

Det er brugerens ansvar at evaluere alternative prøveprotokoller eller blandingsforhold for at sikre, at denne testmetode imødekommer brugerens kriterier.

Prøveforberedelse

a. Skylning af slagtekroppe og rå fjerkrædele

1. Skyl en opskåret rå fjerkrækrop med 400 ml bufferet peptonvand (BPW) i et minut. Hvis der skylles rå fjerkrædele, skal der skylles 1,8 til 2 kg (4 lb ± 10 %) fjerkrædele med 400 ml BPW[1,8].
2. Ved slagtekroppe og rå fjerkrædele skal du lade overskydende væske dryppe af, før du skyller prøven, for at undgå at overføre overskydende behandlingsvæske til prøveposen[8].
3. Hvis fjerkræet er behandlet med cetylpyridiniumchlorid (CPC), er det nødvendigt at tilsætte 5 ml pr. liter polysorbat 80 (IUPAC: Polyoxyethylen (20) sorbitanmonooleat, CAS 9005-65-6) til den forberedte Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon. Der kan tilsættes Polysorbat 80 til vandet før sterilisering for at lette opløsningen, eller det kan tilsættes direkte til sterilt vand før forberedelse af Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon.
4. Udfør aseptisk overførsel af 30 ml skyllevand til en steril pose, og tilsæt 30 ml Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon.

b. Svamp til slagtekrop

1. Svampe skal fugtes med op til 25 ml BPW, før prøven tages[1]. Hvis prøverne skal transporteres, skal du sikre, at posen er rullet ned og opbevares ved 2-8°C.
2. Tag en prøve af fjerkræ-slagtekroppen med en podepind, eller tag prøven med en svamp.
3. Læg podepinden i en steril pose, og tilsæt 25 ml Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon. Sørg for, at podepinden eller svampen er dækket af opformeringsmediet.

c. Rå fjerkræprodukter

1. Udfør aseptisk vejning af 325 ± 32,5 g prøve, og placér den i en steril pose. Tilsæt 1625 ± 32,5 ml BPW til det rå fjerkræprodukt. Opløs klumperne og bland grundigt ved at massere posen kortvarigt med hænderne.

2. Når den er blandet, tilsættes 30 ml af blandingen med det rå fjerkræprodukt til en steril pose. Tilsæt derefter 30 ml Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon, og bland grundigt.

d. Råt kød og kød, som er klart til at spise

1. Udfør aseptisk vejning af 25 g prøve, og placér den i en steril pose. Det anbefales at bruge en filterpose for at gøre prøvetagningen lettere.
2. Tilsæt 225 ml Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon.
3. Massér med hånden for at opløse klumper, og undgå at lave bobler under blandingen. Behandl ikke posen med slag eller blanding.

e. Støvlesvabere fra primær produktion

1. Udfør prøvetagning med støvlesvabere eller sokker i henhold til fastlagte prøvetagningsprocedurer.
2. Placér EN sok i en steril pose og tilsæt 100 ml Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon.

f. Slæbesvaber

1. Udfør prøvetagning med en svaberanordning som er fugtet på forhånd, efter jeres fastlagte prøvetagningsprocedurer.
2. Placér svaberen i en steril pose og tilsæt 100 ml Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon.

Inkubation af opformering

1. Rul posen ned for at minimere frirum og forhindre, at opformeringen eksponeres med luft. Massér posen forsigtigt i omkring 10 ± 2 sekunder. **Behandl ikke posen med slag eller blanding, og undgå at danne bobler under miksning.**
2. Inkubér posen aerobt ved 41,5 ± 1°C, se tabel 2 for den egnede inkubationstid.

ADVARSEL: Hvis I vælger at bruge neutraliserende buffer med arylsulfonatkompleks til hydreringsopløsningen til svampen, skal der foretages fortynding 1:2 (1 del prøve i 1 del steril opformeringsbouilllon) af den opformerede miljøprøve inden testning for at reducere risiciene forbundet med et falsk-negativt resultat, der fører til frigørelse af kontaminerede produkter. En anden mulighed er at overføre 10 µl af den neutraliserende opformeringsbuffer til Neogen lysinbehandlingsreagensglassene.

Det er brugerens ansvar at evaluere alternative prøveprotokoller eller blandingsforhold for at sikre, at denne testmetode imødekommer brugerens kriterier.

Tabel 2. Generelle opformeringsprotokoller.

Prøvematrice	Prøvestørrelse	Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon (ml)[b]	Opformeringstemperatur (± 1°C)	Opformeringstid (timer)	Prøveanalysevolumen (µl)[c]
• Skylning af slagtekroppe[a] • Skylning af fjerkrædele[a]	30 ml skyllevand i BPW	30	41,5	22-26	20
• Svamp til slagtekrop[a]	1 svamp fugtet med op til 25 ml BPW	25	41,5	22-26	20
• Råt kød • Kød som er klart til at spise	25 g	225	41,5	24-28	20
• Støvlesvabere fra primær produktion	1 støvlesvaber	100	41,5	22-26	20
• Slæbesvaber fra primær produktion	1 anordning som er fugtet på forhånd	100	41,5	22-26	20

(a) Hvis fjerkræ er behandlet med cetylpyridiniumchlorid (CPC), er det nødvendigt at tilføje 5 ml per liter (polysorbat 80 IUPAC: Polyoxyethylen (20) sorbitanmonooleat, CAS 9005-65-6) til den forberedte Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon. Der kan tilsættes Polysorbat 80 til vandet før sterilisering, eller der kan tilsættes sterilt vand før forberedelse af Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon.

(b) Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon skal anvendes indenfor 24 timer fra forberedelsen. Mediet skal have samme temperatur som omgivelserne (25-30°C) før brug.

(c) Massér forsigtigt bunden af posen, før der indsamles opformeringsprøver til analyse. **Efter indsamling af prøven skal posen rulles ned for at undgå, at opformeringen udsættes for luft.** Yderligere prøver kan være nødvendige til gentagelse af prøven eller til bekræftelsestrin.

Specifik vejledning for validerede metoder

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) certifikatnr. 111803



I PTM℠-studier udført af AOAC Research Institute har Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* vist sig at være en effektiv metode til detektion af *Campylobacter*. Matricerne, der er testet i denne undersøgelse, er vist i Tabel 3.

Tabel 3. Opformeringsprotokoller iht. AOAC PTM℠ certifikatnr. 111803.

Prøvematrice	Prøvestørrelse	Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon (ml)[c]	Opformeringstemperatur (± 1°C)	Opformeringstid (timer)	Prøveanalysevolumen (µl)[d]
Hel slagtekrop skyllet i 400 ml BPW[a] [b]	30 ml skyllevand i BPW	30	41,5	22-26	20
Fjerkrædel (1,8 til 2 kg) skyllet i 400 ml BPW[a] [b]	30 ml skyllevand i BPW	30	41,5	22-26	20
Svamp til kalkunslagtekrop[a] [b]	1 svamp fugtet med op til 25 ml BPW	25	41,5	24-26	20
Råt, hakket fjerkræ (325 ± 32,5 g) skyllet i 1625 ± 32,5 ml BPW[b]	30 ml produktblanding i BPW	30	41,5	24-28	20
Kyllingenuggets	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Hvis fjerkræ er behandlet med cetylpyridiniumchlorid (CPC), er det nødvendigt at tilføje 5 ml per liter (polysorbat 80 IUPAC: Polyoxyethylen (20) sorbitanmonooleat, CAS 9005-65-6) til den forberedte Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon. Der kan tilsættes Polysorbat 80 til vandet før sterilisering, eller der kan tilsættes sterilt vand før forberedelse af Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon.

(b) Alternativt kan denne matrice opformeres med 30 ml 2X Bolton Enrichment Broth (BF-BEB) uden blod i 48 ± 2 t ved 42 ± 1,0°C under mikroaerobe forhold. Overfør 20 µl prøve til en Neogen Lysinopløsning.

(c) Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon skal anvendes indenfor 24 timer fra forberedelsen. Mediet skal have samme temperatur som omgivelserne (25-30°C) før brug.

(d) Massér forsigtigt bunden af posen, før der indsamles opformeringsprøver til analyse. **Efter indsamling af prøven skal posen rulles ned for at undgå, at opformeringen udsættes for luft.** Yderligere prøver kan være nødvendige til gentagelse af prøven eller til bekræftelsestrin.

Forberedelse af Neogen® Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning

1. Fugt en klud eller et engangshåndklæde med en 1-5 % (v: v i vand) husholdningsklorinopløsning, og aftør Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning.
2. Skyl Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning med vand.
3. Brug et engangshåndklæde til at aftørre Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning.
4. Sørg for, at Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning er tør inden brug.

Forberedelse af Neogen® Molekylær Detektions Køleblok Indlæg

Anbring Neogen Molekylær Detektions Køleblok Indlæg direkte på laboratoriebordet: Neogen Molekylær Detektions Køleblok Bakke benyttes ikke. Brug blokken ved laboratorietemperatur (20-25°C).

Forberedelse af Neogen® Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg

Anbring Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg på en tør dobbelt varmeenhed. Tænd for den tørre varmeenhed, og indstil temperaturen, så Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg kan nå og opretholde en temperatur på 100 ± 1°C.

BEMÆRK: Afhængigt af varmeenheden skal man påregne ca. 30 minutter, før Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg opnår temperaturen. Ved hjælp af et passende, kalibreret termometer (f.eks. et termometer til delvis nedsænkning eller et digitalt termoelementtermometer, men ikke et fuldstændigt nedsænkningstermometer) anbragt på det dertil indrettede sted skal det verificeres, at Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg er på 100 ± 1°C.

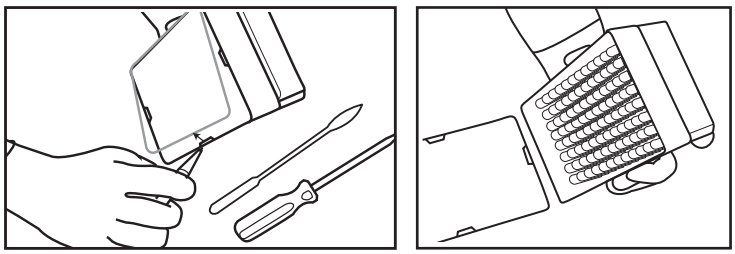
Forberedelse af Neogen® Molekylær Detektions Instrument

1. Start softwaren til Neogen® Molekylær Detektion, og log på. Kontakt din Neogen Food Safety-repræsentant for at sikre, at du har den mest opdaterede version af softwaren.
2. Tænd for Neogen Molekylær Detektions Instrument.
3. Opret, eller rediger en kørsel med data for hver prøve. Se brugsanvisningen til Neogen Molekylær Detektions System for flere oplysninger.

BEMÆRK: Neogen Molekylær Detektions Instrument skal opnå Klar-tilstanden inden der indsættes reagensglas i Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning. Dette opvarmningstrin varer ca. 20 minutter og bliver angivet med et ORANGE lys på instrumentets statussøjle. Når instrumentet er klar til en kørsel, lyser statussøjlen GRØNT.

Lysinbehandling

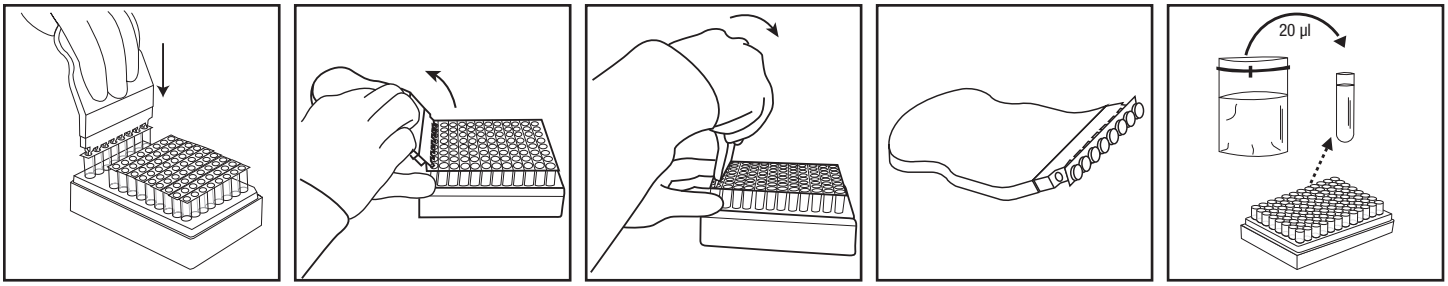
Fjern bunden af holderen til Neogen Lysinbehandlingsopløsning med en skruetrækker, før den placeres i Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg.



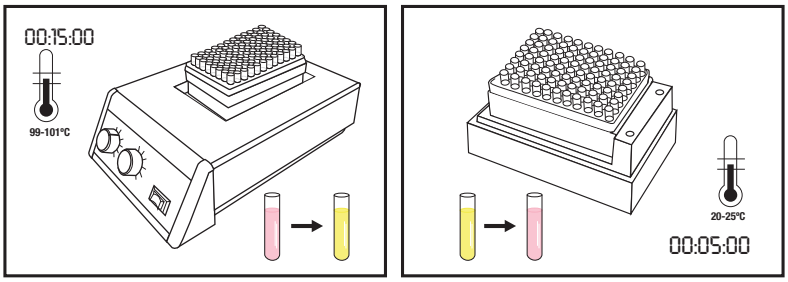
1. Lad Neogen Lysinbehandlingsreagensglassene varme op ved at indstille holderen på stuetemperatur (20-25°C) natten over (16-18 timer). Alternativer til at stabilisere Neogen Lysinbehandlingsreagensglassene til stuetemperatur er at sætte Neogen Lysinbehandlingsreagensglassene på arbejdsbordet i mindst 2 timer, inkubere Neogen Lysinbehandlingsreagensglassene i en inkubator ved 37 ± 1°C i 1 time eller stille dem i en tør, dobbelt varmeblok i 30 sekunder ved 100°C.
2. Vend de lukkede reagensglas på hovedet for at blande. Gå til næste trin inden 4 timer, efter glasset er vendt.
3. **Fjern den opformerede prøve fra inkubatoren.**
   - **3.1.1 Massér forsigtigt bunden af opformeringsposen, før prøven overføres til Neogen Lysinbehandlingsopløsningsglasset.**
   - **3.1.2 Yderligere prøver kan være nødvendige til gentagelse af prøven eller til bekræftelsestrin. Efter indsamling af prøven skal posen rulles ned for at minimere frirum og forhindre, at opformeringen eksponeres med luft. Hvis der kræves bekræftelse af formodede resultater, bør du gå til de bekræftende trin så snart det formodede resultat foreligger.**
4. Et Neogen Lysinbehandlingsreagensglas er påkrævet til hver prøve og til NC-prøven (sterilt opformeringsmedie).
   - 4.1 Reagensglasstrimler til Neogen Lysinbehandlingsopløsning kan skæres til det ønskede antal reagensglas. Vælg antal reagensglas eller strimler til 8 reagensglas efter behov. Sæt Neogen LS-reagensglassene i en tom holder.
   - 4.2 Åbn én Neogen LS-reagensglasstrimmel ad gangen for at undgå krydskontaminering, og brug en ny pipette til hvert overførselstrin.
   - 4.3 Overfør opformeret prøve til Neogen LS-reagensglas som beskrevet nedenfor:

     Overfør hver opformeret prøve til et individuelt Neogen LS-reagensglas **først.** Overfør NC **til sidst.**
   - 4.4 Brug Neogen® Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) – Lysin-behandling til at åbne én Neogen LS-reagensglasstrimmel ad gangen.
   - 4.5 Smid Neogen LS-reagensglassets låg væk – hvis lysat skal gemmes til gentestning, så placér lågene i en ren beholder til genpåsætning efter lysinbehandlingen.
     - 4.5.1 Ved behandling af gemt af lysat, se bilag A.
   - 4.6 Overfør 20 µl prøve til et Neogen Lysinbehandlingsreagensglas.

5. Gentag trin 4.4 til 4.6 efter behov for det antal prøver, der skal testes.



6. Når alle prøver er blevet overført, skal der overføres 20 µl NC (sterilt opformeringsmedie, f.eks. BPW) til et Neogen Lysinbehandlingsreagensglas. Brug ikke vand som en NC.
7. Kontrollér, at Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg har en temperatur på 100 ± 1°C.
8. Anbring glasholderen med Neogen Lysinbehandlingsreagensglas i Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg, og opvarm i 15 ± 1 minutter. I løbet af opvarmningen vil Neogen Lysinopløsningen skifte farve fra pink (kølig) til gul (varm).
   8.1 Prøver, som ikke er blevet korrekt varmebehandlet under analysens lysinbehandlingstrin, kan udgøre en væsentlig miljørisiko og bør IKKE sættes ind i Neogen Molekylær Detektions Instrument.
9. Fjern den udækkede holder med Neogen Lysinbehandlingsreagensglas fra Neogen Molekylær Detektions Varmeblok, og lad det køle i Neogen Molekylær Detektions Køleblok Indlæg i mindst 5 minutter og i højst 10 minutter. Neogen Molekylær Detektions Køleblok Indlæg brugt ved stuetemperatur uden Neogen® Molekylær Detektions Køleblok Bakke bør stå direkte på laboratoriebordet. Når det er koldt, skifter Neogen lysinopløsningen farve tilbage til lyserød.
10. Fjern holderen med Neogen LS-reagensglas fra Neogen Molekylær Detektions Køleblok Indlæg.



Amplifikation

1. Et Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas er påkrævet til hver prøve og NC.
   1.1 Reagensglasstrimler kan tilpasses til det ønskede antal reagensglas. Vælg antallet af individuelle Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas eller 8-reagensglasstrimler efter behov.
   1.2 Placer reagensglassene i en tom holder.
   1.3 Undgå at forstyrre reagenskuglerne på bunden af reagensglassene.
2. Vælg ét Neogen Reagens Kontrol-reagensglas, og anbring det i holderen.
3. For at undgå krydskontaminering åbnes én Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglasstrimmel ad gangen, og der bruges en ny pipettespids til hvert overførselstrin.
4. Overfør hvert lysat til et Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas og Neogen Reagens Kontrol-reagensglas som beskrevet nedenfor:

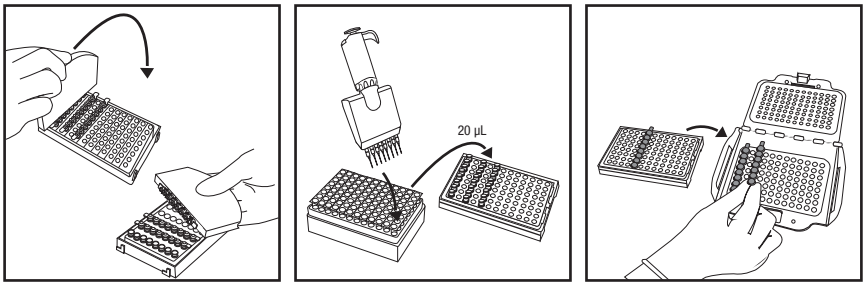
Overfør hver prøvelysat til individuelle Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas **først**, efterfulgt af NC. Hydrer Neogen Reagens Kontrol-reagensglasset **sidst**.

5. Brug Neogen® Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) - Reagens til at åbne Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas - én reagensglasstrimmel ad gangen. Bortskaf hætten.
   5.1 **Overfør 20 µl prøvelysat fra den øverste halvdel af væsken (undgå præcipitat) i Neogen Lysinbehandlings-reagensglasset til et tilsvarende Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas. Dosér med en skrå hældning for at undgå at forstyrre kuglerne. Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned 5 gange.**
   5.2 Gentag trin 5.1, til individuelt prøvelysat er blevet tilføjet til et tilsvarende Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas i strimlen.
   5.3 Dæk Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglassene med det medfølgende ekstra låg og brug den runde side af Neogen Molekylær Detektions Værktøj til Cap/Decap (lukning/åbning) - Reagens til at påføre tryk i en frem- og tilbagegående retning, og sørg for, at låget sidder fast.
   5.4 Gentag trin 5.1 til 5.3 efter behov for det antal prøver, der skal testes.

5.5 Når alle prøvelysater er blevet overført, gentages trinene 5.1 til 5.3 for at overføre 20 µl NC-lysat til et Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas.

5.6 Overfør **20 µl <u>NC-lysat</u> til et Neogen Reagens Kontrol-reagensglas.** Dosér med en skrå hældning for at undgå at forstyrre kuglerne. Bland forsigtigt ved at pipettere op og ned 5 gange.

6. Sæt reagensglassene med låg påsat i en ren og dekontamineret Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning. Luk og lås låget til Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning.



7. Gennemgå og bekræft den konfigurerede kørsel i Neogen Molekylær Detektions softwaren.
8. Klik på startknappen i softwaren, og vælg det instrument, du vil bruge. Det valgte instruments låg åbnes automatisk.
9. Anbring Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning i Neogen Molekylær Detektions Instrument, og luk låget for at påbegynde analysen. Resultaterne fremkommer inden for 60 minutter, skønt positive resultater kan fremkomme hurtigere.
10. Når analysen er færdig, fjernes Neogen Molekylær Detektions Bakke til hurtig påfyldning fra Neogen Molekylær Detektions Instrument, reagensglassene bortskaffes ved at lade dem ligge i blød i en 1-5 % (v:v i vand) husholdningsklorinopløsning i 1 time og på god afstand af analyseklargørelsesområdet.

BEMÆRK: For at minimere risikoen for falsk-positiver pga. krydskontaminering må reagensglas, der indeholder forstærket DNA, aldrig åbnes. Dette omfatter Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter*-reagensglas, Neogen Reagens Kontrol-reagensglas og Neogen Matrix Kontrol-reagensglas. Bortskaf altid kontaminerede reagensglas ved nedsænkning i en 1-5 % (v: v i vand) husholdningsklorinopløsning i 1 time og på afstand af analyseforberedelsesområdet.

Resultater og fortolkning

En algoritme fortolker lyseffektkurven, der er et resultat af detektionen af nukleinsyreamplifikation. Resultaterne bliver automatisk analyseret af softwaren og bliver farvekodet baseret på resultatet. Et positivt eller negativt resultat bliver fastslået ved at analysere et antal unikke kurveparametre. Formodede positive resultater bliver rapporteret i realtid, mens negative resultater og inspektionsresultater bliver vist, efter kørslen er gennemført.

Formodede positive prøver skal bekræftes ifølge sikkerhedspraksis for et standardlaboratorium eller ved at følge den relevante referencemetodebekræftelse[1,2], der begynder med overførsel fra den primære Neogen *Campylobacter* Opformerings Bouillon til selektive *Campylobacter*-plader med mikro-aerofil inkubering, bekræftelse af isolater ved hjælp af passende biokemiske, biokemiske og serologiske metoder. For at vedligeholde opformeringen bedst muligt skal opformeringsposen rulles ned efter prøveindsamling.

BEMÆRK: Selv en negativ prøve vil ikke give en nulaflæsning, idet systemet og Neogen Molekylær Detektions Analyse 2 - *Campylobacter* amplifikationsreagenser har en "baggrundsmæssig" relativ lysenhed (RLU)-læsning.

I sjældne tilfælde af en usædvanlig lyseffekt vil algoritmemærkaterne kategorisere dette som Inspektion. Neogen anbefaler brugeren at gentage analysen for alle inspektionsprøver. Hvis resultatet fortsat markeres til Inspektion, skal du fortsætte til bekræftelsestest ved brug af din foretrukne metode eller som specificeret i lokale forskrifter[1,2].

Bilag A. Protokolafbrydelse: Opbevaring og gentestning af varmebehandlede lysater

1. Til opbevaring af varmebehandlet lysat påsættes en ren hætte på Neogen Lysinbehandlingsreagensglasset (se afsnittet Lysinbehandling, 4.5)
2. Opbevar ved 2-8°C i op til 72 timer.
3. Forbered en opbevaret prøve til amplifikation ved at vende den på hovedet 2-3 gange for at blande.
4. Tag lågene af reagensglassene.
5. Placér de blandede lysatreagensglas på Neogen Molekylær Detektions Varmeblok Indlæg, og varm op til 100 ± 1°C i 5 ± 1 minutter.
6. Fjern holderen med Neogen Lysinbehandlingsreagensglas fra Neogen Molekylær Detektions Varmeblok, og lad det køle i Neogen Molekylær Detektions Køleblok Indlæg i mindst 5 minutter og i højst 10 minutter.
7. Fortsæt protokollen i afsnittet **Amplifikation** som angivet ovenfor.

Litteraturhenvisninger:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Kontakt din Neogen Food Safety-repræsentant for at få en kopi af dette dokument.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Symbolforklaring

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Produktveiledning

Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*

Produktbeskrivelse og tiltenkt bruk

Neogen® Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* brukes sammen med Neogen® System for molekylær deteksjon for rask og spesifikk deteksjon av *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* og *Campylobacter coli* i miljøprøver av beriket mat, fôr- og matprosess.

Neogen Molekylære deteksjonstester bruker sløyfe-mediert isotermisk amplifikasjon for hurtig amplifikasjon av nukleinsyresekvenser med høy spesifisitet og sensitivitet, kombinert med bioluminescens for å detektere amplifikasjonen. Antatt positive testresultater rapporteres i sanntid, mens negative resultater vises etter at testen er fullført. Antatte positive resultater skal bekreftes ved hjelp av din foretrukne metode eller som spesifisert av lokale forskrifter[1,2].

Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* er ment for bruk i et laboratoriemiljø av fagpersoner med opplæring i laboratorieteknikker. Neogen har ikke godkjent dette produktet for bruk i andre industrier enn mat og drikke. Neogen har for eksempel ikke godkjent dette produktet for testing av farmasøytiske, kosmetiske og kliniske prøver eller veterinærprøver. Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* er ikke evaluert med alle mulige matprodukter, matprosesser, testprotokoller eller med alle mulige bakteriestammer.

Som for alle testmetoder kan kilden, formuleringen og kvaliteten til anrikningsmediet påvirke resultatene. Faktorer som prøveinnsamlingsmetoder, testprotokoller, prøveforberedelse, håndtering og laboratorieteknikk kan også påvirke resultatet. Neogen anbefaler å evaluere metoden, inkludert anrikningsmediet, i brukerens miljø ved bruk av et tilstrekkelig antall prøver ved spesielle næringsmidler og mikrobielle utfordringer for å sikre at metoden oppfyller brukerens kriterier.

Neogen har evaluert Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* med Neogen® *Campylobacter* Oppformeringsbuljong og blodfri Bolton oppformeringsbuljong.

Neogen® Instrument for molekylær deteksjon er ment for bruk med prøver som har gjennomgått varmebehandling i testens lyseringstrinn, som er konstruert for å ødelegge organismer som finnes i prøven. Prøver som ikke har blitt ordentlig varmebehandlet under testlyseringstrinnet kan vurderes som en potensiell biologisk fare og skal IKKE settes inn i Neogen Instrument for molekylær deteksjon.

Neogen Food Safety er ISO (International Organization for Standardization) 9001-sertifisert for utforming og produksjon.

Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* inneholder 96 tester, beskrevet i tabell 1.

Tabell 1. Komponenter i Neogen Molekylært deteksjonskit

Artikkel	Beskrivelse	Mengde	Innhold	Kommentarer
Neogen® Lyseringsoppløsning (LS)	Rosa oppløsning i gjennomsiktige rør	96 (12 rekker med 8 rør)	580 µL LS per rør	Plassert i stativ og klar til bruk
Reagensrør for Neogen® Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*	Lilla rør	96 (3 poser, med 4 strips med 8 rør hver)	Lyofilisert spesifikk amplifikasjon og deteksjonsblanding	Klar til bruk
Ekstra lokk	Lilla lokk	96 (12 rekker med 8 lokk hver)		Klar til bruk
Neogen® Reagenskontroll (RC)	Gjennomsiktige rør med vippelokk	16 (2 poser med 8 individuelle rør hver)	Lyofilisert kontroll-DNA, amplifikasjon og deteksjonsblanding	Klar til bruk

Den negative kontrollen (NC), som ikke medfølger i kittet, er et sterilt oppformeringsmedium, for eksempel Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong. Ikke bruk vann som NC.

En hurtigstartguide er tilgjengelig på www.neogen.com

Sikkerhet

Brukeren må lese, forstå og følge all informasjon om sikkerhet i instruksjonene for Neogen System for molekylær deteksjon og Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*. Behold sikkerhetsveiledningen for fremtidig referanse.

⚠ **ADVARSEL:** Indikerer en farlig situasjon som, om den ikke unngås, kan resultere i død eller alvorlig personskade og/eller materielle skader.

MERKNAD: Indikerer en potensielt farlig situasjon som, om den ikke unngås, kan føre til materielle skader.

⚠ ADVARSEL

Ikke bruk Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* i diagnostisering av tilstander hos mennesker eller dyr.

Brukeren må gi opplæring i korrekte testteknikker til sitt personell: for eksempel Good Laboratory Practices[3], ISO 17025[4], eller ISO/IEC 7218[5].

For å redusere risikoene forbundet med et falskt negativt resultat som kan føre til utslipp av kontaminert produkt:

- Følg protokollen og utfør testene akkurat slik de beskrives i produktveiledning.
- Oppbevar Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* slik som beskrevet på pakning og i produktveiledning.
- Bruk alltid Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* før utløpsdatoen.
- Klargjør Neogen® *Campylobacter* Oppformeringsbuljong i henhold til produktveiledning.
- Ikke autoklaver Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong.
- Bruk Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* for mat- og miljøprøver som er godkjent internt eller av en tredjepart.
- Bruk kun Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* med overflater, desinfeksjonsmidler, protokoller og bakteriestammer som har blitt validert internt eller av en tredjepart.
- For en miljøprøve som inneholder nøytraliserende buffer med arylsulfonat-kompleks, skal du utføre en 1:2 fortynning før testing (1 del prøve i 1 del steril anrikningsbuljong). Et annet alternativ er å overføre 10 µL av den nøytraliserende bufferanrikningen inn i Neogen lyseringsoppløsningsrørene. Prøvehåndteringsprodukter fra Neogen® som inkluderer nøytraliserende buffer med arylsulfonatkompleks: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G og HS2410NB2G.

For å redusere risikoene forbundet med eksponering for kjemikalier og biologiske farer:

- Utfør patogentesting i et laboratorium som er korrekt utstyrt, under oppsyn av fagopplært personell. Inkubert anrikningsmedium og utstyr eller overflater som har vært i kontakt med inkubert anrikningsmedium, kan inneholde patogener på et nivå som kan innebære helserisiko for mennesker.
- Følg alltid standard praksis for laboratoriesikkerhet, inkludert bruk av egnet personlig verneutstyr og øyevern ved håndtering av reagensrør og kontaminerte prøver.
- Unngå kontakt med innholdet i anrikningsmediet og reagensrør etter amplifisering.
- Kast anrikede prøver i henhold til gjeldende lokale/regionale/nasjonale regulerende standarder.
- Prøver som ikke har blitt ordentlig varmebehandlet under testlyseringstrinnet kan vurderes som en potensiell biologisk fare og skal IKKE settes inn i Neogen Instrument for molekylær deteksjon.

For å redusere risikoene forbundet med krysskontaminering ved klargjøring av test:

- Bruk alltid hansker (for å beskytte brukeren og forhindre innføring av nukleaser).

For å redusere risiko forbundet med eksponering for varme væsker:

- Ikke overstig den anbefalte temperaturinnstillingen på varmeblokken.
- Ikke overstig den anbefalte oppvarmingstiden.
- Bruk et passende, kalibrert termometer til å kontrollere temperaturen på Neogen® Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon (f.eks. delvis nedsenket termometer eller digitalt termoelement-termometer, ikke et helt nedsenket termometer). Termometeret må plasseres på det angitte stedet på Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon.

MERKNAD

For å redusere risikoene forbundet med krysskontaminering ved klargjøring av test:

- Skift hansker før hydrering av reagens-pellet.
- Det anbefales å bruke pipettespisser med sterile, spraybaserte barrierer (filtrerte), av molekylærbiologi-karakter.
- Bruk en ny pipettespiss for hver prøveoverføring.
- Bruk gode laboratoriepraksiser til å overføre prøven fra anrikningen til lyseringsrøret. For å unngå kontaminering av pipetter kan brukeren velge å legge til et mellomtrinn under overføring. Brukeren kan for eksempel overføre hver anrikede prøve til et sterilt rør.
- Dersom tilgjengelig, bør brukeren bruke en arbeidsstasjon for molekylær biologi som har en bakteriedrepende lampe.
- Utfør periodisk dekontaminering av benker og utstyr (pipetter, verktøy for lukking/åpning, osv.) i laboratoriet med en 1-5 % (volumandel i vann) oppløsning av husholdningsblekemiddel eller oppløsning for fjerning av DNA.

For å redusere risikoene forbundet med falskt positivt resultat:

- Åpne aldri rørene etter amplifisering.
- Kast alltid de kontaminerte rørene ved å bløtlegge dem i en 1-5 % (volumandel i vann) oppløsning av husholdningsblekemiddel i 1 time og borte fra testens forberedelsesområde.
- Autoklaver aldri rørene etter amplifisering.

Se HMS-databladet for ytterligere informasjon og lokale forskrifter for avhending.

Hvis du har spørsmål om spesifikke bruksområder eller prosedyrer, kan du besøke vårt nettsted på www.neogen.com eller ta kontakt med en lokal Neogen-representant eller -forhandler.

Brukeransvar

Brukere er ansvarlige for å sette seg inn i produktveiledningen og informasjon om produktet. Besøk nettsiden vår, **www.neogen.com**, eller kontakt din lokale Neogen-representant eller -distributør for mer informasjon.

Ved valg av testmetode er det viktig å ta hensyn til at eksterne faktorer som metoder for stikkprøver, testprotokoller, preparering av prøver, håndtering, laboratorieteknikk og selve prøven kan påvirke resultatene.

Ved valg av testmetode er det brukerens ansvar å vurdere et tilstrekkelig antall prøver med passende matriks og mikrobielle utfordringer for å tilfredsstille brukeren om at den valgte prøvemetoden oppfyller brukerens kriterier.

Det er også brukerens ansvar å fastslå at alle prøvemetoder og resultater tilfredsstiller kundens og leverandørens krav.

Som med alle testmetoder utgjør ikke resultatene som oppnås ved bruk av noe Neogen Food Safety-produkt, noen garanti om kvaliteten av matriksene eller prosessene som testes.

For å hjelpe kunder med å evaluere metoden for forskjellige matmatriks, har Neogen utviklet Neogen® Matrisekontrollsett for molekylær deteksjon. Bruk Neogen Matrisekontroll for molekylær deteksjon ved behov for å avgjøre om matriksen har egenskapen til å påvirke resultatene for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*. Test flere prøver som representerer matriksen, dvs. prøver innhentet fra forskjellige opphav, i løpet av en hvilken som helst valideringsperiode når Neogen-metoden brukes, ved testing av nye eller ukjente matriks, eller matriks som har gjennomgått endringer i råvarematerialer eller prosess.

Et matriks kan defineres som en produkttype med indre egenskaper, slik som sammensetning og prosess. Forskjeller mellom matriks kan være så enkle som effekter som skyldes forskjeller i prosessering eller presentasjon, for eksempel rå i forhold til pasteurisert, fersk i forhold til tørket osv.

Begrensing av garantier / begrensede rettigheter

MED MINDRE DET ER UTTRYKKELIG SKREVET I EN BEGRENSET GARANTI PÅ EN PRODUKTPAKNING, FRASKRIVER NEOGEN SEG ALLE DIREKTE OG INDIREKTE GARANTIER, INKLUDERT MEN IKKE BEGRENSET TIL, ENHVER GARANTI OM SALGBARHET ELLER ANVENDELSE TIL ET BESTEMT FORMÅL. Hvis noe Neogen Food Safety-produkt er defekt, vil Neogen eller dets autoriserte distributør erstatte eller refundere produktets kjøpesum etter eget skjønn. Dette er dine ubetingede rettigheter. Du må straks varsle Neogen innen seksti dager fra oppdagelsen av enhver mulig feil i et produkt og returnere dette produktet til Neogen. Kontakt Neogen-representanten din eller den autoriserte Neogen-distributøren hvis du har flere spørsmål.

Begrensning av Neogens ansvar

NEOGEN VIL IKKE VÆRE ANSVARLIG FOR NOE TAP ELLER SKADE, DIREKTE ELLER INDIREKTE, SPESIELL, TILFELDIG ELLER FØLGESKADE, INKLUDERT, MEN IKKE BEGRENSET TIL, TAPT FORTJENESTE. Ikke under noen omstendighet skal Neogens ansvar, under noen juridisk teori, overstige kjøpesummen for et produkt som antas å være defekt.

Oppbevaring og avhending

Oppbevar Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* ved 2-8 °C (35-47 °F). Må ikke fryses. Hold kitet borte fra lys under oppbevaring. Etter at kitet er åpnet, skal folieposen undersøkes for skader. Må ikke brukes dersom posen er skadet. Etter åpning skal ubrukte reagensrør alltid oppbevares i den gjenlukkbare posen med tørkemiddelet inni, for å opprettholde stabiliteten til de lyofiliserte reagensene. Oppbevar forseglede poser ved 2-8 °C (35-47 °F) i maksimalt 90 dager.

Ikke bruk Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* etter utløpsdatoen. Utløpsdato og partinummer er angitt på etiketten på utsiden av esken. Etter bruk kan rørene med oppformeringsmediet og Neogen Molekylær deteksjonskit 2 - *Campylobacter* inneholde potensielle patogent materiale. Når testingen er fullført, følger brukeren gjeldende industristandarder for kasting av kontaminert avfall. Se HMS-databladet for ytterligere informasjon og lokale forskrifter for avhending.

Bruksanvisning

Følg alle instruksjonene nøye. Dersom dette ikke blir gjort, kan det føre til unøyaktige resultater.

Utfør periodisk dekontaminering av benker og utstyr (pipetter, verktøy for lukking/åpning, osv.) i laboratoriet med en 1-5 % (volumandel i vann) oppløsning av husholdningsblekemiddel eller oppløsning for fjerning av DNA.

Brukeren må fullføre opplæringen for operatører av Neogen System for molekylær deteksjon (OQ), som beskrevet i dokumentet «Installasjonskvalifikasjon (IQ) / Driftskvalifikasjon (OQ) Protokoller og instruksjoner for Neogen System for molekylær deteksjon»[6].

Medieklargjøring

Klargjør Neogen® *Campylobacter* Oppformeringsbuljong (CE250) i henhold til produktveiledning. **Ikke autoklaver medium før bruk.** Bruk mediet innen 24 timer etter fremstilling. Oppbevar fremstilt buljong ved 2-8 °C[7] beskyttet fra lyset hvis den ikke blir brukt umiddelbart etter fremstilling. Sørg for at mediet er herdet til 20-30 °C før bruk.

Prøvetaking

Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong skal ikke brukes til fugleskylling eller transportmedium. Samle og transporter prøver i henhold til dine etablerte prøveinnsamlingsprosedyrer.

Prøveanriking

Tabell 2 viser veiledning for generelle anrikningsprotokoller for mat- og miljøprøver.

Det er brukerens ansvar å validere alternative prøveprotokoller eller fortynningsforhold for å sikre at testmetoden møter brukerens krav.

Prøvepreparering

a. Skyllinger av skrott og rå fjærkredeler

1. Skyll en renset rå fjærkreskrott med 400 mL bufret peptonvann (BPW) i ett minutt. Hvis du skyller fjærkredeler, skyll 1,8 til 2 kg (4 lb ± 10 %) med fugledeler med 400 mL av BPW[1,8].
2. For skrott- og rå fjærkredeler, la overflødig væske dryppe før du skyller prøven for å unngå overføring av overflødig behandlingsvæske i prøveposen[8].
3. For fjærkre som har blitt behandlet med cetylpyridiniumklorid (CPC), må du legge til 5 mL per L med polysorbat 80 (IUPAC: Polyoksyetylen (20) sorbitanmonooleat; CAS 9005-65-6) til fremstilt Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong. Polysorbat 80 kan tilsettes vann før sterilisering for mer effektiv oppløsning eller å gjøre det mulig å sterilisere vann før fremstilling av Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong.
4. Overfør 30 mL av skyllemiddel til en steril pose på en aseptisk måte og tilsett 30 mL med Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong.

b. Skrottsvamp

1. Svamper bør hydreres før prøven med opptil 25 mL BPW før prøven tas[1]. Hvis du transporterer prøvene, sørg for at posen rulles ned og holdes ved 2-8 °C.
2. Svabre fjærkreskrott eller ta prøve med svamp.
3. Plasser svaberpinnen i en steril pose og tilsett 25 mL med Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong. Pass på at svaberpinnen eller svampen er dekket av det oppformerte mediet.

c. Rå fjærkreprodukter

1. Vei 325 ± 32,5 g med prøve og plassér i en steril pose på en aseptisk måte. Tilsett 1625 ± 32,5 mL med BPW til det rå fjærkreproduktet. For å dispergere klumper, blander man godt ved å massere med hendene.
2. Etter blanding tilsetter man 30 mL rå blanding av fjærkreprodukt i en steril pose og tilsetter 30 mL med Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong, før man blander godt.

d. Rått og spiseklart kjøtt

1. Vei 25 g med prøve og plassér i en steril pose på en aseptisk måte. Det anbefales å bruk en filterpose for å gjøre prøvetakingen lettere.
2. Tilsett 225 mL med Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong.
3. Masser for hånd for å bryte opp i klumper. Unngå å skape bobler når du blander. Ikke behandle posen ved å homogenisere eller blande.

e. Fotsvabre for primær produksjon

1. Ta prøve med fotsvaber i henhold til dine etablerte prøvetakingsprosedyrer.
2. Plasser ÉN sokk i en steril pose og tilsett 100 mL med Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong.

f. Dra vattpinne

1. Samle prøven med forhåndsfuktet vattpinneenhet i henhold til dine etablerte prøvetakingsprosedyrer.
2. Plasser svaberpinnen i en steril pose og tilsett 100 mL med Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong.

Inkubasjon av anrikelse

1. Rull ned posen for å redusere luftrom og hindre eksponering av oppformeringsblandingen for luft. Masser posen forsiktig i omtrent 10 ± 2 sekunder. **Ikke behandle posen ved å homogenisere eller blande, og unngå å skape bobler mens du blander.**
2. Inkuber posen aerobt ved 41,5 ± 1 °C, se tabell 2 for egnet inkubasjonstid.

ADVARSEL: Hvis man velger å bruke nøytraliserende buffer som inneholder arylsulfonatkompleks, må man blande ut den berikete miljøprøven i forholdet 1:2 (1 part prøve til 1 del steril oppformeringsbuljong) før testing, for å kunne redusere risikoer forbundet med falskt negativt resultat som fører til at det kontaminerte produktet slippes ut. Et annet alternativ er å overføre 10 µL av den nøytraliserende bufferanrikningen inn i Neogen lyseringsoppløsningsrørene.

Det er brukerens ansvar å validere alternative prøveprotokoller eller fortynningsforhold for å sikre at testmetoden møter brukerens krav.

Tabell 2. Generelle oppformeringsprotokoller.

Prøvematriks	Prøvestørrelse	Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong (mL)[b]	Anrikningstemperatur (±1 °C)	Anrikningstid (timer)	Volum prøveanalyse (µL)[c]
• Skrottsskyllinger[a] • Fugledelskyllinger[a]	30 mL skylling i BPW	30	41,5	22-26	20
• Skrottssvamp[a]	En svamp forhåndsfuktet med opptil 25 mL med BPW	25	41,5	22-26	20
• Rått kjøtt • Spiseklart kjøtt	25 g	225	41,5	24-28	20
• Fotsvaber fra primær produksjon	1 fotsvaber	100	41,5	22-26	20
• Dra vattpinne fra primær produksjon	1 forhåndsfuktet enhet	100	41,5	22-26	20

(a) Hvis fugler er blitt behandlet med cetylpyridiniumklorid (CPC), må du legge til 5 mL per L med polysorbat 80 (IUPAC: Polyoksyetylen (20) sorbitanmonooleat; CAS 9005-65-6) til fremstilt Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong. Polysorbat 80 kan tilsettes vann før sterilisering, eller den kan tilsettes sterilt vann før fremstilling av Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong.

(b) Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong skal brukes innen 24 timer etter fremstilling. Medium bør være ved omgivelsestemperatur (25-30 °C) før bruk.

(c) Masser bunnen av posen forsiktig før du samler anriket prøve for analysering. **Etter at du har tatt prøven, rull ned posen for å forhindre at anrikningen eksponeres for luft.** Det kan kreves en ytterligere prøve for omtesting eller bekreftende trinn.

Spesifikke veiledninger for validerte metoder

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) sertifikat #111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

Studier ved AOAC Research Institute PTM℠ viste at Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* ble funnet å være en effektiv metode for å påvise *Campylobacter*. Matriksene som ble testet i studien er vist i tabell 3.

Tabell 3. Anrikningsprotokoller i henhold til AOAC PTM[SM] sertifikat #111803.

Prøvematriks	Prøvestørrelse	Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong (mL)[(c)]	Anrikningstemperatur (±1 °C)	Anrikningstid (timer)	Volum prøveanalyse (µL)[(d)]
Hel skrott skylt i 400 mL med BPW[(a) (b)]	30 mL skylling i BPW	30	41,5	22-26	20
Fugledel (1,8 til 2 kg) skylt i 400 mL med BPW[(a) (b)]	30 mL skylling i BPW	30	41,5	22-26	20
Kalkunskrott-svamp[(a) (b)]	En svamp forhåndsfuktet med opptil 25 mL med BPW	25	41,5	24-26	20
Rå kjøttdeig av fjærkre (325 ± 32,5 g) skylt i 1625 ± 32,5 mL BPW[(b)]	30 mL produkt-blanding i BPW	30	41,5	24-28	20
Kyllingnuggets	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Hvis fugler er blitt behandlet med cetylpyridiniumklorid (CPC), må du legge til 5 mL per L med polysorbat 80 (IUPAC: Polyoksyetylen (20) sorbitanmonooleat; CAS 9005-65-6) til fremstilt Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong. Polysorbat 80 kan tilsettes vann før sterilisering, eller den kan tilsettes sterilt vann før fremstilling av Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong.

(b) Alternativt kan denne matrikset anrikes med 30 mL med 2X blodfri Bolton oppformeringsbuljong (BF-BEB) i 48 ± 2 timer ved 42 ± 1,0 °C under mikroaerobiske forhold. Overfør 20 µL av prøven til en Neogen lyseringsoppløsning.

(c) Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong skal brukes innen 24 timer etter fremstilling. Medium bør være ved omgivelsestemperatur (25-30 °C) før bruk.

(d) Masser bunnen av posen forsiktig før du samler anriket prøve for analysering. **Etter at du har tatt prøven, rull ned posen for å forhindre at anrikningen eksponeres for luft.** Det kan kreves en ytterligere prøve for omtesting eller bekreftende trinn.

Klargjøring av Neogen® Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon

1. Væt en klut med 1-5 % (volumandel i vann) husholdningsblekemiddel og tørk av Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon.
2. Skyll Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon med vann.
3. Bruk en engangsklut til å tørke Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon.
4. Sørg for at Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon er tørt før bruk.

Klargjøring av Neogen® Kjøleblokkinnsats for molekylær deteksjon

Plasser Neogen Kjøleblokkinnsats for molekylær deteksjon direkte på laboratoriebenken: Neogen Brett til kjøleblokk for molekylær deteksjon er ubrukt. Bruk kjøleblokken ved laboratoriets romtemperatur (20-25 °C).

Klargjøring av Neogen® Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon

Plasser Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon i en dobbelblokktermostat. Slå på blokktermostaten og still inn temperaturen slik at Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon når og opprettholder en temperatur på 100 ± 1 °C.

MERK: Avhengig av varmeenheten, skal Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon bruke omtrent 30 minutter på å nå temperaturen. Bruk et passende, kalibrert termometer (f.eks. et delvis nedsenket termometer eller et digitalt termoelement-termometer, ikke et helt nedsenket termometer) plassert på angitt sted og verifiser at Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon er ved 100 ± 1 °C.

Klargjøring av Neogen® Instrument for molekylær deteksjon

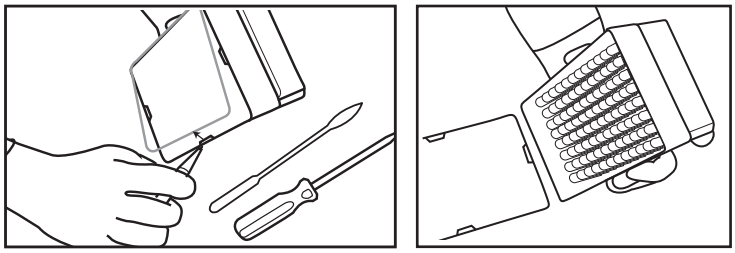
1. Start programvaren Neogen® molekylær deteksjon og logg inn. Kontakt Neogen Food Safety-representanten for å få bekreftet at du har den nyeste versjonen av programvaren.

2. Slå på Neogen Instrument for molekylær deteksjon.
3. Opprett eller endre en gjennomkjøring med data for hver prøve. Se brukermanualen for Neogen System for molekylær deteksjon for mer informasjon.

MERK: Neogen Instrument for molekylær deteksjon må nå klar tilstand før innsetting av Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon med reagensrør. Dette varmetrinnet tar omtrent 20 minutter og indikeres av et ORANSJE lys på instrumentets statuslinje. Når instrumentet er klart for å starte en gjennomkjøring, vil statuslinjen lyse GRØNT.

Lysering

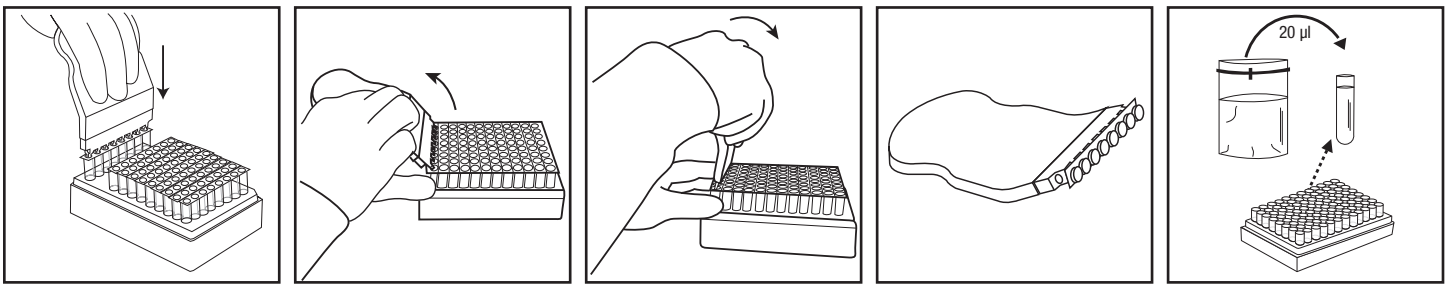
Fjerne bunnen av stativet med Neogen lyseringsoppløsningsrør med en skrutrekker før du plasserer den i Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon.



1. La Neogen lyseringsoppløsningsrørene varmes opp ved å sette stativet i omgivelsestemperatur (20-25 °C) over natten (16-18 timer). Alternativer til å stabilisere Neogen lyseringsoppløsningsrørene til omgivelsestemperatur er å sette Neogen lyseringsoppløsningsrørene på laboratoriebenken i minst 2 timer, inkubere Neogen lyseringsoppløsningsrørene i en inkubator ved 37 ± 1 °C i 1 time, eller plassere dem i en tørr dobbelblokkvarmeenhet i 30 sekunder ved 100 °C.
2. Vend rørene med hetten på for å blande. Fortsett til neste trinn innen 4 timer etter invertering.
3. **Fjern den anrikete prøven fra inkubatoren.**
   3.1.1 Masser bunnen av den anrikningsposen før du overfører prøven til Neogen lyseringsoppløsningsrøret.
   3.1.2 Det kan kreves en ytterligere prøve for omtesting eller bekreftende trinn. Rull ned posen for å redusere luftrom og luft etter prøvetaking etter at du har tatt prøven. Hvis det er nødvendig med bekreftelse av antatte resultater, fortsett med bekreftende trinn så snart antatt resultat er oppnådd.
4. Ett Neogen lyseringsoppløsningsrør kreves for hver prøve og NC-prøve (sterilt anrikningsmedium).
   4.1 Rekker med Neogen lyseringsoppløsningsrør kan klippes til ønsket antall rør. Velg antall rør eller 8-rekker av rør som trengs. Plasser Neogen lyseringsoppløsningsrørene i et tomt stativ.
   4.2 For å unngå krysskontaminering skal kun én rekke med Neogen lyseringsoppløsningsrør åpnes om gangen og en ny pipettespiss brukes for hvert overføringstrinn.
   4.3 Overfør anriket prøve til Neogen lyseringsoppløsningsrørene som beskrevet under:

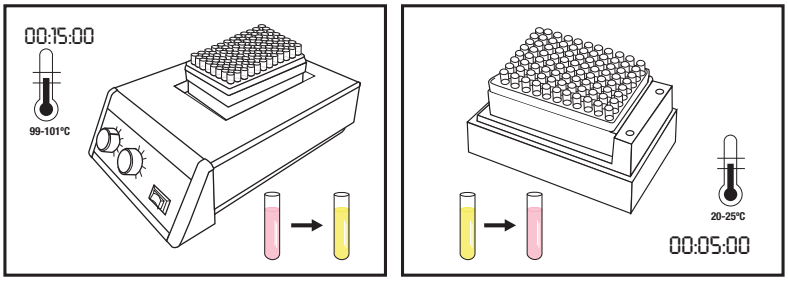
   Overfør hver anrikede prøve til enkeltstående Neogen lyseringsoppløsningsrør **først**. Overfør NC-prøven til **sist**.

   4.4 Bruk Neogen® Verktøy for lukking/åpning av lyseringsrør for molekylær deteksjon for å åpne én rekke med Neogen lyseringsoppløsningsrør - én rekke om gangen.
   4.5 Kast lokket på Neogen lyseringsoppløsningsrøret - dersom lysatet skal oppbevares for ny test, plasseres lokkene i en ren beholder for å sette dem på igjen etter lysering.
   4.5.1 Se vedlegg A for prosessering av tilbakeholdt lysat.
   4.6 Overfør 20 µL av prøven til et Neogen lyseringsoppløsningsrør.
5. Gjenta trinn 4.4 til 4.6 som nødvendig, for det antall valgte prøver som skal testes.



6. Når alle prøvene er overført, overføres 20 µL av NC (sterilt anrikningsmedium, f.eks. BPW) inn i et Neogen lyseringsoppløsningsrør. Ikke bruk vann som NC.

7. Verifiser at Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon har en temperatur på 100 ±1 °C.
8. Plasser det utildekkede stativet med Neogen lyseringsoppløsningsrør i Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon og varm opp i 15 ± 1 minutter. Under oppvarmingen vil Neogen lyseringsoppløsningen endre farge fra rosa (kald) til gul (varm).
   8.1 Prøver som ikke har blitt tilstrekkelig varmebehandlet under testlyseringstrinnet kan vurderes som en potensiell biologisk fare og skal IKKE settes inn i Neogen Instrument for molekylær deteksjon.
9. Fjern det utildekkede stativet med Neogen lyseringsoppløsningsrør fra Neogen varmeblokken for molekylær deteksjon og la det avkjøles i Neogen Kjøleblokkinnsats for molekylær deteksjon i minst 5 minutter og maksimum 10 minutter. Når Neogen Kjøleblokkinnsats for molekylær deteksjon brukes ved romtemperatur uten Neogen® Brett til kjøleblokk for molekylær deteksjon, skal det plasseres direkte på laboratoriebenken. Når den er avkjølt, vil Neogen lyseringsoppløsningen endre farge tilbake til rosa.
10. Fjern stativet med Neogen lyseringsoppløsningsrør fra Neogen Kjøleblokkinnsats for molekylær deteksjon.

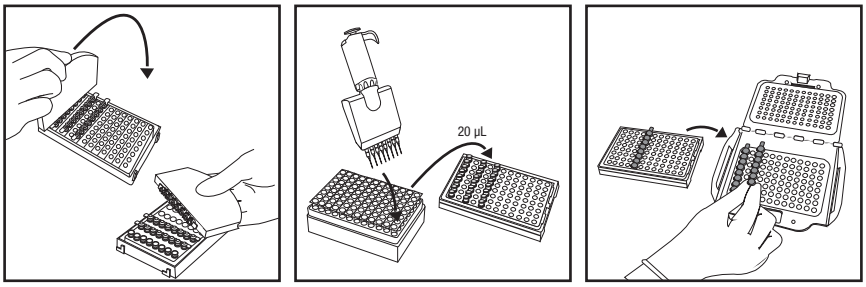


Amplifikasjon

1. Ett reagensrør for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* kreves for hver prøve og for NC.
   1.1 Rekker med rør kan klippes til ønsket antall rør. Velg det nødvendige antallet enkeltstående reagensrør eller rekker med 8 rør for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 for - *Campylobacter*.
   1.2 Plasser rørene i et tomt stativ.
   1.3 Unngå å forstyrre reagenspelletene i bunnen av rørene.
2. Velg ett Neogen Reagenskontroll-rør og plasser det i stativet.
3. For å unngå krysskontaminering, ta av lokket på én Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* rørrekke om gangen og bruk ny pipette ved hver prøveoverføring.
4. Overfør hvert av lysatene til et reagensrør for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* og et Neogen Reagenskontroll-rør som beskrevet nedenfor:

Overfør hvert prøvelysat til individuelle Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*-reagensrør SR-rør **først** etterfulgt av NC. Hydrer Neogen Reagenskontroll-røret til **sist**.

5. Bruk Neogen® Verktøy for lukking/åpning av reagensrør for molekylær deteksjon for å åpne én rekke med reagensrør for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* - én rekke om gangen. Kast lokket.
   5.1 **Overfør 20 µL av prøvelysatet fra den øverste halvdelen av væsken (unngå presipitat) i Neogen lyseringsoppløsningsrøret til det korresponderende reagensrøret for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*. Hold i vinkel under overføring for å unngå å forstyrre pelletene. Bland ved å bevege pipetten forsiktig opp og ned 5 ganger.**
   5.2 Gjenta trinn 5.1 til individuelt prøvelysat har blitt lagt til i et korresponderende reagensrør for Neogen Molekylær deteksjonskit 2 - *Campylobacter* i rekken.
   5.3 Dekk til reagensrørene for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* med de medfølgende ekstra lokkene, og bruk den avrundede siden av Neogen Verktøy for lukking/åpning av reagensrør for molekylær deteksjon til å presse i en fram-og-tilbake-bevegelse slik at lokket festes godt.
   5.4 Gjenta trinn 5.1 til 5.3 som nødvendig, for det antall valgte prøver som skal testes.
   5.5 Når alt prøvelysatet er overført, gjentas trinn 5.1 til 5.3 for å overføre 20 µL med NC-lysat inn i et reagensrør for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*.
   5.6 Overfør **20 µL med <u>NC-lysat</u> inn i et Neogen Reagenskontroll-rør.** Hold i vinkel under overføring for å unngå å forstyrre pelletene. Bland ved å bevege pipetten forsiktig opp og ned 5 ganger.
6. Sett lukkede rør over i et rent og dekontaminert Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon. Lukk og lås lokket til Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon.



7. Se igjennom og bekreft den konfigurerte gjennomkjøringen i programvaren for Neogen Molekylær deteksjon.
8. Klikk på startknappen i programvaren og velg instrumentet som skal brukes. Det valgte instrumentets lokk åpnes automatisk.
9. Plasser Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon inn i Neogen Instrument for molekylær deteksjon og lukk lokket for å starte testen. Resultatene er klare innen 60 minutter, mens positive resultat kan bli oppdaget raskere.
10. Etter at testen er fullført, fjern Neogen Brett til hurtiglading for molekylær deteksjon fra Neogen Instrument for molekylær deteksjon og kvitt deg med rørene ved å senke dem i en 1-5 % (volumandel i vann) husholdningsblekemiddel i 1 time og borte fra testens forberedelsesområde.

MERKNAD: For å redusere risikoen for falske positive resultater på grunn av krysskontaminering skal aldri reagensrør som inneholder amplifisert DNA, åpnes. Dette inkluderer reagensrør for Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter*, Neogen Reagenskontroll-rør og Neogen matrikskontrollrør. Avhend alltid de forseglede reagensrørene ved å bløtlegge dem i 1-5 % (volumdeler i vann) oppløsning av husholdningsblekemiddel i en 1 time og unna testens forberedelsesområde.

Resultater og tolkning

En algoritme tolker lyseffektskurven som er resultatet av deteksjonen av nukleinsyre-amplifikasjon. Resultatene analyseres automatisk av programvaren og er fargekodet basert på resultatet. Et positivt eller negativt resultat fastslås av analysen av flere unike kurveparametere. Antatt positive resultater rapporteres i sann tid, mens negative og «Inspect» (inspiser)-resultater vil vises etter at gjennomkjøringen er fullført.

Antatte positive prøver må bekreftes i henhold til laboratoriets standard operasjonsprosedyrer eller ved å følge den aktuelle referansemetoden for bekreftelse[1,2], som begynner med overføring fra den primære Neogen *Campylobacter* Oppformeringsbuljong-anrikningen til selektive *Campylobacter*-plater med mikroaerofil inkubasjon, bekreftelse av isolater ved å bruke de riktige biokjemiske, mikroskopiske og serologiske metodene. For best mulig vedlikehold av anrikningen, rull ned anrikningsposen etter å ha tatt en prøve.

MERK: Ikke engang en negativ prøve vil gi et null-resultat ettersom systemet og amplifikasjonsreagensene til Neogen Molekylært deteksjonskit 2 - *Campylobacter* har en «bakgrunns»-, relativ lysenhet (RLU).

I et sjeldent tilfelle av eventuelle uvanlige lyseffekter, merker algoritmen dette som Inspiser. Neogen anbefaler brukeren å gjenta testen for alle «Inspiser»-prøver. Dersom resultatet fortsatt er «Inspiser», fortsett til bekreftelsestesten og bruk av din foretrukne metode eller som oppgitt av lokale forskrifter[1,2].

Vedlegg A. Avbrytelse av protokoll: Oppbevaring og ny testing av varmebehandlede lysater

1. Lukk igjen Neogen lyseringsoppløsningsrøret med et rent lokk for å oppbevare et varmebehandlet lysat (se del 4.5 Lysering).
2. Oppbevar ved 2 til 8 °C i opptil 72 timer.
3. Bland en oppbevart prøve ved å vende den 2-3 ganger for å preparere den for amplifikasjon.
4. Åpne rørene.
5. Plasser de blandede lysatrørene på Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon og varm ved 100 ± 1 °C i 5 ± 1 minutter.
6. Fjern stativet med Neogen lyseringsoppløsningsrør fra Neogen Varmeblokkinnsats for molekylær deteksjon og la det avkjøles i Neogen Kjøleblokkinnsats for molekylær deteksjon i minst 5 minutter og maksimum 10 minutter.
7. Se delen **Amplifikasjon** beskrevet ovenfor for å fortsette protokollen.

Referanser:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Kontakt din Neogen Food Safety-representant for å få en kopi av dette dokumentet.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Symbolforklaring

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Tuoteseloste

Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter*

Tuotteen kuvaus ja käyttötarkoitus

Neogen® Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* on tarkoitettu käytettäväksi yhdessä Neogen® molekyläärisen testijärjestelmän kanssa *Campylobacter jejuni-*, *Campylobacter lari-* ja *Campylobacter coli* -bakteerien nopeaan ja täsmälliseen tunnistamiseen rikastetuista elintarvikenäytteistä ja elintarvikevalmistuksen ympäristönäytteistä.

Neogen Molecular Detection Testipakkaus perustuu nukleiinihapposekvenssien nopeaan, täsmälliseen ja herkkään silmukkavälitteiseen isotermiseen monistamismenetelmään (loop-mediated isothermal amplification, LAMP) ja käyttää monistuksen havaitsemiseen bioluminesenssia. Oletetut positiiviset tulokset ilmoitetaan reaaliaikaisesti, kun taas negatiiviset tulokset näytetään testin valmistumisen jälkeen. Oletetut positiiviset tulokset on vahvistettava käyttämällä itse parhaaksi katsottua tai paikallisten määräysten mukaista menetelmää[1,2].

Neogen Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* on tarkoitettu laboratoriotekniikoihin koulutettujen ammattilaisten käytettäväksi laboratorioympäristössä. Neogen ei ole osoittanut tuotetta käytettäväksi muilla kuin elintarvike- ja juomateollisuuden aloilla. Neogen ei esimerkiksi ole osoittanut tuotetta lääke- tai kosmetiikkanäytteiden testaamiseen eikä kliinisten tai eläinlääketieteellisten näytteiden testaamiseen. Neogen Molecular Detection Testipakkausta 2 – *Campylobacter* ei ole arvioitu kaikkien mahdollisten elintarviketuotteiden, elintarvikeprosessien tai testauskäytäntöjen suhteen eikä kaikkien mahdollisten bakteerikantojen suhteen.

Kuten kaikkien testausmenetelmien tapauksessa, rikastusalustan lähde, koostumus ja laatu voivat vaikuttaa tuloksiin. Esimerkiksi näytteenottomenetelmät, testausprotokollat, näytteiden valmistelu, käsittely ja laboratoriotekniikka saattavat myös vaikuttaa tuloksiin. Neogen suosittelee menetelmän sekä rikastusalustan arviointia käyttäjän ympäristössä käyttäen riittävän suurta näytemäärää ja tiettyjä elintarvikenäytteitä ja mikrobisisältöjä sen varmistamiseksi, että menetelmät vastaavat käyttäjän vaatimuksia.

Neogen on arvioinut Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 – *Campylobacter* Neogen® *Campylobakteeri* Rikastusliemellä ja verettömällä Bolton-rikastusliemellä.

Neogen® Molekyläärinen testi-instrumentti on tarkoitettu käytettäväksi sellaisten näytteiden kanssa, jotka on lämpökäsitelty testin lyysivaiheen aikana näytteessä olevien organismien tuhoamiseksi. Jos näytteitä ei ole asianmukaisesti lämpökäsitelty testin lyysivaiheen aikana, ne saattavat muodostaa biologisen vaaratekijän, jolloin niitä EI saa asettaa Neogen Molekyläariseen testi-instrumenttiin.

Neogen Food Safety -osaston suunnittelu- ja valmistusmenetelmät on ISO (International Organization for Standardization) 9001 -sertifioitu.

Neogen Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* sisältää 96 testiä, jotka on kuvattu taulukossa 1.

Taulukko 1. Neogen Molecular Detection Testipakkauksen osat

Nimike	Tunnusmerkki	Määrä	Sisältö	Kommentit
Neogen® Lyysiliuos (LS)	Vaaleanpunainen liuos läpinäkyvissä putkissa	96 (12 kpl 8 putken liuskoja)	580 µl lyysiliuosta/ putki	Telineessä ja käyttövalmis
Neogen® Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* -reagenssiputket	Violetit putket	96 (3 pussia; sisältävät 4 nauhaa, joissa jokaisessa 8 putkea)	Lyofilisoitu spesifi monistus- ja tunnistusyhdistelmä	Käyttövalmis
Lisäsuojukset	Violetit korkit	96 (12 kpl 8 suojuksen liuskoja)		Käyttövalmis
Neogen® Reagenssin valvonta (RC)	Läpinäkyvät flip-top-putket	16 (2 pussia, joissa kummassakin 8 yksittäistä putkea)	Lyofilisoitu kontrolli-DNA, monistus- ja tunnistusyhdistelmä	Käyttövalmis

Negatiivisena kontrollina (NC), jota ei toimiteta paketissa, käytetään steriiliä rikastusainetta, kuten Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä. Älä käytä vettä negatiivisena kontrollina.

Pikaopas on saatavilla osoitteesta www.neogen.com

Turvallisuus

Käyttäjän on luettava ja ymmärrettävä kaikki Neogen Molekylääristä testijärjestelmää ja Neogen Molecular Detection Testipakkausta 2 – *Campylobacter* koskevat turvallisuusohjeet ja noudatettava niitä. Säilytä turvallisuusohjeet myöhempää käyttöä varten.

⚠ **VAROITUS:** Osoittaa vaarallisen tilanteen, joka saattaa johtaa kuolemaan tai vakavaan loukkaantumiseen ja/tai omaisuusvahinkoon, jos tilannetta ei vältetä.

HUOMAUTUS: Osoittaa mahdollisesti vaarallisen tilanteen, joka saattaa johtaa aineelliseen vahinkoon, jos tilannetta ei vältetä.

⚠ VAROITUS

Älä käytä Neogen Molecular Detection Testipakkausta 2 – *Campylobacter* ihmisten tai eläinten diagnosointiin.

Käyttäjän on järjestettävä henkilökunnalleen koulutusta asianmukaisista testausmenetelmistä, joita ovat esimerkiksi: hyvät laboratoriokäytännöt[3], ISO/IEC 17025[4] tai ISO 7218[5].

Väärien negatiivisten tulosten vuoksi markkinoille voi päästä kontaminoituneita tuotteita. Voit vähentää tähän liittyviä riskejä toimimalla seuraavasti:

- Noudata käytäntöä ja tee testit täsmälleen tuoteselosteessa esitetyllä tavalla.
- Säilytä Neogen Molecular Detection Testipakkausta 2 – *Campylobacter* pakkausmerkintöjen ja tuoteselosteen mukaan.
- Käytä Neogen Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* aina ennen viimeistä käyttöpäivää.
- Valmista Neogen® *Campylobakteeri* Rikastusliemi seuraavan tuoteselosteen mukaan
- Älä autoklavoi Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä
- Käytä Neogen Molecular Detection Testipakkausta 2 – *Campylobacter* sellaisiin ympäristönäytteisiin, jotka on validoitu sisäisesti tai ulkopuolisen tahon toimesta.
- Käytä Neogen Molecular Detection Testipakkausta 2 – *Campylobacter* vain sellaisten pintojen, puhdistusaineiden, käytäntöjen ja bakteerikantojen kanssa, jotka on hyväksytty sisäisesti tai kolmannen osapuolen toimesta.
- Laimenna ympäristönäytteet, joissa käytetään aryylisulfonaattikompleksia sisältävää neutraloivaa puskuria, suhteessa 1:2 ennen testausta (1 osa näytettä 1 osaan steriiliä rikastusliuosta). Toinen vaihtoehto on siirtää 10 µl neutraloivaa puskuririkastusliuosta Neogen-lyysiliuosputkiin. Neogen®-näytteiden käsittelytuotteet, jotka sisältävät aryylisulfonaattikompleksia sisältävää neutraloivaa puskuria, ovat seuraavat: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G ja HS2410NB2G.

Kemikaaleille ja biologisille vaaratekijöille altistumiseen liittyvien riskien vähentäminen:

- Testaa taudinaiheuttajat asianmukaisesti varustetussa laboratoriossa koulutetun henkilöstön valvonnassa. Inkuboitu rikastusaine ja laitteet tai pinnat, jotka ovat joutuneet kosketuksiin inkuboidun rikastusaineen kanssa, saattavat sisältää taudinaiheuttajia määrän, joka riittää aiheuttamaan vaaran ihmisten terveydelle.
- Noudata aina laboratorioiden vakioturvallisuuskäytäntöjä, joihin kuuluu asianmukaisten suojavaatteiden ja silmäsuojainten käyttäminen reagensseja ja kontaminoituja näytteitä käsiteltäessä.
- Vältä kosketusta rikastusalustan ja reagenssiputkien sisällön kanssa monistuksen jälkeen.
- Hävitä rikastetut näytteet voimassa olevien paikallisten, alueellisten tai kansallisten määräysten mukaisesti.
- Jos näytteitä ei ole asianmukaisesti lämpökäsitelty testin lyysivaiheen aikana, ne saattavat muodostaa biologisen vaaratekijän, jolloin niitä EI saa asettaa Neogen Molekylääriseen testi-instrumenttiin.

Testisetin valmistelun aikana tapahtuvaan ristikontaminaatioon liittyvien riskien vähentäminen:

- Käytä aina suojakäsineitä (käyttäjän suojaamiseksi ja nukleaasien siirtymisen estämiseksi).

Jotta voit vähentää kuumille nesteille altistumisesta aiheutuvia riskejä, noudata seuraavia ohjeita:

- Älä ylitä lämmityslaitteeseen merkittyä suositeltua lämpötila-asetusta.
- Älä ylitä suositeltua kuumennusaikaa.
- Tarkasta Neogen® Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeen lämpötila tarkoituksenmukaisella kalibroidulla lämpömittarilla (esim. osittain upotettavalla lämpömittarilla tai digitaalisella termoparimittarilla, ei kokonaan upotettavalla lämpömittarilla). Lämpömittari on asetettava sille määrättyyn paikkaan Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeessa.

HUOMAUTUS

Testisetin valmistelun aikana tapahtuvaan ristikontaminaatioon liittyvien riskien vähentäminen:

- Vaihda käsineet ennen reagenssipelletin kastelemista.
- Steriilien aerosoliesteen muodostavien molekyylibiologiaan soveltuvaa laatua olevien pipetinkärkien (suodatinkärkien) käyttö on suositeltavaa.
- Käytä jokaisen näytteen siirtämiseen uutta pipetinkärkeä.

- Käytä näytteiden siirtämiseen rikastamisesta lyysiputkeen hyviä laboratoriokäytäntöjä. Pipetoijan kontaminoitumisen välttämiseksi käyttäjä voi halutessaan lisätä ylimääräisen siirtovaiheen. Jokaisen rikastetun näytteen voi esimerkiksi siirtää steriiliin putkeen.
- Jos mahdollista, käytä molekyylibiologista työasemaa, jossa on bakteerintuholamppu.
- Steriloi laboratorion työtasot ja välineet (pipetit, sulku- ja avaustyökalut jne.) säännöllisesti 1–5-prosenttisella (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuaineliuoksella tai DNA:n poistoliuoksella.

Vähennä vääriin positiivisiin tuloksiin liittyviä riskejä toimimalla seuraavasti:

- Älä koskaan avaa reagenssiputkia monistuksen jälkeen.
- Hävitä kontaminoituneet putket aina liottamalla niitä 1–5-prosenttisessa (veteen laimennetussa) valkaisuaineliuoksessa 1 tunnin ajan etäällä testin valmistelualueelta.
- Älä koskaan autoklavoi reagenssiputkia monistuksen jälkeen.

Katso lisätietoja hävittämisestä ja paikallisista määräyksistä käyttöturvallisuustiedotteesta.

Jos sinulla on jotain tiettyä sovellusta tai menetelmää koskevia kysymyksiä, käy verkkosivuillamme osoitteessa www.neogen.com tai ota yhteyttä paikalliseen Neogen-edustajaan tai -jälleenmyyjään.

Käyttäjän vastuu

Käyttäjän vastuulla on tutustua tuoteselosteeseen ja -tietoihin. Lisätietoja saat verkkosivustolla osoitteesta **www.neogen.com** tai ottamalla yhteyttä paikalliseen Neogen-edustajaan tai -jälleenmyyjään.

Testausmenetelmää valitessa on tärkeää ottaa huomioon, että ulkoiset tekijät, kuten näytteenottomenetelmät, testausprotokollat, näytteiden valmistus, käsittely, laboratoriotekniikat ja itse näyte voivat vaikuttaa testaustuloksiin.

Käyttäjä on aina testausmenetelmää valitessaan vastuussa siitä, että hän arvioi riittävän määrän näytteitä kyseisistä elintarvikkeista ja mikrobialtistuksista käyttäjän kriteerien täyttymisen varmistamiseksi.

Käyttäjän vastuulla on myös varmistaa, että testausmenetelmät ja tulokset täyttävät hänen asiakkaidensa tai toimittajiensa vaatimukset.

Kuten kaikkien testausmenetelmien kohdalla, minkä tahansa Neogen Food Safety -tuotteen käytöstä saavutetut tulokset eivät ole takuu matriisien tai testattujen prosessien laadusta.

Voidakseen auttaa erilaisten elintarvikematriisien arvioinnissa Neogen on kehittänyt Neogen® Molekyläärisen testitaulukon valvontapakkauksen. Määritä tarvittaessa Neogen Molekyläärisen testitaulukon hallinnan avulla, vaikuttaako matriisi Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 – *Campylobakteeri* tuloksiin. Testaa validointivaiheiden aikana useita matriisia edustavia näytteitä, ts. eri lähteistä saatuja näytteitä, kun olet ottamassa käyttöön Neogen-menetelmää tai kun olet testaamassa uusia tai tuntemattomia matriiseja tai matriiseja, joiden raaka-aineita tai valmistustapoja on muutettu.

Matriisi voidaan määrittää tuotetyypiksi, jolla on sisäisiä ominaisuuksia, kuten koostumus ja valmistustapa. Matriisien väliset erot voivat johtua niinkin yksinkertaisista tekijöistä kuin eroista niiden käsittelyssä tai jalostusasteessa, esim. raaka tai pastöroitu, tuore tai kuivattu.

Takuun rajoitus / rajoitettu korvausvelvollisuus

NEOGEN KIISTÄÄ KAIKKI NIMENOMAISET JA EPÄSUORAT TAKUUT, MUKAAN LUKIEN KAIKKI TAKUUT KÄYPYYDESTÄ TAI SOPIVUUDESTA TIETTYYN KÄYTTÖTARKOITUKSEEN, PAITSI JOS TUOTEPAKKAUKSEN TAKUUOSIOSSA TOISIN MAINITAAN. Jos mikä tahansa Neogen Food Safety -tuote on viallinen, Neogen tai sen valtuutettu jälleenmyyjä joko korvaa tuotteen tai palauttaa sen ostohinnan. Nämä ovat ainoat myönnetyt korvaukset. Käyttäjän on ilmoitettava Neogen:lle viipymättä kuudenkymmenen päivän sisällä kaikista epäillyistä tuotevirheistä ja palautettava tuote Neogen:lle. Ota yhteyttä Neogen-edustajaasi tai valtuutettuun Neogen-jälleenmyyjään, jos sinulla on kysyttävää.

NEOGEN EI OLE VASTUUSSA MENETYKSISTÄ TAI VAHINGOISTA, OLIVAT NE SITTEN SUORIA, EPÄSUORIA, ERITYISLAATUISIA, SATUNNAISIA TAI VÄLILLISIÄ, MUKAAN LUKIEN VOITONMENETYKSET. Missään tapauksessa Neogen:n vastuu ei minkään laillisen perusteen mukaan ole suurempi kuin vialliseksi väitetyn tuotteen hinta.

Säilytys ja hävittäminen

Säilytä Neogen Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* 2–8 °C:n (35–47 °F) lämpötilassa. Suojattava jäätymiseltä. Säilytä paketti valolta suojattuna. Kun olet avannut paketin, tarkista, että foliopussi on ehjä. Ei saa käyttää, jos pussi on vahingoittunut. Avaamisen jälkeen käyttämättömät reagenssiputket on aina säilytettävä uudelleensuljettavassa pussissa, jonka sisällä on kuivausainetta lyofilisoitujen reagenssien stabiliteetin ylläpitämiseksi. Säilytä uudelleensuljettuja pusseja 2–8 °C:n (35–47 °F) lämpötilassa enintään 90 päivän ajan.

Älä käytä Neogen Molecular Detection Testipakkausta 2 – *Campylobacter* viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Viimeinen käyttöpäiväys ja eränumero on merkitty pakkauksen ulkopuolelle. Käytön jälkeen rikastusaine ja Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 – *Campylobacter* putket voivat sisältää mahdollisesti patogeenisia aineita. Kun testi on suoritettu loppuun, noudata saastuneen jätteen hävittämisessä alan nykykäytäntöjä. Katso lisätietoja hävittämisestä ja paikallisista määräyksistä käyttöturvallisuustiedotteesta.

Käyttöohjeet

Noudata huolellisesti kaikkia ohjeita. Jos ohjeita ei noudateta, tulokset saattavat olla epätarkkoja.

Steriloi laboratorion työtasot ja välineet (pipetit, sulku- ja avaustyökalut jne.) säännöllisesti 1–5-prosenttisella (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuaineliuoksella tai DNA:n poistoliuoksella.

Käyttäjän on suoritettava Neogen Molekyläärisen testijärjestelmän käyttäjäkoulutus, kuten asiakirjassa ”Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System”[6] kuvataan.

Aineen valmistus

Valmista Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemi (CE250) seuraavan tuoteselosteen mukaan. **Älä autoklavoi ainetta ennen käyttöä.** Käytä valmistettu aine vähintään 24 tunnin kuluessa valmistuksesta. Säilytä valmistettua lientä 2–8 °C:ssa[7] ja suojattuna valolta, jos sitä ei käytetä heti valmistamisen jälkeen. Varmista, että aine on lämmennyt 20–30 °C:seen ennen käyttöä.

Näytteen ottaminen

Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä ei tule käyttää lintujen huuhteluun tai kuljetusaineena. Kerää ja kuljeta näytteet vakiintuneiden näytteenkeräystoimenpiteidesi mukaisesti.

Näytteiden rikastus

Taulukossa 2 on yleisten rikastuskäytäntöjen ohjeet elintarvike- ja ympäristönäytteille.

Käyttäjän vastuulla on vahvistaa vaihtoehtoisten näytteenottokäytäntöjen ja laimennussuhteiden soveltuvuus sen varmistamiseksi, että testimenetelmä vastaa käyttäjän kriteereitä.

Näytteen valmistus

a. Ruhojen huuhtelut ja raakojen siipikarjaosien huuhtelut

1. Huuhtele yksi raaka siipikarjan ruho, josta sisäelimet on poistettu, 400 ml:lla puskuroitua peptonivettä (BPW) yhden minuutin ajan. Jos huuhtelet raakoja siipikarjanosia, huuhtele 1,8–2 kg (4 lb ± 10 %) linnun osia 400 ml:lla BPW:tä[1,8].
2. Ruhojen ja raakojen siipikarjaosien tapauksessa salli ylimääräisen nesteen tippua ennen näytteen huuhtelua, jotta ylimääräinen käsittelyneste ei siirry näytepussiin[8].
3. Jos siipikarja on käsitelty setyylipyridiniumkloridilla (CPC), on näytteeseen lisättävä 5 ml polysorbaatti 80:a per l (IUPAC: Sorbitaanimono-oleaatti, etoksiloitu (20); CAS 9005-65-6) valmistettua Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä. Polysorbaatti 80 voidaan lisätä veteen ennen sterilointia helpottamaan liukenemista tai se voidaan lisätä suoraan steriiliin veteen ennen Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemen valmistamista.
4. Siirrä aseptisesti 30 ml huuhtelunestettä steriiliin pussiin ja lisää 30 ml Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä.

b. Ruhosieni

1. Sienet tulisi kosteuttaa ennen näytteen ottamista korkeintaan 25 ml:lla BPW:tä[1]. Jos näytteitä kuljetetaan, varmista, että pussit on rullattu alas ja että ne säilytetään 2–8 °C:ssa.
2. Ota näyte siipikarjan ruhosta tai kerää näyte sienellä.
3. Aseta näyte steriiliin pussiin ja lisää 25 ml Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä. Varmista, että tossu tai sieni on päällystetty rikastusliemellä.

c. Raa’at siipikarjatuotteet

1. Punnitse aseptisesti 325 ± 32,5 g näytettä ja aseta se steriiliin pussiin. Lisää 1625 ± 32,5 ml BPW:tä raakaan siipikarjatuotteeseen. Hajauta rykelmät sekoittamalla huolellisesti käsin puristelemalla.
2. Lisää sekoittamisen jälkeen 30 ml raa’an siipikarjatuotteen seosta steriiliin pussiin ja lisää sen jälkeen 30 ml Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä ja sekoita huolellisesti.

d. Raaka ja syöntivalmis liha

1. Punnitse aseptisesti 25 g näytettä ja aseta se steriiliin pussiin. Suodatinpussia suositellaan näytteenoton helpottamiseksi.

2. Lisää 225 ml Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä.
3. Puristele käsin rykelmät rikki ja vältä kuplien syntyminen sekoittamisen aikana. Älä käsittele pussia vatsakäsittelyllä tai tehosekoittimilla.

e. Ensisijaisen tuotannot tossunäytteet

1. Kerää näyte tossuilla tai sukilla noudattaen vakiintuneita näytteenottoprosesseja.
2. Aseta YKSI sukka steriiliin pussiin ja lisää 100 ml Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä.

f. Pyyhkäisynäyte

1. Kerää näyte esikostetulla näytteenottolaitteella noudattaen vakiintuneita näytteenottoprosesseja.
2. Aseta näyte steriiliin pussiin ja lisää 100 ml Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä.

Rikastuksen inkubaatio

1. Rullaa pussia kiinni minimoidaksesi ylimääräisen tilan ja välttääksesi rikastuksen altistumisen ilmalle. Puristele pussia hellävaroen noin 10 ± 2 sekunnin ajan. **Älä käsittele pussia vatsakäsittelyllä tai tehosekoittimilla ja vältä kuplien muodostamista sekoittamisen aikana.**
2. Inkuboi pussia aerobisesti 41,5 ± 1 °C:ssa, katso taulukosta 2 sopivat inkubaatioajat.

VAROITUS: Mikäli päätät käyttää sienen hydratointiliuoksena aryylisulfonaattikompleksia sisältävää neutraalia puskuria, rikastettu ympäristönäyte on laimennettava suhteessa 1:2 (1 osa näytettä 1 osaan steriiliä rikastusliuosta) ennen testausta sellaisten väärien negatiivisten tulosten riskien vähentämiseksi, joiden vuoksi markkinoille voi päästä kontaminoituneita tuotteita. Toinen vaihtoehto on siirtää 10 µl neutraloivaa puskuririkastusliuosta Neogen-lyysiliuosputkiin.

Käyttäjän vastuulla on vahvistaa vaihtoehtoisten näytteenottokäytäntöjen ja laimennussuhteiden soveltuvuus sen varmistamiseksi, että testimenetelmä vastaa käyttäjän kriteereitä.

Taulukko 2. Yleiset rikastuskäytännöt.

Näytematriisi	Näytteen koko	Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemi (ml)[b]	Rikastuslämpötila (± 1 °C)	Rikastusaika (h)	Näytteen analyysitilavuus (µl)[c]
• Ruhohuuhtelut[a] • Lintujen osien huuhtelut[a]	30 ml puhdistukseen käytettyä vettä BPW:ssä	30	41,5	22–26	20
• Ruhosieni[a]	1 sieni, joka on esikosteutettu korkeintaan 25 ml:lla BPW:tä	25	41,5	22–26	20
• Raaka liha • Syöntivalmis liha	25 g	225	41,5	24–28	20
• Tossunäytteet ensisijaisesta tuotannosta	1 tossunäyte	100	41,5	22–26	20
• Pyyhkäisynäyte ensisijaisesta tuotannosta	1 esikosteutettu laite	100	41,5	22–26	20

(a) Jos linnut on käsitelty setyylipyridiniumkloridilla (CPC), on näytteeseen lisättävä 5 ml polysorbaatti 80:a per l (IUPAC: Sorbitaanimono-oleaatti, etoksiloitu (20); CAS 9005-65-6) valmistettua Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä. Polysorbaatti 80 voidaan lisätä veteen ennen sterilointia tai se voidaan lisätä steriiliin veteen ennen Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemen valmistamista.

(b) Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemi tulee käyttää 24 tunnin kuluessa valmistuksesta. Aineen tulisi olla huoneenlämpöistä (25–30 °C) ennen käyttöä.

(c) Ennen kuin keräät rikastusnäytteen analyysia varten, puristele pussin pohjaa hellävaroen. **Kun olet ottanut näytteen, rullaa pussia kiinni välttääksesi rikastuksen altistumisen ilmalle.** Lisänäytettä saatetaan vaatia uusintatestausta tai vahvistusvaiheita varten.

Erikoisohjeet validoituja menetelmiä varten

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) -sertifikaatti nro 111803

Tutkimuslaitos AOAC:n PTM℠-ohjelmissa Neogen Molekulaarinen Testipakkaus 2 – *Campylobacter* todettiin tehokkaaksi *Campylobakteerin* havaitsemismenetelmäksi. Tutkimuksessa testatut matriisit näkyvät taulukossa 3.

Taulukko 3. AOAC PTM℠ -sertifikaatin nro 111803 mukaiset rikastuskäytännöt.

Näytematriisi	Näytteen koko	Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemi (ml)[c]	Rikastuslämpötila (± 1 °C)	Rikastusaika (h)	Näytteen analyysitilavuus (µl)[d]
Koko ruho huuhdellaan 400 ml:lla BPW:tä[a] [b]	30 ml puhdistukseen käytettyä vettä BPW:ssä	30	41,5	22–26	20
Linnun osa (1,8–2 kg) huuhdellaan 400 ml:lla BPW:tä[a] [b]	30 ml puhdistukseen käytettyä vettä BPW:ssä	30	41,5	22–26	20
Kalkkunan ruhosieni[a] [b]	1 sieni, joka on esikosteutettu korkeintaan 25 ml:lla BPW:tä	25	41,5	24-26	20
Raaka siipikarjan jauheliha (325 ± 32,5 g) huuhdellaan 1625 ± 32,5 ml:lla BPW:tä[b]	30 ml tuote-seosta BPW:ssä	30	41,5	24–28	20
Kananuggetit	25 g	225	41,5	24–28	20

(a) Jos linnut on käsitelty setyylipyridiniumkloridilla (CPC), on näytteeseen lisättävä 5 ml polysorbaatti 80:a per l (IUPAC: Sorbitaanimono-oleaatti, etoksiloitu (20); CAS 9005-65-6) valmistettua Neogen *Campylobakteeri* Rikastuslientä. Polysorbaatti 80 voidaan lisätä veteen ennen sterilointia tai se voidaan lisätä steriiliin veteen ennen Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemen valmistamista.

(b) Vaihtoehtoisesti tämä matriisi voidaan rikastaa 30 ml:lla 2X veretöntä Bolton-rikastuslientä (BF-BEB) 48 ± 2 h:n ajan 42 ± 1,0 °C:ssa mikroaerobisissa olosuhteissa. Siirrä 20 µl näytettä Neogen Lyysiliuosputkeen.

(c) Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemi tulee käyttää 24 tunnin kuluessa valmistuksesta. Aineen tulisi olla huoneenlämpöistä (25–30 °C) ennen käyttöä.

(d) Ennen kuin keräät rikastusnäytteen analyysia varten, puristele pussin pohjaa hellävaroen. **Kun olet ottanut näytteen, rullaa pussia kiinni välttääksesi rikastuksen altistumisen ilmalle.** Lisänäytettä saatetaan vaatia uusintatestausta tai vahvistusvaiheita varten.

Neogen® Molekyläärisen testinopeuden latausalustan valmistelu

1. Kostuta liina tai kertakäyttöinen liina 1–5-tilavuusprosenttisella (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuliuoksella ja pyyhi Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalusta.
2. Huuhtele Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalusta vedellä.
3. Pyyhi Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalusta kuivaksi kertakäyttöisellä liinalla.
4. Varmista ennen käyttöä, että Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalusta on kuiva.

Neogen® Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistokkeen valmistelu

Aseta Neogen Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistoke suoraan laboratorion työtasolle: Neogen Molekyläärisen testijäähdytyslohkon alustaa ei käytetä. Käytä lohkoa laboratorion tavallisessa lämpötilassa (20–25 °C).

Neogen® Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeen valmistelu

Aseta Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistoke kaksilohkoiseen kuivalämmityslaitteeseen. Kytke kuivalohkolämmitin päälle, aseta lämpötila ja anna Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeen lämmetä 100 ± 1 °C:n lämpötilaan niin, että saavutettu lämpötila pysyy samana.

HUOMAUTUS: Anna Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeen lämmetä asetuslämpötilaan noin 30 minuuttia lämmityslaitteen mukaan. Varmista tarkoituksenmukaisen kalibroidun lämpömittarin avulla (esim. osittain upotettava lämpömittari tai digitaalinen termoparimittari, ei kokonaan upotettava lämpömittari), joka on asetettu sille määrättyyn paikkaan, että Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeen lämpötila on 100 ± 1 °C.

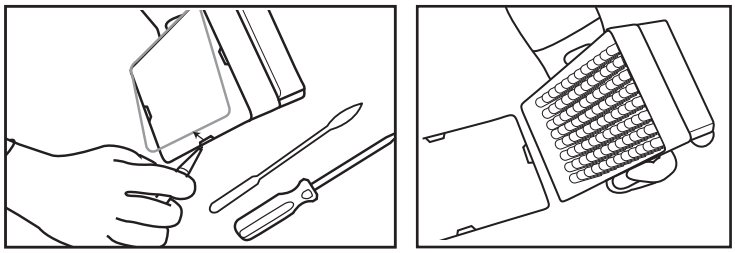
Neogen® Molekyläärisen testi-instrumentin valmistelu

1. Käynnistä Neogen® Molekyläärisen testijärjestelmän ohjelmisto ja kirjaudu sisään. Varmista Neogen Food Safety -edustajaltasi, että käytössäsi on ohjelmiston uusin versio.
2. Kytke Neogen Molekyläärinen testi-instrumentti päälle.
3. Luo tai muokkaa ajo kunkin näytteen tiedoille. Katso tarkemmat tiedot Neogen Molekyläärisen testijärjestelmän käyttöoppaasta.

HUOMAUTUS: Neogen Molekyläärisen testi-instrumentin on saavutettava Valmis-tila ennen Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalustan ja reaktioputkien asettamista laitteeseen. Lämmitysvaihe kestää noin 20 minuuttia, ja sen merkiksi instrumentin tilarivillä palaa ORANSSI valo. Kun instrumentti on valmis ajon käynnistämistä varten, tilarivin valo muuttuu VIHREÄKSI.

Lyysi

Poista Neogen Lyysiliuostelineen pohja ruuvimeisselillä ennen kuin asetat sen Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeeseen.

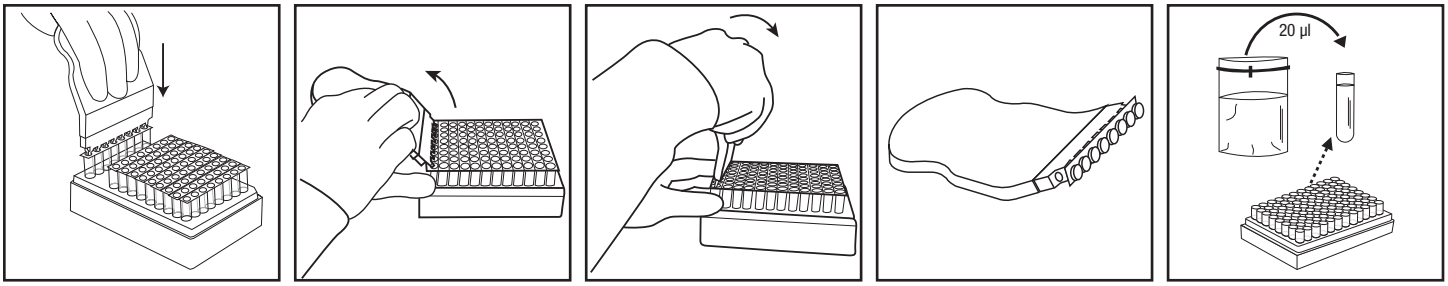


1. Anna Neogen Lyysiliuosputkien lämmetä jättämällä teline huoneenlämpöön (20–25 °C) yön yli (16–18 tunnin ajaksi). Neogen Lyysiliuosputket voi lämmittää huoneenlämpöön myös asettamalla ne laboratorion työtasolle vähintään 2 tunniksi, inkuboimalla Neogen Lyysiliuosputkia inkubaattorissa 37 ± 1 °C:ssa 1 tunnin ajan tai asettamalla Neogen Lyysiliuosputket kaksilohkoiseen kuivalämmittimeen 100 °C:n lämpötilaan 30 sekunniksi.
2. Sekoita suljetut putket kääntämällä ne ylösalaisin. Siirry seuraavaan vaiheeseen 4 tunnin kuluessa kääntämisestä.
3. **Poista rikastettu näyte inkubaattorista.**
   3.1.1 Puristele rikastuspussin pohjaa hellävaroen ennen kuin siirrät näytteen Neogen Lyysiliuosputkeen.
   3.1.2 Lisänäytettä saatetaan vaatia uusintatestausta tai vahvistusvaiheita varten. Kun olet ottanut näytteen, rullaa pussia kiinni minimoidaksesi ylimääräisen tilan ja välttääksesi rikastuksen altistumisen ilmalle. Jos oletettujen tulosten vahvistusta vaaditaan, suorita vahvistusvaiheet heti, kun oletetut tulokset on saatu.
4. Jokaiselle näytteelle ja negatiiviselle kontrollinäytteelle (steriili rikastusaine) tarvitaan yksi Neogen Lyysiliuosputki.
   4.1 Neogen Lyysiliuos-putkiliuskat voidaan leikata haluttuun putkimäärään. Valitse tarvittava määrä putkia tai 8 putken nauhoja. Aseta Neogen Lyysiliuosputket tyhjään telineeseen.
   4.2 Ristikontaminaation välttämiseksi poista suojus yhdestä Neogen Lyysiliuosputkiliuskasta kerrallaan ja käytä jokaiseen siirtovaiheeseen uutta pipettiä.
   4.3 Siirrä rikastettu näyte Neogen Lyysiliuosputkiin seuraavien ohjeiden mukaisesti:

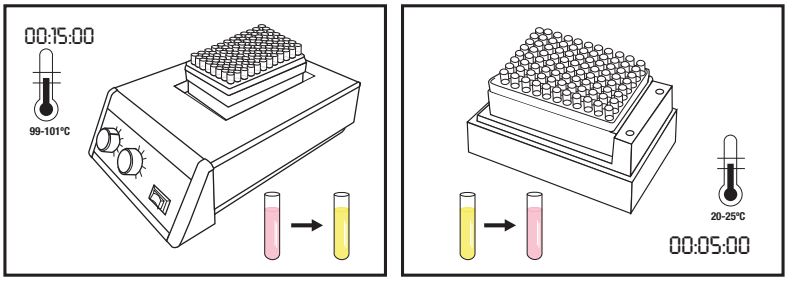
   Siirrä jokainen rikastettu näyte **ensin** erilliseen Neogen Lyysiliuosputkeen. Siirrä negatiivinen kontrolli (NC) **viimeiseksi**.

   4.4 Käytä Neogen® Molekyläärisen testin cap/decap-työkalua – Lysis yhden Neogen Lyysiliuosputkiliuskan avaamiseen. Avaa yksi liuska kerrallaan.
   4.5 Heitä Neogen Lyysiliuosputken suojus pois - jos lysaatti säilytetään uudelleentestausta varten, laita suojukset puhtaaseen astiaan lyysin jälkeistä uudelleenkäyttöä varten.
   4.5.1 Säilytetyn lysaatin käsittelyyn liittyvät ohjeet ovat liitteessä A.
   4.6 Siirrä 20 µl näytettä Neogen Lyysiliuosputkeen.

5. Toista tarvittaessa vaiheet 4.4–4.6 testattavien näytteiden määrän mukaan.



6. Kun kaikki näytteet on siirretty, siirrä 20 µl negatiivista kontrollia (steriiliä rikastusainetta, esim. puskuroitua peptonivettä, BPW) Neogen Lyysiliuosputkeen. Älä käytä vettä negatiivisena kontrollina.
7. Varmista, että Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeen lämpötila on 100 ± 1 °C.
8. Aseta peittämätön Neogen Lyysiliuosputkiteline Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeeseen ja kuumenna 15 ± 1 minuuttia. Kuumennuksen aikana Neogen Lyysiliuoksen väri muuttuu vaaleanpunaisesta (viileä) keltaiseksi (kuuma).
   8.1 Jos näytteitä ei ole asianmukaisesti lämpökäsitelty testin lyysivaiheen aikana, ne saattavat muodostaa biologisen vaaratekijän, jolloin niitä EI saa asettaa Neogen Molekyläärisen testi-instrumenttiin.
9. Poista peittämätön Neogen Lyysiliuosputkiteline Neogen Molekyläärisestä lämmityslohkosta ja anna sen viilentyä Neogen Molekyläärisessä testijäähdytyslohkon pistokkeessa vähintään 5 minuuttia ja enintään 10 minuuttia. Neogen Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistoke, jota käytetään ympäristön lämpöisenä ilman Neogen® Molekyläärisen testijäähdytyslohkon alustaa, asetetaan suoraan laboratorion työtasolle. Viileänä Neogen-lyysiliuoksen väri palaa vaaleanpunaiseksi.
10. Poista Neogen Lyysiliuosputkiteline Neogen Molekyläärisen testijäähdytyslohkon pistokkeesta.



Monistaminen

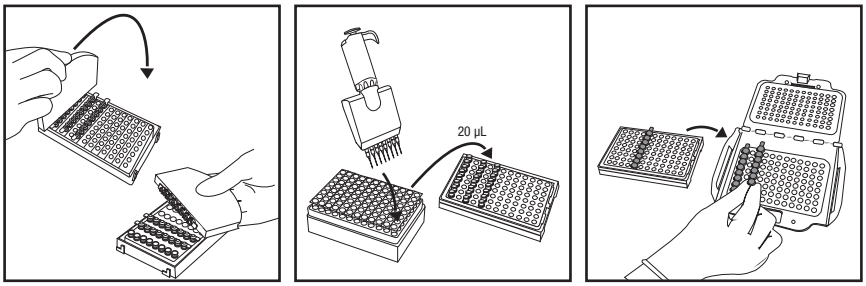
1. Jokaiselle näytteelle ja negatiiviselle kontrollinäytteelle tarvitaan yksi Neogen Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* -reagenssiputki.
   1.1 Putkiliuskat voidaan leikata haluttuun määrään putkia. Valitse tarvittava yksittäisten Neogen Molecular Detection Testipakkausten 2 – *Campylobacter* -reagenssiputkien tai 8 putken liuskojen määrä.
   1.2 Aseta putket tyhjään telineeseen.
   1.3 Vältä liikuttamasta reagenssipellettejä putkien pohjalta.
2. Valitse yksi Neogen Reagenssin valvontaputki ja aseta telineeseen.
3. Ristikontaminaation välttämiseksi poista suojus yhdestä Neogen Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* -reagenssiputkinauhasta kerrallaan ja käytä uutta pipetin kärkeä jokaisessa siirtovaiheessa.
4. Siirrä jokainen lysaatti Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 – *Campylobacter* -reagenssiputkeen ja Neogen Reagenssin valvontaputkeen seuraavasti:

Siirrä jokainen näytelysaatti yksittäiseen Neogen Molecular Detection Testipakkaus 2 – *Campylobacter* -reagenssiputkeen **ensin** ja sitten negatiivinen kontrolli. Hydratoi Neogen Reagenssin valvontaputki **viimeisenä**.

5. Avaa Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 *Campylobacter* -reagenssiputki käyttämällä Neogen® Molekyläärisen testin cap/decap-työkalua - Reagenssi. Avaa yksi putkiliuska kerrallaan. Heitä suojus pois.
   5.1 **Siirrä 20 µl näytelysaattia Neogen Lyysiliuosputkessa olevan nesteen ylemmästä puoliskosta (vältä sakkaa) vastaavaan Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 – *Campylobacter* -reagenssiputkeen. Annostele vinossa kulmassa, jotta et liikuta pellettejä. Sekoita pipetoimalla varovasti ylös ja alas 5 kertaa.**
   5.2 Toista vaihe 5.1, kunnes kaikki yksittäiset näytelysaatit on lisätty vastaavaan Neogen Molekulaarisen testipakkauksen 2 – *Campylobacter* -reagenssiputkeen liuskassa.
   5.3 Peitä Neogen Molekyläärisen testipakkauksen 2 – *Campylobacter* -reagenssiputket mukana toimitetuilla lisäsuojuksilla ja varmista, että ne ovat tiukasti paikoillaan painamalla niitä Neogen Molekyläärisen testin cap/decap-työkalun - Reagenssi pyöristetyllä puolella eteen- ja taaksepäin suuntautuvalla liikkeellä.

5.4 Toista tarvittaessa vaiheet 5.1–5.3 testattavien näytteiden määrän mukaan.
5.5 Kun kaikki näytelysaatit on siirretty, siirrä 20 µl negatiivista kontrollilysaattia Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 – *Campylobacter* -reagenssiputkeen toistamalla vaiheet 5.1–5.3.
5.6 Siirrä **20 µl negatiivista kontrollilysaattia Neogen Reagenssin valvontaputkeen**. Annostele vinossa kulmassa, jotta et liikuta pellettejä. Sekoita pipetoimalla varovasti ylös ja alas 5 kertaa.

6. Aseta suojuksella suljetut putket puhtaaseen ja steriloituun Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalustaan. Sulje ja lukitse Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalustan kansi.



7. Tarkasta ja vahvista määritetty ajo Neogen Molekyläärisen testijärjestelmän ohjelmistossa.
8. Napsauta ohjelmiston Start (Käynnistä) -painiketta ja valitse käytettävä instrumentti. Valitun instrumentin kansi aukeaa automaattisesti.
9. Aseta Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalusta Neogen Molekylääriseen testi-instrumenttiin ja aloita testi sulkemalla kansi. Saat tulokset 60 minuutin kuluessa, positiiviset tulokset saatetaan kuitenkin havaita jo aikaisemmin.
10. Kun testi on suoritettu loppuun, ota Neogen Molekyläärisen testinopeuden latausalusta Neogen Molekyläärisestä testi-instrumentista ja hävitä putket liottamalla niitä 1–5-prosenttisessa (veteen laimennetussa) talouskäyttöisessä valkaisuaineliuoksessa 1 tunnin ajan ja etäällä testin valmistelualueelta.

HUOMAUTUS: Jotta ristikontaminaation aiheuttamien väärien positiivisten riski olisi mahdollisimman pieni, älä koskaan avaa monistettua DNA:ta sisältäviä reagenssiputkia. Tämä koskee Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 – *Campylobacter* -reagenssiputkia, Neogen Reagenssin valvontaputkia ja Neogen Testitaulukon valvontaputkia. Hävitä tiiviisti suljetut reagenssiputket aina liottamalla niitä 1–5-tilavuusprosenttisella (veteen laimennetulla) talouskäyttöisellä valkaisuliuoksella 1 tunnin ajan ja etäällä testin valmistelualueelta.

Tulokset ja tulkinta

Algoritmi tulkitsee nukleiinihappojen monistuksen tunnistuksesta saatavaa valon sirontakäyrää. Ohjelmisto analysoi tulokset automaattisesti, ja tulokset värikoodataan tuloksen mukaan. Positiivinen tai negatiivinen tulos määritetään analysoimalla useita yksilöllisiä käyräparametreja. Oletetut positiiviset tulokset ilmoitetaan reaaliaikaisesti, kun taas negatiiviset ja tarkastettavat tulokset näytetään ajon valmistumisen jälkeen.

Oletetut positiiviset näytteet on vahvistettava laboratorion vakiotoimintamenetelmien mukaisesti tai noudattamalla asianmukaista vertailumenetelmää[1,2] aloittamalla näytteen siirrosta ensisijaisesta Neogen *Campylobakteeri* Rikastusliemestä valikoiviin *Campylobakteeri*-levyihin, joissa on mikroaerofiilinen inkubaatio, minkä jälkeen vahvistetaan isolaatit käyttämällä asianmukaisia biokemiallisia mikroskooppisia ja serologisia menetelmiä. Parhaat säilytystulokset rikasteelle saadaan, kun rikastuspussia rullataan alas näytteen ottamisen jälkeen.

HUOMAUTUS: Negatiivinenkaan näyte ei anna nollalukemaa, sillä järjestelmällä ja Neogen Molecular Detection Testipakkauksen 2 – *Campylobacter* monistusreagensseilla on tausta-RLU-lukema (suhteellinen valoyksikkö).

Joissain harvoissa tapauksissa valon sironta voi olla epätavallinen, jolloin algoritmi merkitsee sen tarkastettavaksi. Neogen suosittelee testin uusimista tarkastettavaksi merkittyjen näytteiden osalta. Jos tulokseksi tulee jatkuvasti Inspect, tee varmistustesti käyttämällä itse parhaaksi katsomaasi menetelmää tai paikallisten määräysten mukaista menetelmää[1,2].

Liite A. Käytännön keskeytys: Lämpökäsiteltyjen lysaattien säilyttäminen ja uudelleentestaus

1. Säilytä lämpökäsitelty lysaatti sulkemalla Neogen Lyysiliuosputki uudelleen puhtaalla suojuksella (katso Lyysi-osio, 4.5)
2. Säilytä 2–8 °C:ssa enintään 72 tuntia.
3. Valmistele säilytetty näyte monistamista varten kääntelemällä sitä 2–3 kertaa, jotta se sekoittuu.
4. Poista suojukset putkista.
5. Aseta sekoitetut lyysiputket Neogen Molekyläärisen testilämpölohkon pistokkeeseen ja kuumenna 100 ± 1 °C:ssa 5 ± 1 minuuttia.
6. Poista Neogen Lyysiliuosputkiteline Neogen Molekyläärisestä lämmityslohkosta ja anna sen viilentyä Neogen Molekyläärisessä testijäähdytyslohkon pistokkeessa vähintään 5 minuuttia ja enintään 10 minuuttia.
7. Jatka edellä olevasta kohdasta **Monistaminen**.

Viitteet:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. 1.8.2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Saat tämän asiakirjan kappaleen ottamalla yhteyttä Neogen Food Safety -edustajaasi.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. 20.9.2013.

Merkkien selitykset

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Instruções do produto

Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*

Descrição e uso recomendado do produto

O Neogen® Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* é usado com o Neogen® Sistema de Detecção Molecular para a detecção rápida e específica de *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* e *Campylobacter coli* em alimentos enriquecidos e amostras ambientais de processos de alimentos.

O Neogen Ensaio de Detecção Molecular utiliza amplificação isotérmica mediada por alça 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 enquanto os resultados negativos são exibidos após a conclusão do ensaio. Os resultados positivos presuntivos devem ser confirmados através do seu método preferido ou conforme especificado pelos regulamentos locais [1,2].

O Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* destina-se ao uso em ambiente laboratorial por profissionais treinados em técnicas laboratoriais. A Neogen não documentou o uso deste produto em outros setores que não o de alimentos e bebidas. Por exemplo, a Neogen não documentou este produto para testar amostras farmacêuticas, de cosméticos, clínicas ou veterinárias. O Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* não foi avaliado com todos os possíveis produtos e/ou processos alimentícios e protocolos de teste e nem com todas as linhagens de bactérias possíveis.

Como acontece em 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, preparação de amostras, manuseio e técnica de laboratório também podem influenciar os resultados. A Neogen recomenda a avaliação do método, incluindo 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 Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* com o Neogen® Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* e o Caldo de Enriquecimento Bolton isento de sangue.

O Neogen® Equipamento de Detecção Molecular destina-se ao uso com amostras que passaram por tratamento térmico durante a etapa de lise do ensaio, projetado para destruir organismos presentes na amostra. Amostras que não foram tratadas com aquecimento de forma adequada durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico potencial e NÃO devem ser inseridas no Neogen Equipamento de Detecção Molecular.

A Neogen Food Safety é certificada pela Organização Internacional de Normalização (ISO) 9001 para projeto e fabricação.

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

Tabela 1. Componentes do kit Neogen Ensaio de Detecção Molecular

Item	Identificação	Quantidade	Conteúdo	Comentários
Neogen® Solução de Lise (LS)	Solução rosa em tubos transparentes	96 (12 tiras de 8 tubos)	580 µL de LS por tubo	Armazenados na rack e prontos para o uso
Tubos reagentes para Neogen® Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*	Tubos roxos	96 (3 embalagens com 4 tiras de 8 tubos)	Mistura de detecção e amplificação específica liofilizada	Pronto para uso
Tampas adicionais	Tampas roxas	96 (12 tiras de 8 tampas)		Pronto para uso
Neogen® Controle de Reagentes (RC)	Tubos transparentes com tampa articulada	16 (2 embalagens de 8 tubos individuais)	Mistura de DNA de controle liofilizado, amplificação e detecção	Pronto para uso

O Controle Negativo (NC), não fornecido no kit, é um meio de enriquecimento estéril, por exemplo, o Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*. Não use água como um NC.

Um guia de início rápido está disponível em www.neogen.com

Segurança

O usuário deve ler, compreender e seguir todas as informações de segurança presentes nas instruções do Neogen Sistema de Detecção Molecular e do Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*. Guarde as instruções sobre segurança para consulta posterior.

⚠ **AVISO:** indica uma situação de perigo que, se não evitada, pode resultar em morte ou ferimentos graves e/ou danos materiais.

AVISO: indica uma situação potencialmente perigosa que, se não evitada, pode resultar em danos materiais.

⚠ AVISO

Não use o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* no diagnóstico de problemas de saúde em humanos ou animais.

O usuário deve treinar sua equipe com técnicas de testes atuais apropriadas: por exemplo, Boas Práticas de Laboratório[3], ISO/IEC 17025[4] ou ISO 7218[5].

Para reduzir os riscos associados a um resultado falso-negativo levando à liberação do produto contaminado:

- Siga o protocolo e realize os testes exatamente conforme especificado nas instruções do produto.
- Armazene o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* conforme indicado na embalagem e nas instruções do produto.
- Sempre use o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* antes do vencimento.
- Prepare o Neogen® Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* seguindo as instruções do produto
- Não submeta o Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* à autoclave
- Utilize o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* com amostras alimentares e ambientais que tenham sido validadas internamente ou por um terceiro.
- Utilize o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* somente com superfícies, desinfetantes, protocolos e linhagens de bactérias que tenham sido validados internamente ou por um terceiro.
- Para uma amostra ambiental que contém um tampão neutralizante com complexo de sulfonato de arila, faça uma diluição de 1:2 antes de testar (1 parte da amostra em 1 parte do caldo de enriquecimento estéril). Outra opção é transferir 10 µL do enriquecimento do tampão neutralizante para os tubos de Neogen Solução de Lise. Produtos Neogen® Sample Handling que incluem tampão neutralizante com complexo de sulfonato de arila: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G e HS2410NB2G.

Para reduzir os riscos de exposição a produtos químicos e agentes biológicos nocivos:

- Execute testes de agentes patogênicos em um laboratório adequadamente equipado, sob o controle de pessoal bem treinado. O meio de enriquecimento incubado e equipamentos ou superfícies que tenham entrado em contato com o meio de enriquecimento incubado podem conter patógenos em níveis suficientes para apresentar riscos à saúde humana.
- Sempre adote as práticas de segurança padrão em laboratórios, como usar trajes de proteção adequados e óculos de proteção ao manipular reagentes e amostras contaminadas.
- Evite o contato com o conteúdo do meio de enriquecimento e dos tubos de reagentes após a amplificação.
- Descarte amostras enriquecidas de acordo com os regulamentos padrão locais/regionais/nacionais vigentes da indústria.
- Amostras que não foram tratadas com aquecimento de forma adequada durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico potencial e NÃO devem ser inseridas no Neogen Equipamento de Detecção Molecular.

Para reduzir os riscos de contaminação cruzada ao preparar o ensaio:

- Sempre use luvas (para proteger o usuário e evitar a introdução de nucleases).

Para reduzir os riscos de exposição com líquidos quentes:

- Não exceda a temperatura recomendada ao ajustar o aquecedor.
- Não exceda o tempo de aquecimento recomendado.
- Utilize um termômetro calibrado adequado para verificar a temperatura do Neogen® Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou termômetro termopar digital, e não um termômetro de imersão total). O termômetro deve ser colocado no local indicado do Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular.

AVISO

Para reduzir os riscos de contaminação cruzada ao preparar o ensaio:

- Troque de luvas antes da hidratação do pellet dos reagentes.
- Recomenda-se o uso de ponteiras de pipeta estéreis, com barreira aerossol (filtros) e nível de biologia molecular.

- Utilize uma nova ponteira de pipeta para cada transferência de amostra.
- Utilize Boas Práticas Laboratoriais para transferir a amostra do meio de enriquecimento para o tubo de lise. Para evitar a contaminação da pipeta, o usuário pode decidir adicionar uma etapa de transferência intermediária. Por exemplo, o usuário pode transferir cada amostra enriquecida para um tubo estéril.
- Utilize uma estação de trabalho de biologia molecular contendo lâmpada germicida sempre que possível.
- Periodicamente, descontamine as bancadas e os equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas de tampar/destampar etc.) com uma solução de 1–5% (v:v em água) de água sanitária ou solução de remoção de DNA.

Para reduzir os riscos de um resultado falso-positivo:

- Nunca abra tubos de reagentes após a amplificação.
- Sempre descarte os tubos contaminados mergulhando-os em uma solução de água sanitária de 1–5% (v:v em água) por 1 hora, longe da área de preparação de ensaio.
- Nunca submeta os tubos de reagentes a autoclave após a amplificação.

Consulte a Planilha de Dados de Segurança para obter informações adicionais e informações sobre os regulamentos locais para descarte.

Em caso de dúvidas sobre aplicações ou procedimentos específicos, acesse nosso site www.neogen.com ou entre em contato com o seu representante ou distribuidor local Neogen.

Responsabilidade do usuário

Os usuários são responsáveis por se familiarizar com as informações e instruções do produto. Visite nosso site **www.neogen.com** ou entre em contato com o representante ou distribuidor Neogen mais próximo para obter mais informações.

Ao selecionar um método de teste, é importante considerar que fatores externos, como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparo de amostras, manipulação, a técnica de laboratório utilizada e a própria amostra, podem influenciar nos resultados.

É de responsabilidade do usuário, ao selecionar qualquer método de teste ou produto, avaliar um número suficiente de amostras com as matrizes e testes microbiológicos que permitam assegurar que o método escolhido atenda aos critérios por ele estabelecidos.

Também é de responsabilidade do usuário determinar se o método de teste e os resultados atendem às exigências de seus clientes e fornecedores.

Como em qualquer outro método de teste, os resultados obtidos com qualquer produto da Neogen Food Safety não constituem garantia de qualidade das matrizes ou processos com eles testados.

Para ajudar os clientes a avaliar o método para diversas matrizes de alimentos, a Neogen desenvolveu o kit Neogen® Controle de Matriz para Detecção Molecular. Quando necessário, utilize o Neogen Controle de Matriz para Detecção Molecular (MC) para determinar se a matriz tem a capacidade de impactar os resultados do Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*. Teste diversas amostras representativas da matriz, isto é, amostras obtidas a partir de diferentes origens, durante qualquer período de validação quando adotar o método da Neogen, quando testar matrizes novas ou desconhecidas ou matrizes que tiverem passado por mudanças de processo ou matéria-prima.

Uma matriz pode ser definida como um tipo de produto com propriedades intrínsecas, tais como composição e processo. As diferenças entre matrizes podem ser tão simples quanto os efeitos causados pelas diferenças em seu processamento ou apresentação, por exemplo, cru vs. pasteurizado, fresco vs. desidratado etc.

Limitação de garantias/recurso limitado

SALVO CONFORME DECLARADO EXPRESSAMENTE EM UMA SEÇÃO DE GARANTIA DE EMPACOTAMENTO DE PRODUTO INDIVIDUAL, A NEOGEN REJEITA TODAS AS GARANTIAS EXPRESSAS E IMPLÍCITAS, INCLUINDO, ENTRE OUTRAS, QUAISQUER GARANTIAS DE COMERCIALIZAÇÃO OU ADEQUAÇÃO PARA UM DETERMINADO USO. Se ficar provado que qualquer produto da Neogen Food Safety se encontra defeituoso, a Neogen ou seu distribuidor autorizado procederá à respectiva substituição ou, se assim o decidir, restituirá o dinheiro da compra do produto. Estes são os seus únicos termos de recurso. A Neogen deverá ser prontamente notificada em até sessenta dias após a descoberta de qualquer defeito suspeito no produto, o qual deverá ser devolvido à Neogen. Entre em contato com seu representante da Neogen ou distribuidor autorizado da Neogen para qualquer dúvida adicional.

Limitações de responsabilidade da Neogen

A NEOGEN NÃO SE RESPONSABILIZARÁ POR QUAISQUER DANOS, SEJAM DIRETOS, INDIRETOS, ESPECIAIS, ACIDENTAIS OU SUBSEQUENTES, INCLUINDO, ENTRE OUTROS, PERDA DE LUCROS. Em nenhuma circunstância nem ao abrigo seja de qualquer teoria jurídica, a responsabilidade da Neogen deverá exceder o preço de compra dos produtos supostamente defeituosos.

Armazenamento e descarte

Armazene o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* a 2–8 °C (35–47 °F). Não congele. Mantenha o kit longe de luz durante o armazenamento. Após abrir o kit, verifique se a embalagem de alumínio não está danificada. Se a embalagem estiver danificada, não utilize. Após a abertura, os tubos de reagentes não utilizados devem sempre ser armazenados na embalagem resselável, juntamente com o dessecante para manter a estabilidade dos reagentes liofilizados. Armazene as embalagens resseláveis a 2–8 °C (35–47 °F) por, no máximo, 90 dias.

Não utilize o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* após o vencimento. A data de validade e o número do lote estão anotados no rótulo externo da caixa. Após o uso, o meio de enriquecimento e os tubos do Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* podem conter materiais patogênicos. Quando o teste for concluído, siga os regulamentos padrão vigentes da indústria para descarte de resíduos contaminados. Consulte a Planilha de Dados de Segurança para obter informações adicionais e informações sobre os regulamentos locais para descarte.

Instruções de uso

Siga todas as instruções com atenção. Caso contrário, pode haver resultados imprecisos.

Periodicamente, descontamine as bancadas e os equipamentos do laboratório (pipetas, ferramentas de tampar/destampar etc.) com uma solução de 1–5% (v:v em água) de água sanitária ou solução de remoção de DNA.

O usuário deve concluir o treinamento de qualificação do 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 Neogen Sistema de Detecção Molecular”[6].

Preparação do meio

Prepare o Neogen® Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* (CE250) seguindo as instruções do produto. **Não submeta o meio à autoclave antes de usá-lo.** Use o meio preparado em até 24 de horas após a preparação. Armazene o caldo preparado a 2–8 °C[7] protegido da luz caso não seja usado imediatamente após a preparação. Certifique-se de que o meio esteja na temperatura de 20–30 °C antes do uso.

Coleta da amostra

O Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* não deve ser usado no enxágue de aves ou como meio de transporte. Colete e transporte amostras seguindo os seus procedimentos de coleta estabelecidos.

Enriquecimento de amostra

A Tabela 2 oferece diretrizes sobre protocolos gerais de enriquecimento de alimentos e amostras ambientais.

É responsabilidade do usuário validar os protocolos de amostragem alternativos ou taxas de diluição para garantir que este método de teste atenda aos critérios do usuário.

Preparo da amostra

a. Enxágue de carcaças e partes cruas de aves

1. Enxágue uma carcaça de ave crua eviscerada em 400 mL de água de peptona tamponada (BPW) por um minuto. Se estiver enxaguando partes de ave crua, enxágue de 1,8 a 2 kg (4 lb ± 10%) das partes da ave com 400 mL de BPW[1,8].
2. Para carcaças e partes de ave crua, deixe o excesso do líquido escorrer antes de enxaguar a amostra para evitar de transferir líquido de processo em excesso ao saco de amostras[8].
3. Para aves que foram tratadas com Cloreto de cetilpiridinio (CPC), é necessário adicionar 5 mL por litro de Polissorbato 80 (IUPAC: Mono-oleato de polioxietileno (20) sorbitano; CAS 9005-65-6) para preparar o Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*. Polissorbato 80 pode ser adicionado à água antes da esterilização para facilitar a dissolução, ou pode ser adicionado diretamente à água já esterilizada antes de preparar o Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*.
4. Transfira assepticamente 30 mL de enxágue no saco estéril e adicione 30 mL de Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*.

b. Esponja de carcaça

1. Antes de recolher a amostra, as esponjas devem ser hidratadas com até 25 mL de BPW[1]. Se for transportar as amostras, certifique-se que o saco esteja enrolado e seja mantido a 2–8 °C.

2. Passe o swab na carcaça da ave ou recolha a amostra com a esponja.
3. Coloque o swab no saco estéril e adicione 25 mL de Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*. Certifique-se que o swab ou a esponja estejam cobertos pelo meio enriquecido.

c. Produtos de ave crua

1. Pese assepticamente 325 ± 32,5 g da amostra e coloque-a no saco estéril. Adicione 1625 ± 32,5 mL de BPW ao produto de ave crua. Para dispersar os aglomerados, misture completamente com a mão massageando brevemente.
2. Depois de misturar, adicione 30 mL da mistura de produtos de ave crua para um saco estéril e adicione 30 mL do Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* e misture completamente.

d. Carnes cruas e prontas para o consumo

1. Pese assepticamente 25 g da amostra e coloque-a no saco estéril. É recomendado o uso de saco com filtro para facilitar a amostragem.
2. Adicione 225 mL de Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*.
3. Massageie com as mãos para quebrar os aglomerados e evitar criar bolhas durante o processo. Não processe o saco pressionando ou misturando.

e. Bota para swab de produção primária

1. Recolha a amostra com botas ou meias para swab (propé) seguindo os seus procedimentos de coleta estabelecidos.
2. Coloque UM propé no saco estéril e adicione 100 mL de Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*.

f. Arraste o swab

1. Recolha a amostra com um dispositivo umedecido previamente seguindo os seus procedimentos de coleta estabelecidos.
2. Coloque o swab no saco estéril e adicione 100 mL de Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*.

Incubação de Enriquecimento

1. Enrole o saco para minimizar a presença de espaço livre e evitar que o enriquecimento seja exposto ao ar. Massageie gentilmente o saco por cerca de 10 ± 2 segundos. **Não processe o saco pressionando ou misturando para evitar que se formem bolhas na mistura.**
2. Incube o saco de forma aeróbica a 41,5 ± 1 °C, consulte a Tabela 2 para o tempo de incubação adequado.

AVISO: caso escolha utilizar tampão neutralizador que contém complexos de sulfonato de arila como a solução hidratante para a esponja, será necessário que você execute uma diluição de 1:2 (1 parte da amostra em 1 parte do caldo de enriquecimento estéril) da amostra ambiental enriquecida antes de testar, para reduzir os riscos de um resultado falso-negativo que levaria à liberação de produtos contaminados. Outra opção é transferir 10 µL do enriquecimento do Tampão de Neutralização para os tubos Neogen Solução de Lise.

É responsabilidade do usuário validar os 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	Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* (mL)[b]	Temperatura de enriquecimento (± 1 °C)	Tempo de Enriquecimento (horas)	Volume de Análise da Amostra (µL)[c]
• Enxágue de carcaças[a] • Enxágue de partes de aves[a]	30 mL de enxágue em BPW	30	41,5	22–26	20
• Esponja de carcaça[a]	1 esponja umedecida previamente com até 25 mL de BPW	25	41,5	22–26	20
• Carnes cruas • Carnes prontas para o consumo	25 g	225	41,5	24–28	20
• Botas para swab de produção primária	1 bota para swab	100	41,5	22–26	20
• Arraste o swab de produção primária	1 dispositivo umedecido previamente	100	41,5	22–26	20

(a) Se as aves são tratadas com Cloreto de cetilpiridinio (CPC), é necessário adicionar 5 mL por litro de (Polissorbato 80; IUPAC: Mono-oleato de polioxietileno (20) sorbitano; CAS 9005-65-6) para preparar o Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*. Polissorbato 80 pode ser adicionado à água antes da esterilização ou pode ser adicionado diretamente à água já esterilizada antes de preparar o Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*.

(b) O Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* pode ser usado em até 24 horas após a preparação. O meio deve estar em temperatura ambiente (25–30 °C) antes de ser utilizado.

(c) Antes de recolher amostras de enriquecimento para a análise, massageie suavemente o fundo do saco. **Após recolher a amostra, enrole o saco para evitar que o enriquecimento seja exposto ao ar.** Amostras adicionais podem ser necessárias para novos teste ou etapas de confirmação.

Instruções específicas para métodos comprovados

Certificado AOAC® Performance Tested℠ (PTM) nº 111803

PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 111803

Nos programas PTM do Instituto de Pesquisa AOAC℠, o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* foi constatado como um método eficiente para a detecção de *Campylobacter*. As matrizes testadas no estudo são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Protocolos de enriquecimento segundo o Certificado AOAC PTM℠ nº 111803.

Matriz de amostra	Tamanho da amostra	Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* (mL)[c]	Temperatura de enriquecimento (± 1 °C)	Tempo de Enriquecimento (horas)	Volume da Análise da Amostra (µL)[d]
Carcaça inteira enxaguada em 400 mL de BPW[a] [b]	30 mL de enxágue em BPW	30	41,5	22–26	20
Partes de aves (1,8 a 2 kg) enxaguadas em 400 mL de BPW[a] [b]	30 mL de enxágue em BPW	30	41,5	22–26	20
Esponja de carcaça de peru[a] [b]	1 esponja umedecida previamente com até 25 mL de BPW	25	41,5	24–26	20
Carne de ave moída e crua (325 ± 32,5 g) enxaguada em 1625 ± 32,5 mL de BPW[b]	30 mL de mistura de produto em BPW	30	41,5	24–28	20
Nuggets de frango	25 g	225	41,5	24–28	20

(a) Se as aves são tratadas com Cloreto de cetilpiridinio (CPC), é necessário adicionar 5 mL por litro de (Polissorbato 80; IUPAC: Mono-oleato de polioxietileno (20) sorbitano; CAS 9005-65-6) para preparar o Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*. Polissorbato 80 pode ser adicionado à água antes da esterilização ou pode ser adicionado diretamente à água já esterilizada antes de preparar o Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter*.

(b) Alternativamente, essa matriz pode ser enriquecida com 30 mL de Caldo de Enriquecimento Bolton isento de sangue 2X (BF-BEB) por 48 ± 2 h a 42 ± 1,0 °C em condições microaeróbicas. Transfira 20 µL de amostra para Neogen Solução de Lise.

(c) O Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* deve ser usado em até 24 horas após a preparação. O meio deve estar em temperatura ambiente (25–30 °C) antes de ser utilizado.

(d) Antes de recolher amostras de enriquecimento para a análise, massageie suavemente o fundo do saco. **Após recolher a amostra, enrole o saco para evitar que o enriquecimento seja exposto ao ar.** Amostras adicionais podem ser necessárias para novos teste ou etapas de confirmação.

Preparo da Neogen® Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular

1. Umedeça um pano em uma solução de 1–5% (v:v em água) de água sanitária e limpe a Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular.
2. Enxágue a Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular com água.
3. Utilize uma toalha descartável para secar a Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular.
4. Certifique-se de que a Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular esteja seca antes de utilizá-la.

Preparação do Neogen® Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular

Coloque o Neogen Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular diretamente sobre a bancada do laboratório: a Neogen Bandeja de Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular não é utilizada. Utilize o bloco à temperatura ambiente do laboratório (20–25 °C).

Preparo do Neogen® Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular

Coloque o Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular em uma unidade de aquecimento com bloco seco duplo. Ligue a unidade de aquecimento de bloco seco e defina a temperatura para permitir que o Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular alcance e mantenha a temperatura de 100 ± 1 °C.

NOTA: Dependendo da unidade de aquecimento, aguarde aproximadamente 30 minutos até que o Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular alcance a temperatura. Utilizando um termômetro calibrado adequado (por exemplo, um termômetro de imersão parcial ou um termômetro digital de termopares, não um termômetro de imersão total) colocado no local indicado, verifique se o Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular está a 100 ± 1 °C.

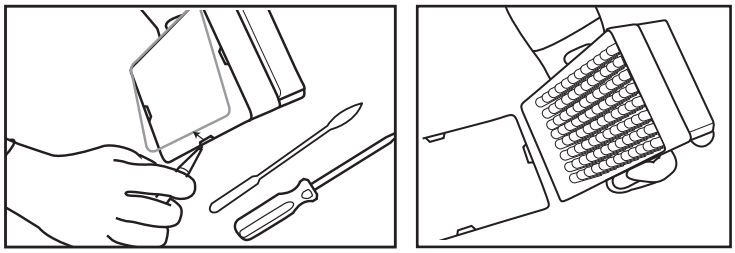
Preparo do Neogen® Equipamento de Detecção Molecular

1. Inicie o Neogen® Software de Sistema de Detecção Molecular e faça log in. Entre em contato com o representante Neogen Food Safety para garantir que você tem a versão mais atualizada do software.
2. Ligue o Neogen Equipamento de Detecção Molecular.
3. Crie ou edite uma execução com dados para cada amostra. Consulte o Manual do Usuário do Neogen Sistema de Detecção Molecular para obter mais detalhes.

NOTA: O Neogen Equipamento de Detecção Molecular deve estar pronto para o uso antes de inserir a Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular com os 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 equipamento estiver pronto para iniciar uma execução, a barra de status ficará VERDE.

Lise

Remova o fundo da Neogen Rack de Solução de Lise com uma chave de fenda antes de inserir no Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular.

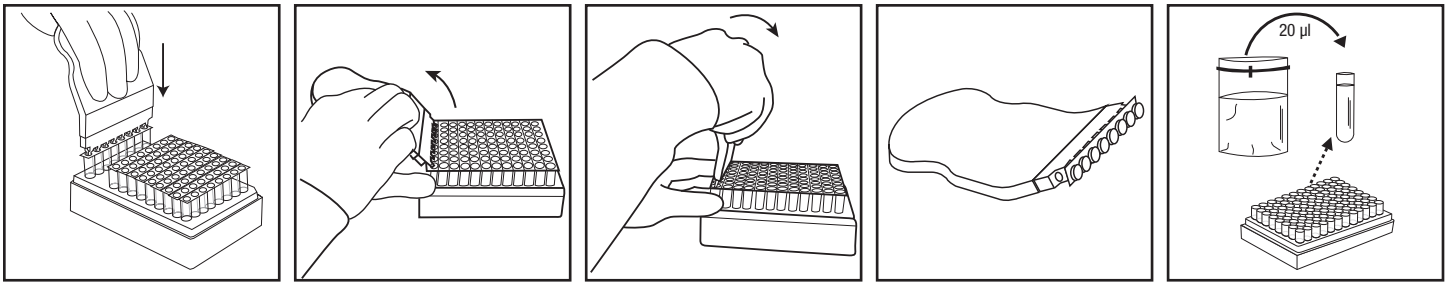


1. Deixe que os tubos de Neogen Solução de Lise cheguem à temperatura ambiente (20–25 °C), deixando as racks fora de refrigeração de um dia para o outro (16–18 horas). A alternativa para equilibrar os tubos Neogen Solução de Lise à temperatura ambiente é posicioná-los na bancada do laboratório durante pelo menos 2 horas, incubá-los em uma incubadora de 37 ± 1 °C por 1 hora ou colocá-los em um aquecedor com bloco seco duplo por 30 segundos a 100 °C.
2. Inverta os tubos com tampa para misturar. Prossiga para a próxima etapa em até 4 horas após a inversão.
3. **Remova o caldo de enriquecimento da incubadora.**
   - **3.1.1 Massageie suavemente o fundo do saco de enriquecimento antes de transferir a amostra para o tubo Neogen Solução de Lise.**
   - **3.1.2 Amostras adicionais podem ser necessárias para novos testes ou etapas de confirmação. Após coletar a amostra, enrole o saco para minimizar a presença de espaço livre e evitar que o enriquecimento seja exposto ao ar. Se a confirmação de resultados presuntivos for necessária, proceda com as etapas de confirmação assim que os resultados presuntivos forem obtidos.**
4. Um tubo de Neogen Solução de Lise é necessário para cada amostra e a amostra do NC (meio de enriquecimento esterilizado).
   - 4.1 As tiras de tubos Neogen Solução de Lise podem ser cortadas para obter o número desejado de tubos. Selecione o número de tubos ou tiras de 8 tubos necessários. Coloque os tubos de Neogen Solução de Lise em uma rack vazia.
   - 4.2 Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de tubo Neogen Solução de Lise de cada vez e utilize uma nova ponteira de pipeta para cada etapa da transferência.
   - 4.3 Transfira a amostra enriquecida para os tubos Neogen Solução de Lise conforme descrito abaixo:

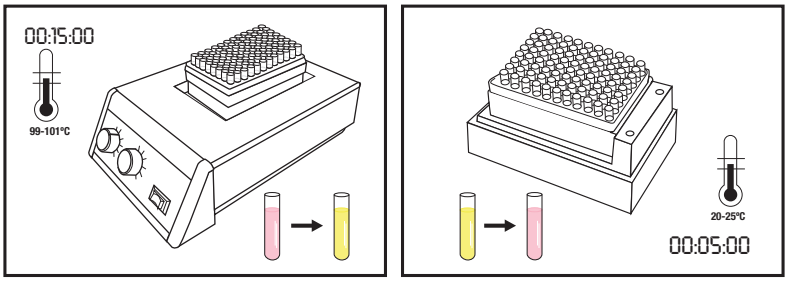
     Primeiro, transfira cada amostra enriquecida para um tubo Neogen Solução de Lise individual. **Por último,** transfira o NC.

   - 4.4 Utilize a Neogen® Ferramenta de Tampar/Destampar para Detecção Molecular – Lise para destampar uma tira de tubos Neogen Solução de Lise – uma tira de cada vez.
   - 4.5 Descarte a tampa do tubo de Neogen Solução de Lise – se o lisado for mantido para novo teste, coloque as tampas em um recipiente limpo para reutilização após a lise.
     - 4.5.1 Para processar o lisado mantido, consulte o Apêndice A.
   - 4.6 Transfira 20 µL de amostra para o tubo Neogen Solução de Lise.

5. Repita as etapas 4.4 a 4.6, conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.



6. Quando todas as amostras tiverem sido transferidas, transfira 20 µL de NC (meio de enriquecimento estéril, por exemplo, BPW) para um tubo Neogen Solução de Lise. Não use água como um NC.
7. Verifique se a temperatura do Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular está a 100 ± 1 °C.
8. Coloque a rack descoberta de tubos Neogen Solução de Lise no Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular e aqueça por 15 ± 1 minutos. Durante o aquecimento, a Neogen Solução de Lise mudará da cor rosa (frio) para amarelo (quente).
   8.1 Amostras que não foram tratadas com aquecimento de forma adequada durante a etapa de lise do ensaio podem ser consideradas um risco biológico potencial e NÃO devem ser inseridas no Neogen Equipamento de Detecção Molecular.
9. Retire a rack descoberta de tubos de Neogen Solução de Lise do Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular e deixe esfriar no Neogen Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular por pelo menos 5 minutos e no máximo 10 minutos. O Neogen Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular, usado em temperatura ambiente sem a Neogen® Bandeja de Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular, deve ser colocado diretamente sobre a bancada do laboratório. Quando resfriada, a Neogen Solução de Lise voltará à cor rosa.
10. Retire a rack de tubos Neogen Solução de Lise do Neogen Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular.



Amplificação

1. É necessário um Tubo de Reagente de Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* para cada amostra e para o NC.
   1.1 As tiras de tubos podem ser cortadas para obter o número de tubos desejado. Selecione o número de Tubos de Reagente individuais ou de tiras de 8 tubos individuais necessárias para Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*.
   1.2 Coloque os tubos em uma rack vazia.
   1.3 Evite agitar os reagentes precipitados da parte inferior dos tubos.
2. Selecione um tubo Neogen Controle de Reagentes e coloque-o na rack.
3. Para evitar contaminação cruzada, destampe uma tira de Tubo Reagente para Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* de cada vez e utilize uma nova ponteira de pipeta para cada etapa da transferência.
4. Transfira cada um dos lisados a um Tubo Reagente para Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* e Tubo Neogen Controle de Reagentes conforme descrito abaixo:

Primeiro transfira cada amostra de lisado para Tubos Reagentes individuais de Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*, seguido de NC. **Por último,** hidrate o tubo Neogen Controle de Reagentes.

5. Use a Neogen® Ferramenta de Tampar/Destampar para Detecção Molecular – Reagente para destampar os Tubos Reagentes para Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* – uma tira de cada vez. Descarte a tampa.
   5.1 **Transfira 20 µL de amostra de lisado da ½ superior do líquido (evite o precipitado) no tubo de Neogen Solução de Lise para o Tubo Reagente do Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* correspondente. Dispense em um ângulo que evite a agitação dos pellet. Misture pipetando gentilmente 5 vezes.**
   5.2 Repita a etapa 5.1 até que a amostra de lisado individual tenha sido adicionada a um Tubo Reagente para o Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* correspondente na tira.
   5.3 Cubra os Tubos Reagentes para Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* com a tampa adicional

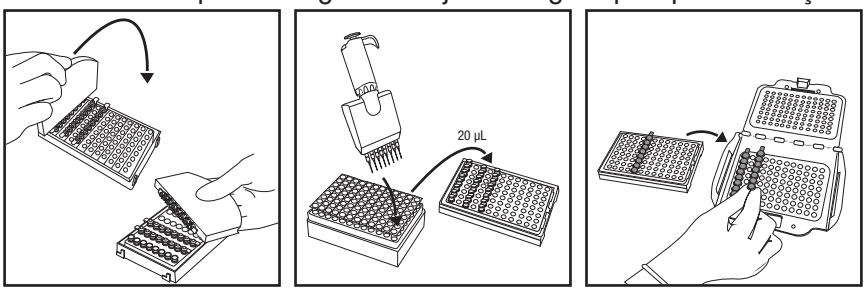
fornecida e utilize o lado arredondado da Neogen Ferramenta de Tampar/Destampar para Detecção Molecular – Reagente para apertar com um movimento de vai e vem, garantindo que a tampa fique bem apertada.

5.4 Repita as etapas 5.1 a 5.3, conforme necessário, para o número de amostras a serem testadas.

5.5 Quando todas as amostras de lisado tiverem sido transferidas, repita as etapas de 5.1 a 5.3 para transferir 20 µL de lisado do NC para o Tubo Reagente de Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*.

5.6 Transfira **20 µL de lisado NC para um tubo Neogen Controle de Reagentes.** Dispense em um ângulo que evite a agitação dos pellet. Misture pipetando gentilmente 5 vezes.

6. Carregue os tubos tampados em uma Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular limpa e descontaminada. Feche e trave a tampa da Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular.



7. Analise e confirme a execução configurada no Neogen Software do Sistema de Detecção Molecular.
8. Clique no botão Iniciar do software e selecione o instrumento a utilizar. A tampa do instrumento selecionado abre automaticamente.
9. Posicione a Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular no Neogen Equipamento de Detecção Molecular e feche a tampa para iniciar o ensaio. Os resultados são fornecidos em 60 minutos, embora os positivos possam ser detectados ainda mais cedo.
10. Depois que o ensaio estiver concluído, remova a Neogen Bandeja de Carga Rápida para Detecção Molecular do Neogen Equipamento de Detecção Molecular e descarte os tubos mergulhando-os em uma solução de 1–5% (v: v em água) de água sanitária por 1 hora, fora da área de preparação do ensaio.

AVISO: para minimizar o risco de falso-positivos por contaminação cruzada, nunca abra tubos de reagentes que contenham DNA amplificado. Isto inclui o reagente para Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter*, o Neogen Controle de Reagentes e o Neogen Tubos de Controle de Matriz. Sempre descarte os tubos de reagentes selados mergulhando-os em uma solução de 1–5% (v: v em água) de água sanitária por 1 hora, fora da área de preparação do ensaio.

Resultados e Interpretação

Um algoritmo interpreta a curva de saída de luz que resulta da detecção da amplificação do ácido nucleico. Os resultados são analisados automaticamente pelo software e são codificados em cores de acordo com o resultado. Um resultado é determinado positivo ou negativo pela análise de diversos parâmetros exclusivos das curvas. Resultados positivos presuntivos são relatados em tempo real, enquanto resultados negativos e resultados de inspeção serão exibidos após a conclusão da execução.

Amostras positivas presuntivas devem ser confirmadas conforme os procedimentos operacionais padrão de laboratórios, ou seguindo o método de confirmação de referência apropriado[1,2], começando com a transferência do Neogen Caldo de Enriquecimento *Campylobacter* para placas seletivas de *Campylobacter* com incubação microaerófila, confirmação de isolados usando métodos bioquímicos, microscópicos e sorológicos apropriados. Para a melhor manutenção do enriquecimento, enrole o saco de enriquecimento após a coleta de amostras.

NOTA: até mesmo uma amostra negativa não resultará em leitura zero, uma vez que o sistema e os reagentes de amplificação do Neogen Ensaio de Detecção Molecular 2 – *Campylobacter* têm uma leitura de unidade de luz relativa (RLU) em "plano de fundo".

Em casos raros de saída de luz fora do comum, o algoritmo rotula o caso como Inspecionar. A Neogen recomenda que o usuário repita o ensaio para qualquer amostra Inspecionar. Se o resultado continuar a ser Inspecionar, prossiga com o teste de confirmação utilizando o método de sua preferência ou conforme especificado pelos regulamentos locais[1,2].

Apêndice A. Interrupção de protocolo: armazenamento e refaça o teste de lisados tratados termicamente

1. Para armazenar um lisado tratado termicamente, tampe novamente o tubo de Neogen Solução de Lise com uma tampa limpa (consulte a seção “Lise”, 4.5)
2. Armazene à temperatura na faixa de 2 a 8 °C por até 72 horas.
3. Prepare uma amostra armazenada para amplificação invertendo de 2 a 3 vezes para misturar.
4. Destampe os tubos.
5. Coloque os tubos de lisado misturados no Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular e aqueça a 100 ± 1 °C por 5 ± 1 minutos.
6. Retire a rack de tubos Neogen Solução de Lise do Neogen Bloco de Aquecimento para Detecção Molecular e deixe esfriar no Neogen Bloco de Resfriamento para Detecção Molecular por pelo menos 5 minutos e no máximo 10 minutos.
7. Continue o protocolo na seção **Amplificação** detalhada acima.

Referências:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain – Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contate seu representante da Neogen Food Safety para obter uma cópia deste documento.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Πληροφορίες προϊόντος

Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter*

Περιγραφή του προϊόντος και σκοπός χρήσης

Η Neogen® Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* χρησιμοποιείται με το Neogen® Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης για τη γρήγορη και εξειδικευμένη ανίχνευση του *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* και *Campylobacter coli*, σε εμπλουτισμένα περιβαλλοντικά δείγματα τροφίμων και διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων.

Η Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης χρησιμοποιεί ισοθερμικό πολλαπλασιασμό με μεσολάβηση βρόχου για γρήγορο πολλαπλασιασμό αλληλουχιών νουκλεϊνικών οξέων με υψηλή εξειδίκευση και ευαισθησία, σε συνδυασμό με βιοφωταύγεια για την ανίχνευση του πολλαπλασιασμού. Τα υποθετικά θετικά αποτελέσματα αναφέρονται σε πραγματικό χρόνο, ενώ τα αρνητικά αποτελέσματα εμφανίζονται μετά την ολοκλήρωση της δοκιμασίας. Τα υποθετικά θετικά αποτελέσματα πρέπει να επιβεβαιώνονται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που προτιμάτε ή όπως καθορίζεται από τους τοπικούς κανονισμούς[1,2].

Η Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* προορίζεται για χρήση σε εργαστηριακό περιβάλλον από επαγγελματίες, εκπαιδευμένους στις εργαστηριακές τεχνικές. Η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει τη χρήση αυτού του προϊόντος σε βιομηχανίες άλλες από εκείνες των τροφίμων και ποτών. Για παράδειγμα, η Neogen δεν έχει τεκμηριώσει αυτό το προϊόν για τον έλεγχο δειγμάτων φαρμακευτικών προϊόντων, καλλυντικών,κλινικών ή κτηνιατρικών δειγμάτων. Η Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* δεν έχει αξιολογηθεί με όλα τα πιθανά προϊόντα τροφίμων, διεργασίες επεξεργασίας τροφίμων, πρωτόκολλα ελέγχου ή με όλα τα πιθανά στελέχη βακτηριδίων.

Όπως και με όλες τις δοκιμαστικές μεθόδους, η προέλευση, η σύνθεση και η ποιότητα του μέσου εμπλουτισμού μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα. Παράγοντες όπως οι μέθοδοι δειγματοληψίας, τα πρωτόκολλα ελέγχου, η προετοιμασία των δειγμάτων, ο χειρισμός και η εργαστηριακή τεχνική μπορούν επίσης να επηρεάσουν τα αποτελέσματα. Η Neogen συνιστά την αξιολόγηση της μεθόδου, συμπεριλαμβανομένου του μέσου εμπλουτισμού, στο περιβάλλον του χρήστη με τη χρήση επαρκούς αριθμού δειγμάτων με συγκεκριμένα τρόφιμα και μικροβιακές προκλήσεις ώστε να διασφαλιστεί ότι η μέθοδος πληροί τα κριτήρια του χρήστη.

Η Neogen έχει αξιολογήσει την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* με τον Neogen® *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα και Εμπλουτιστικό Διάλυμα Bolton απαλλαγμένο από αίμα.

Το Neogen® Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης προορίζεται για χρήση με δείγματα που έχουν υποβληθεί σε θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια του σταδίου λύσης της δοκιμασίας, το οποίο είναι σχεδιασμένο για την καταστροφή των οργανισμών που είναι παρόντες στο δείγμα. Δείγματα που δεν έχουν υποβληθεί στην κατάλληλη θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια του σταδίου λύσης της δοκιμασίας μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανός βιολογικός κίνδυνος και ΔΕΝ πρέπει να εισάγονται στο Neogen Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.

Η Neogen Food Safety φέρει πιστοποίηση σύμφωνα με το πρότυπο του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) 9001 για σχεδιασμό και παραγωγή.

Το κιτ ελέγχου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* περιέχει 96 δοκιμαστικά τεστ που περιγράφονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Επιμέρους στοιχεία του κιτ Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης

Είδος	Ταυτοποίηση	Ποσότητα	Περιεχόμενα	Σχόλια
Neogen® Διάλυμα Λύσης (LS)	Ροζ διάλυμα σε διαφανείς δοκιμαστικούς σωλήνες	96 (12 σειρές των 8 δοκιμαστικών σωλήνων)	580 µL LS ανά δοκιμαστικό σωλήνα	Σε στατώ και έτοιμο προς χρήση
Δοκιμαστικοί σωλήνες αντιδραστηρίου Neogen® Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter*	Μοβ δοκιμαστικοί σωλήνες	96 (3 σακουλάκια που περιέχουν 4 σειρές των 8 δοκιμαστικών σωλήνων)	Λυοφιλοποιημένο ειδικό μίγμα πολλαπλασιασμού και ανίχνευσης	Έτοιμο προς χρήση
Επιπλέον πώματα	Μοβ πώματα	96 (12 σειρές των 8 πωμάτων)		Έτοιμο προς χρήση
Neogen® Έλεγχος Αντιδραστηρίου (RC)	Διαφανείς δοκιμαστικοί σωλήνες με αρθρωτό πώμα	16 (2 σακουλάκια των 8 ατομικών δοκιμαστικών σωλήνων)	Λυοφιλοποιημένος έλεγχος DNA, μίγμα πολλλαπλασιασμού και ανίχνευσης	Έτοιμο προς χρήση

Ο Αρνητικός Έλεγχος (NC), που δεν παρέχεται στο κιτ, είναι ένα στείρο μέσο εμπλουτισμού, π.χ. Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα. Μη χρησιμοποιείτε νερό ως NC.

Ένας σύντομος οδηγός έναρξης είναι διαθέσιμος στο www.neogen.com

Ασφάλεια

Ο χρήστης πρέπει να διαβάσει, να κατανοήσει και να ακολουθήσει όλες τις πληροφορίες ασφαλείας στις οδηγίες για το Neogen Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης και την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter*. Φυλάξτε τις οδηγίες ασφάλειας για μελλοντική αναφορά.

⚠ **ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ:** Υποδεικνύει μια επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα θάνατο ή σοβαρό τραυματισμό ή/και υλική ζημιά.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Υποδεικνύει μια δυνητικά επικίνδυνη κατάσταση, η οποία, εάν δεν αποφευχθεί, ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα υλική ζημιά.

⚠ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Μη χρησιμοποιείτε την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* για τη διάγνωση καταστάσεων σε ανθρώπους ή ζώα.

Ο χρήστης πρέπει να εκπαιδεύσει το προσωπικό του στις τρέχουσες και κατάλληλες τεχνικές ελέγχου: Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές[3], ISO/IEC 17025[4] ή ISO 7218[5].

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ένα ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα που οδηγεί στην αποδέσμευση μολυσμένου προϊόντος:

- Ακολουθείτε το πρωτόκολλο και διενεργείτε τους ελέγχους ακριβώς όπως περιγράφεται στις πληροφορίες προϊόντος.
- Φυλάσσετε την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* όπως υποδεικνύεται στη συσκευασία και στις πληροφορίες προϊόντος.
- Χρησιμοποιείτε πάντοτε την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* μέχρι την ημερομηνία λήξης του.
- Παρασκευάστε τον Neogen® *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα σύμφωνα με τις πληροφορίες του προϊόντος.
- Μην κλιβανίσετε τον Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα.
- Χρησιμοποιείτε την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* μόνο με περιβαλλοντικά δείγματα που έχουν επικυρωθεί εσωτερικά ή από τρίτο μέρος.
- Χρησιμοποιείτε την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* μόνο με επιφάνειες, αποστειρωτικά μέσα, πρωτόκολλα και βακτηριακά στελέχη που έχουν επικυρωθεί εσωτερικά ή από τρίτο μέρος.

- Για ένα περιβαλλοντικό δείγμα που περιέχει Ρυθμιστικό Διάλυμα Ουδετεροποίησης με αρυλ-σουλφονικό σύμπλοκο, πραγματοποιήστε αραίωση 1:2 πριν τον έλεγχο (1 μέρος δείγματος σε 1 μέρος στείρου ζωμού εμπλουτισμού). Μια άλλη επιλογή είναι να μεταφέρετε 10 µL ουδετεροποιητικού ρυθμιστικού διαλύματος εμπλουτισμού μέσα στους δοκιμαστικούς σωλήνες Neogen Διαλύματος Λύσης. Προϊόντα Χειρισμού Δειγμάτων της Neogen® που περιέχουν Ρυθμιστικό Διάλυμα Ουδετεροποίησης με αρυλ-σουλφονικό σύμπλοκο: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G ή HS2410NB2G.

Για να μειώσετε τον κίνδυνο που σχετίζεται με την έκθεση σε χημικές ουσίες και βιολογικούς κινδύνους:

- Διενεργείτε τον έλεγχο παθογόνων σε κατάλληλα εξοπλισμένο εργαστήριο υπό τον έλεγχο εκπαιδευμένου προσωπικού. Επωασμένα μέσα εμπλουτισμού και εξοπλισμός ή επιφάνειες που έχουν έρθει σε επαφή με επωασμένα μέσα εμπλουτισμού μπορεί να περιέχουν παθογόνα σε επίπεδα επαρκή ώστε να προκαλέσουν κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία.
- Τηρείτε πάντοτε τις σύνηθες πρακτικές εργαστηριακής ασφάλειας, όπως χρήση κατάλληλης προστατευτικής ενδυμασίας και προστασίας ματιών, όταν χειρίζεστε αντιδραστήρια και μολυσμένα δείγματα.
- Αποφεύγετε την επαφή με τα περιεχόμενα των μέσων εμπλουτισμού και με τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου μετά τον πολλαπλασιασμό.
- Απορρίπτετε τα εμπλουτισμένα δείγματα σύμφωνα με τα τρέχοντα τοπικά/περιφερειακά/εθνικά/κανονιστικά πρότυπα.
- Δείγματα που δεν έχουν υποβληθεί στην κατάλληλη θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια του σταδίου λύσης της δοκιμασίας μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανός βιολογικός κίνδυνος και ΔΕΝ πρέπει να εισάγονται στο Neogen Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με διασταυρούμενη μόλυνση κατά την προετοιμασία της δοκιμασίας:

- Φοράτε πάντοτε γάντια (για την προστασία του χρήστη και την πρόληψη εισαγωγής νουκλεασών).

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με την έκθεση σε καυτά υγρά:

- Μην υπερβαίνετε τη συνιστώμενη ρύθμιση θερμοκρασίας στο θερμαντήρα.
- Μην υπερβαίνετε το συνιστώμενο χρόνο θέρμανσης.
- Χρησιμοποιείτε ένα κατάλληλο, βαθμονομημένο θερμόμετρο για να επαληθεύσετε τη θερμοκρασία του Neogen® Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρος Μοριακής Ανίχνευσης (π.χ. θερμόμετρο μερικής εμβύθισης ή ψηφιακό θερμόμετρο θερμοστοιχείου, όχι θερμόμετρο ολικής εμβύθισης). Το θερμόμετρο πρέπει να τοποθετείται στην προβλεπόμενη θέση στο Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με διασταυρούμενη μόλυνση κατά την προετοιμασία της δοκιμασίας:

- Αλλάξτε γάντια πριν από την ενυδάτωση των σφαιριδίων αντιδραστηρίου.
- Συνιστάται να χρησιμοποιούνται αποστειρωμένα, με φραγμό για αερολύματα (με φίλτρο), ρύγχη πιπέτας κατηγορίας μοριακής βιολογίας.
- Χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε μεταφορά δείγματος.
- Χρησιμοποιείτε Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές για τη μεταφορά του δείγματος από το δοκιμαστικό σωλήνα εμπλουτισμού στο δοκιμαστικό σωλήνα λύσης. Για να αποφευχθεί η μόλυνση της πιπέτας, ο χρήστης μπορεί να επιλέξει να προσθέσει ένα ενδιάμεσο βήμα μεταφοράς. Για παράδειγμα, ο χρήστης μπορεί να μεταφέρει κάθε εμπλουτισμένο δείγμα μέσα σε έναν αποστειρωμένο δοκιμαστικό σωλήνα.
- Χρησιμοποιείτε σταθμό εργασίας μοριακής βιολογίας που να περιέχει μικροβιοκτόνο λυχνία, όπου είναι διαθέσιμη.
- Απολυμαίνετε περιοδικά τους πάγκους και τον εξοπλισμό του εργαστηρίου (πιπέτες, εργαλεία σφράγισης/αποσφράγισης κτλ.) με διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) ή με διάλυμα απομάκρυνσης DNA.

Για να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ψευδώς θετικό αποτέλεσμα:

- Μην ανοίγετε ποτέ τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου μετά τον πολλαπλασιασμό.
- Απορρίπτετε πάντοτε τους μολυσμένους δοκιμαστικούς σωλήνες μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.
- Μην κλιβανίσετε ποτέ τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου μετά τον πολλαπλασιασμό.

Για επιπλέον πληροφορίες συμβουλευθείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας και τους τοπικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη.

Εάν έχετε ερωτήσεις σχετικά με συγκεκριμένες εφαρμογές ή διαδικασίες, παρακαλούμε επισκεφθείτε την ιστοσελίδα www.neogen.com ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της Neogen.

Ευθύνη του χρήστη

Οι χρήστες είναι υπεύθυνοι να εξοικειωθούν με τις οδηγίες και τις πληροφορίες του προϊόντος. Επισκεφθείτε την ιστοσελίδα μας στο **www.neogen.com** ή επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο ή διανομέα της Neogen για περισσότερες πληροφορίες.

Κατά την επιλογή μίας μεθόδου ελέγχου, είναι σημαντικό να αναγνωρίζετε ότι εξωτερικοί παράγοντες, όπως μέθοδοι δειγματοληψίας, πρωτόκολλα ελέγχου, προετοιμασία και χειρισμός δειγμάτων, η εργαστηριακή τεχνική και το ίδιο το δείγμα μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη η επιλογή οποιαδήποτε μεθόδου ή προϊόντος ελέγχου, για να αξιολογήσει έναν επαρκή αριθμό δειγμάτων με κατάλληλα είδη τροφίμων και μικροβιακές προκλήσεις, ώστε η επιλεγμένη μέθοδος να ικανοποιεί τα κριτήρια του χρήστη.

Αποτελεί επίσης ευθύνη του χρήστη να καθορίσει ότι όλες οι μέθοδοι δοκιμασίας και τα αποτελέσματα ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των πελατών και των προμηθευτών του.

Όπως και με κάθε μέθοδο ελέγχου, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από τη χρήση οποιουδήποτε προϊόντος Neogen Food Safety δεν συνιστούν εγγύηση της ποιότητας των σχετικών τροφίμων ή των διαδικασιών που υποβάλλονται σε έλεγχο.

Για να βοηθήσει τους πελάτες να αξιολογήσουν τη μέθοδο για τις διάφορες μήτρες τροφίμων, η Neogen έχει αναπτύξει το κιτ Neogen® Πίνακας Ελέγχου Μοριακής Ανίχνευσης. Όταν χρειάζεται, χρησιμοποιήστε τον Neogen Πίνακα Ελέγχου Μοριακής Ανίχνευσης (MC) για να προσδιορίσετε εάν η μήτρα έχει τη δυνατότητα να επηρεάσει τα αποτελέσματα της Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter*. Ελέγξτε διάφορα δείγματα που είναι αντιπροσωπευτικά της μήτρας, δηλ. δείγματα που λαμβάνονται από διαφορετική προέλευση, κατά τη διάρκεια οποιασδήποτε περιόδου επικύρωσης όταν υιοθετείτε τη μέθοδο της Neogen, ή όταν ελέγχετε νέες ή άγνωστες μήτρες ή μήτρες που έχουν υποβληθεί σε αλλαγές στις πρώτες ύλες ή στην επεξεργασία.

Μια μήτρα μπορεί να οριστεί ως ένας τύπος προϊόντος με ενδογενείς ιδιότητες όπως σύνθεση και επεξεργασία. Οι διαφορές μεταξύ των μητρών μπορεί να είναι απλές, όπως οι επιδράσεις που προκαλούνται από διαφορές στην επεξεργασία ή στην παρουσίασή τους, για παράδειγμα, ακατέργαστο έναντι παστεριωμένου, φρέσκο έναντι αποξηραμένου κτλ.

Περιορισμός εγγυήσεων / Περιορισμένη αποκατάσταση

ΕΚΤΟΣ ΕΑΝ ΔΗΛΩΝΕΤΑΙ ΡΗΤΑ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΗΣ ΕΓΓΥΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ, Η NEOGEN ΠΑΡΑΙΤΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΡΗΤΕΣ ΚΑΙ ΕΝΝΟΟΥΜΕΝΕΣ ΕΓΓΥΗΣΕΙΣ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΟΠΟΙΩΝΔΗΠΟΤΕ ΕΓΓΥΗΣΕΩΝ ΕΜΠΟΡΕΥΣΙΜΟΤΗΤΑΣ Ή ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΓΙΑ ΜΙΑ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ. Εάν οποιοδήποτε προϊόν Neogen Food Safety είναι ελαττωματικό, η Neogen ή ο εξουσιοδοτημένος διανομέας της, σύμφωνα με την κρίση τους, θα αντικαταστήσουν ή επιστρέψουν την αξία αγοράς του προϊόντος. Αυτοί είναι οι αποκλειστικοί τρόποι αποκατάστασης. Πρέπει άμεσα και εντός εξήντα ημερών να γνωστοποιήσετε στην Neogen την ανεύρεση των πιθανολογούμενων ελαττωμάτων του προϊόντος και να επιστρέψετε το προϊόν στην Neogen. Επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο της Neogen ή τον εξουσιοδοτημένο διανομέα της Neogen για περαιτέρω ερωτήσεις.

Περιορισμός της ευθύνης της Neogen

Η NEOGEN ΔΕΝ ΕΥΘΥΝΕΤΑΙ ΓΙΑ ΟΠΟΙΑΔΗΠΟΤΕ ΑΠΩΛΕΙΑ Ή ΖΗΜΙΑ, ΕΙΤΕ ΑΜΕΣΗ, ΕΜΜΕΣΗ, ΕΙΔΙΚΗ, ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗ Ή ΑΠΟΘΕΤΙΚΗ ΖΗΜΙΑ, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΩΝ ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ, ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΑ, ΔΙΑΦΥΓΟΝΤΩΝ ΚΕΡΔΩΝ. Η ευθύνη της Neogen δεν υπερβαίνει σε καμία περίπτωση και υπό καμία νομική θεωρία την αξία αγοράς του προϊόντος που εικάζεται ότι είναι ελαττωματικό.

Αποθήκευση και απόρριψη

Φυλάσσετε την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* στους 2-8°C (35-47°F). Να μην καταψύχεται. Αποφεύγετε την έκθεση του κιτ στο φως κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Αφού ανοίξετε το κιτ, ελέγξτε ότι το αλουμινένιο σακουλάκι είναι άθικτο. Εάν το αλουμινένιο σακουλάκι έχει υποστεί ζημιά, μη χρησιμοποιήσετε το προϊόν. Μετά το άνοιγμα, οι αχρησιμοποίητοι δοκιμαστικοί σωλήνες αντιδραστηρίων πρέπει πάντοτε να φυλάσσονται στο επανασφραγιζόμενο σακουλάκι μαζί με το αφυγραντικό μέσο, ώστε να διατηρείται η σταθερότητα των λυοφιλοποιημένων αντιδραστηρίων. Φυλάσσετε τα επανασφραγισμένα σακουλάκια στους 2-8°C (35-47°F) για χρονικό διάστημα όχι μεγαλύτερο από 90 ημέρες.

Μη χρησιμοποιείτε την Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* μετά την ημερομηνία λήξης. Η ημερομηνία λήξης και ο αριθμός παρτίδας επισημαίνονται στην εξωτερική ετικέτα του κουτιού. Μετά τη χρήση, το μέσο εμπλουτισμού και οι δοκιμαστικοί σωλήνες της Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* μπορεί ενδεχομένως να περιέχουν παθογόνα υλικά. Μετά την ολοκλήρωση του ελέγχου, τηρείτε τα τρέχοντα βιομηχανικά πρότυπα για την απόρριψη μολυσμένων αποβλήτων. Για επιπλέον πληροφορίες συμβουλευθείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας και τους τοπικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη.

Οδηγίες χρήσης

Τηρείτε προσεκτικά όλες τις οδηγίες. Η μη τήρηση των οδηγιών μπορεί να οδηγήσει σε ανακριβή αποτελέσματα.

Απολυμαίνετε περιοδικά τους πάγκους και τον εξοπλισμό του εργαστηρίου (πιπέτες, εργαλεία σφράγισης/αποσφράγισης κτλ.) με διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) ή με διάλυμα απομάκρυνσης DNA.

Ο χρήστης πρέπει να ολοκληρώσει την εκπαίδευση πιστοποίησης χειριστή (OQ) για το Neogen Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης, όπως περιγράφεται στο έγγραφο "Πρωτόκολλα και οδηγίες πιστοποίησης εγκατάστασης (IQ) / πιστοποίησης λειτουργίας (OQ) για το Neogen Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης"[6].

Προπαρασκευή του μέσου

Παρασκευάστε το Neogen® *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα (CE250) σύμφωνα με τις πληροφορίες του προϊόντος. **Μην κλιβανίσετε το μέσο πριν τη χρήση.** Χρησιμοποιήστε το παρασκευασμένο μέσο εντός 24 ωρών από την παρασκευή του. Φυλάξτε τον παρασκευασμένο ζωμό στους 2-8°C[7] προστατευμένο από το φως εάν δεν πρόκειται να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά την παρασκευή του. Βεβαιωθείτε ότι το μέσο έχει έρθει σε θερμοκρασία 20-30°C πριν τη χρήση.

Συλλογή του δείγματος

Ο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα δεν πρέπει να χρησιμοποιείται για έκπλυση πουλερικών ή ως μέσο μεταφοράς. Συλλέγετε και μεταφέρετε τα δείγματα σύμφωνα με τις καθιερωμένες διαδικασίες σας για τη συλλογή δειγμάτων.

Εμπλουτισμός του δείγματος

Ο Πίνακας 2 παρουσιάζει οδηγίες για γενικά πρωτόκολλα εμπλουτισμού για δείγματα τροφίμων και περιβαλλοντικών δειγμάτων.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη η επικύρωση εναλλακτικών πρωτοκόλλων δειγματοληψίας ή αναλογιών αραίωσης, προκειμένου να διασφαλιστεί ότι αυτή η μέθοδος ελέγχου πληροί τα κριτήρια του χρήστη.

Προπαρασκευή δείγματος

α. Εκπλύματα σφαγίων και εκπλύματα από μέρη ωμών πουλερικών

1. Εκπλύνετε ένα εκσπλαχνισμένο σφάγιο ωμού πουλερικού με 400 mL ρυθμιστικού νερού πεπτόνης (BPW) για ένα λεπτό. Εάν εκπλένετε μέρη ωμών πουλερικών, εκπλύνετε από 1,8 έως 2 Kg (4 lb ± 10%) μέρη πουλερικών με 400 mL BPW[1,8].
2. Για σφάγια και μέρη ωμών πουλερικών, αφήστε το περίσσιο υγρό να στάξει πριν εκπλύνετε το δείγμα για να αποφύγετε τη μεταφορά του περίσσιου υγρού επεξεργασίας στον σάκο δείγματος[8].
3. Για πουλερικά που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με χλωριούχο κετυλοπυριδίνιο (CPC), είναι απαραίτητο να προστεθούν 5 mL ανά L Πολυσορβικού 80 (IUPAC: Μονοελαϊκή πολυοξυαιθυλενο (20) σορβιτάνη , CAS 9005-65-6) στον παρασκευασμένο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα. Το Πολυσορβικό 80 μπορεί να προστεθεί στο νερό πριν την αποστείρωση για να διευκολύνει τη διάλυση ή μπορεί να προστεθεί απευθείας στο αποστειρωμένο νερό πριν παρασκευαστεί ο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα.
4. Μεταφέρετε άσηπτα 30 mL εκπλύματος σε έναν αποστειρωμένο σάκο και προσθέστε 30 mL Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα.

β. Σπόγγος σφαγίου

1. Οι σπόγγοι πρέπει να ενυδατωθούν πριν τη λήψη του δείγματος με έως και 25 mL BPW πριν τη λήψη του δείγματος[1]. Εάν μεταφέρετε τα δείγματα, διασφαλίστε ότι η άκρη του σάκου έχει τυλιχτεί προς τα κάτω και ο σάκος φυλάσσεται στους 2-8°C.
2. Λάβετε επίχρισμα του σφαγίου πουλερικών με μάκτρο ή συλλέξτε το δείγμα με σπόγγο.
3. Τοποθετήστε το μάκτρο σε αποστειρωμένο σάκο και προσθέστε 25 mL Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα. Διασφαλίστε ότι το μάκτρο ή ο σπόγγος καλύπτεται από το μέσο εμπλουτισμού.

γ. Προϊόντα ωμών πουλερικών

1. Ζυγίστε άσηπτα 325 ± 32,5 g δείγματος και τοποθετήστε το σε αποστειρωμένο σάκο. Προσθέστε 1625 ± 32,5 mL BPW στο προϊόν ωμού πουλερικού. Για να διαλύσετε τους σβώλους, αναμίξτε καλά μαλάζοντας λίγο με το χέρι.
2. Μετά από την ανάμιξη, προσθέστε 30 mL από το μίγμα του προϊόντος ωμών πουλερικών σε αποστειρωμένο σάκο και, στη συνέχεια, προσθέστε 30 mL από Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα και αναμίξτε πλήρως.

δ. Ωμό κρέας και κρέας έτοιμο προς βρώση

1. Ζυγίστε άσηπτα 25 g δείγματος και τοποθετήστε το σε αποστειρωμένο σάκο. Προς διευκόλυνση της δειγματοληψίας, συνιστάται σάκος με φίλτρο.
2. Προσθέστε 225 mL Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα.
3. Μαλάξτε με το χέρι για να διαλύσετε τους σβώλους, αποφεύγοντας να δημιουργήσετε φυσαλίδες κατά τη μίξη. Μην υποβάλλετε τον σάκο σε διαδικασία τύπου ομογενοποίησης ή ανάδευσης.

ε. Μάκτρα για μπότες (boot swabs) για πρωτογενή παραγωγή

1. Συλλέξτε το δείγμα με μάκτρα για μπότες (boot swabs) ή κάλτσες σύμφωνα με τις καθιερωμένες διαδικασίες σας για τη συλλογή δειγμάτων.
2. Τοποθετήστε MIA κάλτσα μέσα σε αποστειρωμένο σάκο και προσθέστε 100 mL Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα.

στ. Μάκτρο συρσίματος (drag swab)

1. Συλλέξτε το δείγμα με προ-ενυδατωμένη συσκευή μάκτρου, σύμφωνα με τις καθιερωμένες διαδικασίες σας για τη συλλογή δειγμάτων.
2. Τοποθετήστε το μάκτρο σε αποστειρωμένο σάκο και προσθέστε 100 mL Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα.

Επώαση του εμπλουτισμού

1. Τυλίξτε την άκρη του σάκου προς τα κάτω για να ελαχιστοποιήσετε τον υπερκείμενο χώρο και να αποτρέψετε την έκθεση του εμπλουτισμού σε αέρα. Μαλάξτε ήπια τον σάκο για περίπου 10 ± 2 δευτερόλεπτα. **Μην υποβάλλετε τον σάκο σε διαδικασία τύπου ομογενοποίησης ή ανάδευσης και αποφύγετε τη δημιουργία φυσαλίδων κατά τη μίξη.**
2. Επωάστε τον σάκο αερόβια στους 41,5 ± 1°C, ανατρέξτε στον πίνακα 2 για τον κατάλληλο χρόνο επώασης.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ: Σε περίπτωση που επιλέξετε να χρησιμοποιήσετε ουδετεροποιητικό ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει αρυλ-σουλφονικό σύμπλοκο ως ενυδατικό διάλυμα για τον σπόγγο, απαιτείται να πραγματοποιήσετε αραίωση 1:2 (1 μέρος δείγματος σε 1 μέρος στείρου ζωμού εμπλουτισμού) του εμπλουτισμένου περιβαλλοντικού δείγματος πριν από τον έλεγχο, έτσι ώστε να μειώσετε τους κινδύνους που σχετίζονται με ένα ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα που θα μπορούσε να οδηγήσει σε αποδέσμευση μολυσμένου προϊόντος. Μια άλλη επιλογή είναι να μεταφέρετε 10 μL ουδετεροποιητικού ρυθμιστικού διαλύματος εμπλουτισμού μέσα στους δοκιμαστικούς σωλήνες Neogen Διαλύματος Λύσης.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη η επικύρωση εναλλακτικών πρωτοκόλλων δειγματοληψίας ή αναλογιών αραίωσης, προκειμένου να διασφαλιστεί ότι αυτή η μέθοδος ελέγχου πληροί τα κριτήρια του χρήστη.

Πίνακας 2. Γενικά Πρωτόκολλα Εμπλουτισμού.

Πίνακας δειγμάτων	Μέγεθος δείγματος	Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα (mL)(β)	Θερμοκρασία εμπλουτισμού (±1°C)	Χρόνος εμπλουτισμού (ώρες)	Όγκος ανάλυσης δείγματος (μL)(γ)
• Εκπλύματα σφαγίων(α) • Εκπλύματα από μέρη πουλερικών(α)	30 mL εκπλύματος σε BPW	30	41,5	22-26	20
• Σπόγγος σφαγίου(α)	1 σπόγγος προ-ενυδατωμένος με έως και 25 mL BPW	25	41,5	22-26	20
• Ωμό κρέας • Κρέας έτοιμο προς βρώση	25 g	225	41,5	24-28	20
• Μάκτρα για μπότες για πρωτογενή παραγωγή	1 μάκτρο για μπότες	100	41,5	22-26	20
• Μάκτρο συρσίματος για πρωτογενή παραγωγή	1 προ-ενυδατωμένη συσκευή μάκτρου	100	41,5	22-26	20

(α) Εάν τα πουλερικά έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με χλωριούχο κετυλοπυριδίνιο (CPC), είναι απαραίτητο να προστεθούν 5 mL ανά L Πολυσορβικού 80 (IUPAC: Μονοελαϊκή πολυοξυαιθυλενο (20) σορβιτάνη, CAS 9005-65-6) στο παρασκευασμένο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα. Το Πολυσορβικό 80 μπορεί να προστεθεί στο νερό πριν την αποστείρωση ή μπορεί να προστεθεί στο αποστειρωμένο νερό πριν παρασκευαστεί ο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα.

(β) Ο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός 24 ωρών από την Παρασκευή του. Το μέσο πρέπει να βρίσκεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25-30°C) πριν τη χρήση.

(γ) Πριν τη συλλογή του δείγματος εμπλουτισμού για ανάλυση, μαλάξτε ήπια τον πυθμένα του σάκου. **Μετά τη συλλογή του δείγματος, τυλίξτε την άκρη του σάκου προς τα κάτω για να αποτρέψετε την έκθεση του εμπλουτισμού στον αέρα.** Μπορεί να απαιτείται πρόσθετο δείγμα για τα στάδια επανάληψης του ελέγχου ή επιβεβαίωσης.

Ειδικές οδηγίες για επικυρωμένες μεθόδους

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) Πιστοποιητικό #111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

Στις μελέτες του Ερευνητικού Ινστιτούτου AOAC PTM℠, η Neogen Δοκιμασία Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* βρέθηκε ότι αποτελεί αποτελεσματική μέθοδο για την ανίχνευση του *Καμπυλοβακτηριδίου*. Οι μήτρες που ελέγχθηκαν στη μελέτη παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Πρωτόκολλα Εμπλουτισμού σύμφωνα με το AOAC PTM℠ Πιστοποιητικό #111803.

Πίνακας δειγμάτων	Μέγεθος δείγματος	Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα (mL)(γ)	Θερμοκρασία εμπλουτισμού (±1°C)	Χρόνος εμπλουτισμού (ώρες)	Όγκος ανάλυσης δείγματος (μL)(δ)
Ολόκληρο σφάγιο ξεπλυμένο σε 400 mL BPW(α) (β)	30 mL εκπλύματος σε BPW	30	41,5	22-26	20
Μέρος πουλερικού (1,8 έως 2 Kg) ξεπλυμένο σε 400 mL BPW(α) (β)	30 mL εκπλύματος σε BPW	30	41,5	22-26	20
Σπόγγος σφαγίου γαλοπούλας(α) (β)	1 σπόγγος προ-ενυδατωμένος με έως και 25 mL BPW	25	41,5	24-26	20
Ωμά αλεσμένα πουλερικά (325 ± 32,5 g) ξεπλυμένα σε 1625 ± 32,5 mL BPW(β)	30 mL μίγματος προϊόντος σε BPW	30	41,5	24-28	20
Κοτομπουκιές	25 g	225	41,5	24-28	20

(α) Εάν τα πουλερικά έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με χλωριούχο κετυλοπυριδίνιο (CPC), είναι απαραίτητο να προστεθούν 5 mL ανά L Πολυσορβικού 80 (IUPAC: Μονοελαϊκή πολυοξυαιθυλενο (20) σορβιτάνη, CAS 9005-65-6) στο παρασκευασμένο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα. Το Πολυσορβικό 80 μπορεί να προστεθεί στο νερό πριν την αποστείρωση ή μπορεί να προστεθεί στο αποστειρωμένο νερό πριν παρασκευαστεί ο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα.

(β) Εναλλακτικά, αυτή η μήτρα μπορεί να εμπλουτιστεί με 30 mL 2X Εμπλουτιστικού Διαλύματος Bolton απαλλαγμένο από αίμα (BF-BEB) για 48 ± 2 h στους 42 ± 1,0°C σε μικροαερόβιες συνθήκες. Μεταφέρετε 20 μL δείγματος σε Neogen Διάλυμα Λύσης.

(γ) Ο Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός 24 ωρών από την παρασκευή του. Το μέσο πρέπει να βρίσκεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25-30°C) πριν τη χρήση.

(δ) Πριν τη συλλογή του δείγματος εμπλουτισμού για ανάλυση, μαλάξτε ήπια τον πυθμένα του σάκου. **Μετά τη συλλογή του δείγματος, τυλίξτε την άκρη του σάκου προς τα κάτω για να αποτρέψετε την έκθεση του εμπλουτισμού στον αέρα.** Μπορεί να απαιτείται πρόσθετο δείγμα για τα στάδια επανάληψης του ελέγχου ή επιβεβαίωσης.

Προετοιμασία του Neogen® Δίσκου Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης

1. Βρέξτε ένα πανί ή πετσέτα μίας χρήσης με διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) και σκουπίστε τον Neogen Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης.
2. Ξεπλύνετε τον Neogen Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης με νερό.
3. Χρησιμοποιήστε μια πετσέτα μίας χρήσης για να στεγνώσετε τον Neogen Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης.
4. Διασφαλίστε ότι ο Neogen Δίσκος Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης είναι στεγνός πριν τη χρήση.

Προετοιμασία του Neogen® Ένθετου Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης

Τοποθετήστε το Neogen Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης απευθείας στον πάγκο του εργαστηρίου: Ο Neogen Δίσκος Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης δεν χρησιμοποιείται. Χρησιμοποιήστε το ένθετο υποδοχής σωλήνων σε θερμοκρασία περιβάλλοντος εργαστηρίου (20-25°C).

Προετοιμασία του Neogen® Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρος Μοριακής Ανίχνευσης

Τοποθετήστε το Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης σε μια διπλή μονάδα υποδοχής σωλήνων ξηρής θέρμανσης. Ενεργοποιήστε τη μονάδα ξηρής θέρμανσης και ρυθμίστε τη θερμοκρασία για να επιτρέψετε στο Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης να φθάσει και να διατηρήσει θερμοκρασία 100 ± 1°C.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ανάλογα με τη μονάδα θέρμανσης, αφήστε το Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης να φθάσει στην κατάλληλη θερμοκρασία για περίπου 30 λεπτά. Χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο, βαθμονομημένο θερμόμετρο (π.χ. θερμόμετρο μερικής εμβύθισης ή ψηφιακό θερμόμετρο θερμοστοιχείου, όχι θερμόμετρο ολικής εμβύθισης) τοποθετημένο στην καθορισμένη θέση, επαληθεύστε ότι το Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης βρίσκεται στους 100 ± 1°C.

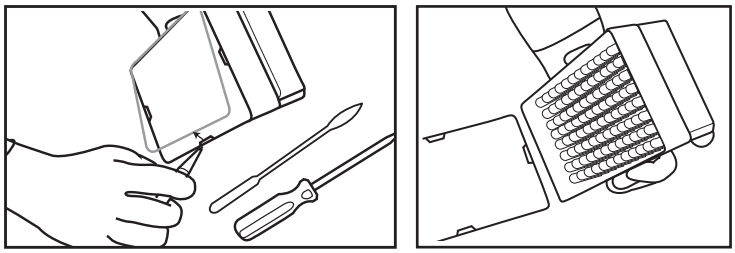
Προετοιμασία του Neogen® Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης

1. Ξεκινήστε το Neogen® Λογισμικό Μοριακής Ανίχνευσης και συνδεθείτε. Επικοινωνήστε με τον τοπικό σας αντιπρόσωπο της Neogen Food Safety για να διασφαλίσετε ότι διαθέτετε την τελευταία έκδοση του λογισμικού.
2. Ενεργοποιήστε το Neogen Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.
3. Δημιουργήστε ή επεξεργαστείτε μια διαδικασία με δεδομένα για κάθε δείγμα. Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του Neogen Σύστημα Μοριακής Ανίχνευσης για λεπτομέρειες.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Το Neogen Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης πρέπει να φθάσει σε κατάσταση ετοιμότητας προτού εισαχθεί ο Neogen Δίσκος Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης με τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντίδρασης. Αυτό το στάδιο θέρμανσης διαρκεί περίπου 20 λεπτά και υποδεικνύεται με ένα ΠΟΡΤΟΚΑΛΙ φως στη γραμμή κατάστασης του συστήματος. Όταν το σύστημα είναι έτοιμο για να ξεκινήσει μια διαδικασία, η γραμμή κατάστασης θα γίνει ΠΡΑΣΙΝΗ.

Λύση

Αφαιρέστε τον πυθμένα του στατώ Neogen Διαλύματος Λύσης με ένα κατσαβίδι πριν το τοποθετήσετε στο Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης.



1. Αφήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες Neogen Διαλύματος Λύσης να θερμανθούν αφήνοντας το στατώ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (20-25°C) κατά τη διάρκεια της νύχτας (16-18 ώρες). Εναλλακτικές λύσεις για την εξισορρόπηση των δοκιμαστικών σωλήνων Neogen Διαλύματος Λύσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος είναι να αφήσετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες Neogen Διαλύματος Λύσης επάνω στον πάγκο του εργαστηρίου για τουλάχιστον 2 ώρες, να επωάσετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες Neogen Διαλύματος Λύσης σε επωαστήρα 37 ± 1°C για 1 ώρα ή να τους τοποθετήσετε σε διπλή μονάδα υποδοχής σωλήνων ξηρής θέρμανσης για 30 δευτερόλεπτα στους 100°C.
2. Αναστρέψτε τους πωματισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες για να αναμίξετε. Προχωρήστε στο επόμενο στάδιο εντός 4 ωρών μετά την αναστροφή.
3. **Βγάλτε το εμπλουτισμένο δείγμα από τον επωαστήρα.**
   - **3.1.1 Μαλάξτε ήπια τον πυθμένα του σάκου εμπλουτισμού πριν μεταφέρετε το δείγμα στον δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Διαλύματος Λύσης.**
   - **3.1.2 Μπορεί να απαιτείται πρόσθετο δείγμα για τα στάδια επανάληψης του ελέγχου ή επιβεβαίωσης. Μετά τη συλλογή του δείγματος, τυλίξτε την άκρη του σάκου προς τα κάτω για να ελαχιστοποιήσετε τον υπερκείμενο χώρο και να αποτρέψετε την έκθεση του εμπλουτισμού σε αέρα. Εάν απαιτείται επιβεβαίωση των υποθετικών αποτελεσμάτων, προχωρήστε στα στάδια επιβεβαίωσης μόλις ληφθεί ένα υποθετικό αποτέλεσμα.**
4. Απαιτείται ένας δοκιμαστικός σωλήνας Neogen Διαλύματος Λύσης για κάθε δείγμα και δείγμα NC (στείρο μέσο εμπλουτισμού).
   - 4.1 Οι σειρές των δοκιμαστικών σωλήνων Neogen Διαλύματος Λύσης μπορούν να κοπούν στον επιθυμητό αριθμό δοκιμαστικών σωλήνων. Επιλέξτε τον απαιτούμενο αριθμό των δοκιμαστικών σωλήνων ή τις απαιτούμενες σειρές των 8 δοκιμαστικών σωλήνων. Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες Neogen Διαλύματος Λύσης σε ένα κενό στατώ.
   - 4.2 Για να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση, αποσφραγίζετε μία σειρά δοκιμαστικών σωλήνων Neogen Διαλύματος Λύσης κάθε φορά, και χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε βήμα μεταφοράς.
   - 4.3 Μεταφέρετε το εμπλουτισμένο δείγμα στους δοκιμαστικούς σωλήνες Neogen Διαλύματος Λύσης όπως περιγράφεται παρακάτω:

Μεταφέρετε κάθε εμπλουτισμένο δείγμα σε μεμονωμένο σωλήνα Neogen Διαλύματος Λύσης **πρώτα**. Μεταφέρετε τον NC **τελευταίο**.

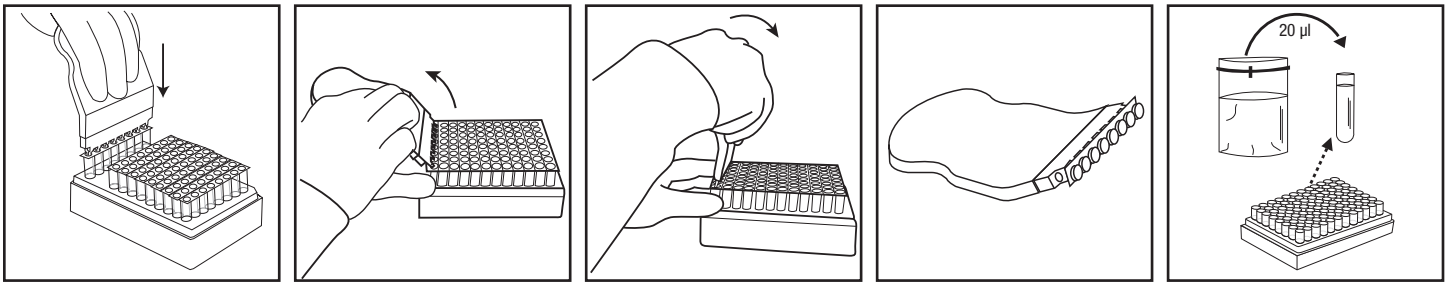
4.4 Χρησιμοποιήστε το Neogen® Εργαλείο Σφράγισης / Αποσφράγισης - Λύσης Μοριακής Ανίχνευσης για να αποσφραγίσετε μία σειρά δοκιμαστικών σωλήνων Neogen Διαλύματος Λύσης – μία σειρά κάθε φορά.

4.5 Απορρίψτε το πώμα του δοκιμαστικού σωλήνα Neogen Διαλύματος Λύσης – εάν το λύμα πρόκειται να διατηρηθεί για επανέλεγχο, τοποθετήστε τα πώματα μέσα σε ένα καθαρό δοχείο, για εκ νέου εφαρμογή μετά τη λύση.

4.5.1 Για την επεξεργασία του διατηρημένου λύματος, βλ. Παράρτημα Α.

4.6 Μεταφέρετε 20 µL δείγματος μέσα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Διαλύματος Λύσης.

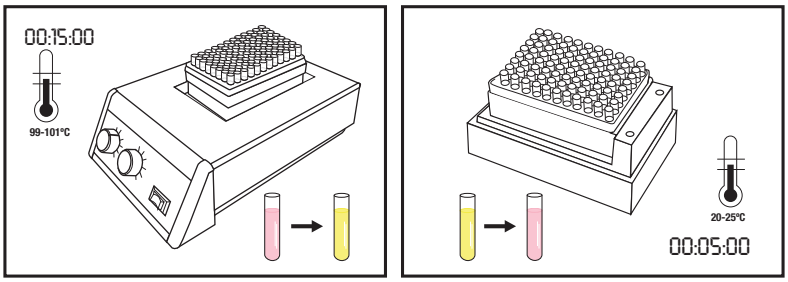
5. Επαναλάβετε τα βήματα 4.4 έως 4.6 όπως απαιτείται, για τον αριθμό των δειγμάτων προς έλεγχο.



6. Όταν έχουν μεταφερθεί όλα τα δείγματα, μεταφέρετε 20 µL NC (στείρο μέσο εμπλουτισμού, π.χ. BPW) μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Διαλύματος Λύσης. Μη χρησιμοποιείτε νερό ως NC.
7. Επαληθεύστε ότι η θερμοκρασία του Neogen Ένθετου για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης βρίσκεται στους 100 ± 1°C.
8. Τοποθετήστε το ακάλυπτο στατώ δοκιμαστικών σωλήνων Neogen Διαλύματος Λύσης στο Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης και θερμάνετε για 15 ± 1 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της θέρμανσης, το Neogen Διάλυμα Λύσης θα αλλάξει από ροζ (ψυχρό) σε κίτρινο (θερμό).

8.1 Δείγματα που δεν έχουν υποβληθεί στην κατάλληλη θερμική επεξεργασία κατά τη διάρκεια του σταδίου λύσης της δοκιμασίας μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανός βιολογικός κίνδυνος και ΔΕΝ πρέπει να εισάγονται στο Neogen Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης.

9. Αφαιρέστε το ακάλυπτο στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων Neogen Διαλύματος Λύσης από το Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης και αφήστε το να κρυώσει στο Neogen Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης για τουλάχιστον 5 λεπτά και μέγιστο 10 λεπτά. Το Neogen Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης, όταν χρησιμοποιείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς τον Neogen® Δίσκο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης, πρέπει να τοποθετηθεί απευθείας επάνω στον πάγκο του εργαστηρίου. Όταν κρυώσει, το Neogen Διάλυμα Λύσης θα αποκτήσει ξανά ροζ χρώμα.
10. Αφαιρέστε το στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων Neogen Διαλύματος Λύσης από το Neogen Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης.



Πολλαπλασιασμός

1. Απαιτείται ένας δοκιμαστικός σωλήνας αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* για κάθε δείγμα και τον NC.

1.1 Οι σειρές των δοκιμαστικών σωλήνων μπορούν να κοπούν στον επιθυμητό αριθμό δοκιμαστικών σωλήνων. Επιλέξτε τον απαιτούμενο αριθμό των μεμονωμένων δοκιμαστικών σωλήνων αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* ή τις απαιτούμενες σειρές των 8 δοκιμαστικών σωλήνων.

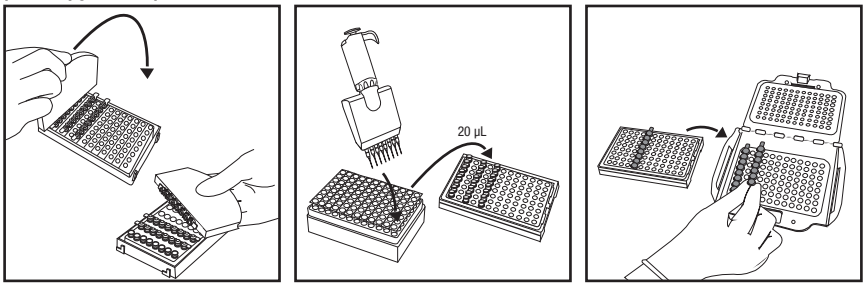
1.2 Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε ένα κενό στατώ.

1.3 Αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια του αντιδραστηρίου από τον πάτο των δοκιμαστικών σωλήνων.

2. Επιλέξτε έναν δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Έλεγχος Αντιδραστηρίου και τοποθετήστε τον στο στατώ.
3. Για να αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση, αποσφραγίζετε μία σειρά δοκιμαστικών σωλήνων αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* κάθε φορά, και χρησιμοποιείτε νέο ρύγχος πιπέτας για κάθε βήμα μεταφοράς.
4. Μεταφέρετε καθένα από τα λύματα σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* και δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Έλεγχος Αντιδραστηρίου, όπως περιγράφεται παρακάτω:

Μεταφέρετε κάθε λύμα δείγματος στους επιμέρους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* **πρώτα** και στη συνέχεια τον NC. Ενυδατώστε τον δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Έλεγχος Αντιδραστηρίου **τελευταίο**.

5. Χρησιμοποιήστε το Neogen® Εργαλείο Σφράγισης / Αποσφράγισης - Αντιδραστηρίου Μοριακής Ανίχνευσης για να αποσφραγίσετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* – μία σειρά κάθε φορά. Απορρίψτε το πώμα.
   5.1 **Μεταφέρετε 20 µL του λύματος δείγματος από το επάνω ½ του υγρού (αποφύγετε το ίζημα) του δοκιμαστικού σωλήνα Neogen Διαλύματος Λύσης στον αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter*. Χορηγήστε υπό γωνία για να αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια. Αναμίξτε πιπετάροντας προσεκτικά πάνω-κάτω 5 φορές.**
   5.2 Επαναλάβετε το βήμα 5.1 μέχρι το επιμέρους λύμα δείγματος να έχει προστεθεί σε έναν αντίστοιχο δοκιμαστικό σωλήνα Αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* στη σειρά.
   5.3 Καλύψτε τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* με τα παρεχόμενα επιπλέον πώματα και χρησιμοποιήστε τη στρογγυλευμένη πλευρά του Neogen Εργαλείου Σφράγισης / Αποσφράγισης - Αντιδραστηρίου Μοριακής Ανίχνευσης για να ασκήσετε πίεση με μια κίνηση εμπρός-πίσω, διασφαλίζοντας ότι το πώμα έχει εφαρμοστεί σφιχτά.
   5.4 Επαναλάβετε τα βήματα 5.1 έως 5.3 όπως απαιτείται, για τον αριθμό των δειγμάτων που είναι προς έλεγχο.
   5.5 Όταν έχουν μεταφερθεί όλα τα λύματα δείγματος, επαναλάβετε τα βήματα 5.1 έως 5.3 για να μεταφέρετε 20 µL του λύματος NC μέσα σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter*.
   5.6 Μεταφέρετε **20 µL του <u>λύματος NC</u> μέσα σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Έλεγχος Αντιδραστηρίου**. Χορηγήστε υπό γωνία για να αποφύγετε να διαταράξετε τα σφαιρίδια. Αναμίξτε πιπετάροντας προσεκτικά πάνω-κάτω 5 φορές.
6. Φορτώστε τους σφραγισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες σε έναν καθαρό και απολυμασμένο Neogen Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης. Κλείστε και ασφαλίστε το καπάκι του Neogen Δίσκου Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης.



7. Επιθεωρήστε και επιβεβαιώστε τη διαμορφωμένη διαδικασία στο Neogen Λογισμικό Μοριακής Ανίχνευσης.
8. Κάντε κλικ στο κουμπί Έναρξη στο λογισμικό και επιλέξτε το όργανο που θα χρησιμοποιηθεί. Το καπάκι του επιλεγμένου οργάνου ανοίγει αυτόματα.
9. Τοποθετήστε τον Neogen Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης μέσα στο Neogen Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης και κλείστε το καπάκι για να ξεκινήσετε τη δοκιμασία. Τα αποτελέσματα παρέχονται εντός 60 λεπτών, αν και τα θετικά μπορεί να ανιχνευθούν νωρίτερα.
10. Αφού ολοκληρωθεί η δοκιμασία, αφαιρέστε τον Neogen Δίσκο Ταχείας Φόρτωσης Μοριακής Ανίχνευσης από το Neogen Όργανο Μοριακής Ανίχνευσης και απορρίψτε τους δοκιμαστικούς σωλήνες μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων λόγω διασταυρούμενης μόλυνσης, ποτέ μην ανοίγετε τους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίων που περιέχουν πολλαπλασιασμένο DNA. Αυτό περιλαμβάνει τον δοκιμαστικό σωλήνα Αντιδραστηρίου Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter*, τον δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Έλεγχος Αντιδραστηρίου και τον δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Πίνακας Ελέγχου. Απορρίπτετε πάντοτε τους σφραγισμένους δοκιμαστικούς σωλήνες αντιδραστηρίου μουλιάζοντάς τους σε διάλυμα οικιακής χλωρίνης 1-5% (όγκο κατ' όγκο σε νερό) για 1 ώρα και μακριά από την περιοχή προετοιμασίας της δοκιμασίας.

Αποτελέσματα και ερμηνεία

Ένας αλγόριθμος ερμηνεύει την καμπύλη παροχής φωτός που προκύπτει από την ανίχνευση του πολλαπλασιασμού των νουκλεϊνικών οξέων. Τα αποτελέσματα αναλύονται αυτόματα από το λογισμικό και κωδικοποιούνται χρωματικά με βάση το αποτέλεσμα. Ένα Θετικό ή Αρνητικό αποτέλεσμα καθορίζεται μέσω ανάλυσης ενός αριθμού μοναδικών παραμέτρων της καμπύλης. Τα υποθετικά Θετικά αποτελέσματα αναφέρονται σε πραγματικό χρόνο, ενώ τα Αρνητικά και τα αποτελέσματα Προς Επιθεώρηση εμφανίζονται μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας.

Τα υποθετικά θετικά δείγματα πρέπει να επιβεβαιώνονται σύμφωνα με τις σύνηθες διαδικασίες λειτουργίας του εργαστηρίου ή ακολουθώντας την κατάλληλη επιβεβαίωση μεθόδου αναφοράς[1,2], αρχίζοντας με τη μεταφορά από τον πρωτογενή εμπλουτισμό Neogen *Καμπυλοβακτηριδίου*, Εμπλουτιστικού Διαλύματος σε επιλεκτικούς δίσκους Neogen *Καμπυλοβακτηρίδιο*, Εμπλουτιστικό Διάλυμα, και την επιβεβαίωση των απομονώσεων χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες βιοχημικές, μικροσκοπικές και οροδιαγνωστικές μεθόδους. Για τη βέλτιστη διατήρηση του εμπλουτισμού, τυλίξτε προς τα κάτω την άκρη του σάκου εμπλουτισμού μετά τη συλλογή του δείγματος.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ακόμα και ένα αρνητικό δείγμα δεν θα δώσει μηδενική ένδειξη, καθώς το σύστημα και τα αντιδραστήρια πολλαπλασιασμού Neogen Δοκιμασίας Μοριακής Ανίχνευσης 2 - *Campylobacter* έχουν μια σχετική μονάδα φωτός (RLU) "υπόβαθρου".

Στη σπάνια περίπτωση ασυνήθιστου φωτισμού, ο αλγόριθμος το επισημαίνει ως Προς Επιθεώρηση. Η Neogen συνιστά στο χρήστη να επαναλάβει τη δοκιμασία για όλα τα δείγματα Προς Επιθεώρηση. Εάν το αποτέλεσμα συνεχίζει να είναι Προς Επιθεώρηση, προχωρήστε στον έλεγχο επιβεβαίωσης χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που προτιμάτε ή όπως καθορίζεται από τους τοπικούς κανονισμούς[1,2].

Παράρτημα Α. Διακοπή πρωτοκόλλου: Αποθήκευση και επανέλεγχος θερμικά επεξεργασμένων λυμάτων

1. Για να αποθηκεύσετε ένα θερμικά επεξεργασμένο λύμα, επαναπωματίστε το δοκιμαστικό σωλήνα Neogen Διαλύματος Λύσης με ένα καθαρό πώμα (βλ. ενότητα Λύση, 4.5)
2. Αποθηκεύστε στους 2 έως 8°C για έως 72 ώρες.
3. Προετοιμάστε ένα αποθηκευμένο δείγμα για πολλαπλασιασμό αναστρέφοντας 2–3 φορές για να αναμίξετε.
4. Αφαιρέστε το πώμα από τους δοκιμαστικούς σωλήνες.
5. Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες με το αναμεμιγμένο λύμα στο Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης και θερμάνετε στους 100 ± 1°C για 5 ± 1 λεπτά.
6. Αφαιρέστε το στατώ των δοκιμαστικών σωλήνων Neogen Διαλύματος Λύσης από το Neogen Ένθετο για Υποδοχή Σωλήνων Θερμαντήρα Μοριακής Ανίχνευσης και αφήστε το να κρυώσει στο Neogen Ένθετο Υποδοχής Σωλήνων για Ψύξη Μοριακής Ανίχνευσης για τουλάχιστον 5 λεπτά και μέγιστο 10 λεπτά.
7. Συνεχίστε το πρωτόκολλο στην ενότητα **Πολλαπλασιασμός** που περιγράφεται λεπτομερώς παραπάνω.

Παραπομπές:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Επικοινωνήστε με τον εκπρόσωπο της Neogen Food Safety για να λάβετε αντίγραφο αυτού του εγγράφου.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Επεξήγηση συμβόλων

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Informacje o produkcie

Molekularny test do wykrywania 2 – *Campylobacter*

Opis i przeznaczenie produktu

Molekularny test Neogen® do wykrywania 2 – *Campylobacter* stosuje się razem z Systemem Neogen® do diagnostyki molekularnej w celu szybkiego i swoistego wykrywania bakterii *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* i *Campylobacter coli* w przednamnożonych próbkach żywności oraz środowiska przetwarzania żywności.

Molekularny test Neogen do wykrywania wykorzystuje metodę pętlowej amplifikacji izotermicznej do szybkiego namnażania sekwencji kwasów nukleinowych z zachowaniem wysokiej swoistości i czułości, w połączeniu z bioluminescencją do wykrywania amplifikacji. Domniemane wyniki dodatnie przekazywane są w czasie rzeczywistym, zaś wyniki ujemne wyświetlą się po zakończeniu testu. Domniemane wyniki dodatnie wymagają potwierdzenia preferowaną metodą lub metodą wynikającą z lokalnych przepisów[1,2].

Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* jest przeznaczony do stosowania w środowisku laboratoryjnym przez specjalistów przeszkolonych w zakresie praktyk laboratoryjnych. Firma Neogen nie udokumentowała zastosowania tego produktu w gałęziach przemysłu innych niż żywność i napoje. Przykładowo firma Neogen nie udokumentowała zastosowania tego produktu do badania próbek leków, kosmetyków, próbek klinicznych ani weterynaryjnych. Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* nie oceniono w przypadku wszystkich możliwych produktów spożywczych, procesów przetwarzania żywności, protokołów testowych ani w przypadku wszystkich dostępnych szczepów bakterii.

Podobnie jak w przypadku wszystkich metod testowych, pochodzenie, skład i jakość podłoża wzbogacającego może mieć wpływ na otrzymywane wyniki. Czynniki takie jak metody pobierania próbek, protokoły przeprowadzania badań, przygotowanie próbki, postępowanie i techniki laboratoryjne również mogą wpłynąć na wynik badania. Firma Neogen zaleca przeprowadzenie przez użytkownika oceny metody, w tym podłoża do przednamnażania, z zastosowaniem odpowiedniej liczby próbek konkretnej żywności oraz próbek problematycznych pod względem rozwoju drobnoustrojów, aby zapewnić, że dana metoda spełnia potrzeby użytkownika.

Firma Neogen dokonała oceny Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* z zastosowaniem bulionu wzbogacającego Neogen® *Campylobacter* i bulionu wzbogacającego Boltona niezawierającego krwi.

Urządzenie Neogen® do diagnostyki molekularnej należy stosować z próbkami poddanymi obróbce cieplnej na etapie lizy, której zadaniem jest zniszczenie organizmów obecnych w próbce. Próbki, które nie przeszły odpowiedniej obróbki cieplnej na etapie lizy, można uznać za potencjalne zagrożenie biologiczne i NIE należy ich umieszczać w Urządzeniu Neogen do diagnostyki molekularnej.

Firma Neogen Food Safety została wyróżniona certyfikatem ISO (ang. International Organization for Standardization — Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna) 9001 w zakresie projektowania i wytwarzania.

Zestaw testów Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* zawiera 96 testów opisanych w Tabeli 1.

Tabela 1. Elementy zestawu Molekularnego testu Neogen do wykrywania

Element	Charakterystyka	Liczba sztuk	Zawartość	Komentarze
Roztwór lizujący Neogen® (LS)	Różowy roztwór w przezroczystych probówkach	96 (12 taśm z 8 probówkami)	580 µl LS na probówkę	Ustawione w statywie i gotowe do użytku
Probówki z reagentami Molekularnego testu Neogen® do wykrywania 2 – *Campylobacter*	Fioletowe probówki	96 (3 woreczki zawierające po 4 taśmy z 8 probówkami)	Liofilizowana swoista mieszanina do amplifikacji i wykrywania	Gotowe do użycia
Dodatkowe korki	Fioletowe korki	96 (12 taśm z 8 korkami)		Gotowe do użycia
Kontrola Neogen® reagenta (RC)	Przezroczyste probówki z korkiem zatrzaskowym	16 (2 woreczki po 8 oddzielnych probówek)	Liofilizowane DNA kontrolne, mieszanina do amplifikacji i wykrywania	Gotowe do użycia

Kontrola ujemna (NC), której nie dostarczono w zestawie, to jałowe podłoże przednamnażające, np. bulion wzbogacający Neogen *Campylobacter*. Nie stosować wody jako NC.

Skrócona instrukcja obsługi jest dostępna pod adresem: www.neogen.com

Bezpieczeństwo

Użytkownik powinien dokładnie zapoznać się ze wszystkimi informacjami dotyczącymi bezpieczeństwa zawartymi w instrukcji dotyczącej Systemu Neogen do diagnostyki molekularnej oraz Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* i się do nich stosować. Instrukcję bezpieczeństwa należy zachować do przyszłego wykorzystania.

⚠ OSTRZEŻENIE: Oznacza niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie braku podjęcia środków zapobiegawczych, mogą być poważne obrażenia ciała lub śmierć i/lub uszkodzenie mienia.

WAŻNA INFORMACJA: Oznacza potencjalnie niebezpieczną sytuację, której skutkiem, w razie niepodjęcia środków zapobiegawczych, może być uszkodzenie mienia.

⚠ OSTRZEŻENIE

Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* nie należy stosować do diagnozowania stanu zdrowotnego ludzi ani zwierząt.

Obowiązkiem użytkownika jest przeszkolenie personelu w zakresie aktualnych, odpowiednich technik badań: na przykład w zakresie dobrych praktyk laboratoryjnych[3], ISO/IEC 17025[4] lub ISO 7218[5].

Aby zmniejszyć ryzyko związane z wynikiem fałszywie ujemnym prowadzącym do wydania zanieczyszczonego produktu:

- Należy postępować zgodnie z protokołem i wykonywać testy zgodnie z zaleceniami podanymi w Informacjach o produkcie.
- Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* należy przechowywać w sposób podany na opakowaniu i w Informacjach o produkcie.
- Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* należy stosować wyłącznie przed upływem terminu ważności.
- Bulion wzbogacający Neogen® *Campylobacter* należy przygotować zgodnie z Informacjami o produkcie.
- Nie umieszczać bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter* w autoklawie.
- Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* należy stosować w odniesieniu do próbek spożywczych i środowiskowych poddanych walidacji wewnętrznej lub przez osoby trzecie.
- Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* należy stosować wyłącznie w połączeniu z powierzchniami, środkami odkażającymi, protokołami i szczepami bakterii poddanymi walidacji wewnętrznej lub przez osoby trzecie.
- W przypadku próbki środowiskowej zawierającej bufor neutralizujący z kompleksem sulfonianu arylu przed rozpoczęciem badania należy przygotować roztwór rozcieńczony w stosunku 1:2 (1 część próbki w 1 części jałowego bulionu przednamnażającego). Inną możliwością jest przeniesienie 10 µl przednamnażającego buforu neutralizującego do probówek z roztworem lizującym Neogen. Produkty firmy Neogen® do postępowania z próbkami, które zawierają bufor neutralizujący z kompleksem sulfonianu arylu: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G i HS2410NB2G.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z narażeniem na substancje chemiczne i zagrożenia biologiczne:

- Badania patogenów należy prowadzić w odpowiednio wyposażonym laboratorium pod kontrolą przeszkolonego personelu. Inkubowane podłoże przednamnażające oraz sprzęt lub powierzchnie, które mogły mieć kontakt z inkubowanym podłożem wzbogacającym, mogą zawierać patogeny na poziomie zagrażającym ludzkiemu zdrowiu.
- Należy zawsze przestrzegać standardowych laboratoryjnych praktyk bezpieczeństwa, łącznie z noszeniem odpowiedniej odzieży i okularów ochronnych przy pracy z reagentami i skażonymi próbkami.
- Należy unikać kontaktu z podłożem przednamnażającym oraz probówkami reagentowymi po amplifikacji.
- Przednamnożone próbki należy utylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami lokalnymi, regionalnymi, krajowymi i normami regulacyjnymi.
- Próbki, które nie przeszły odpowiedniej obróbki cieplnej na etapie lizy, można uznać za potencjalne zagrożenie biologiczne i NIE należy ich umieszczać w Urządzeniu Neogen do diagnostyki molekularnej.

Aby zmniejszyć ryzyko związane z zanieczyszczeniem krzyżowym podczas przygotowania testu:

- Należy zawsze nosić rękawiczki (aby chronić użytkownika i zapobiegać wprowadzaniu nukleaz).

Aby zmniejszyć ryzyko związane z narażeniem na gorące płyny:

- Nie przekraczać zalecanych ustawień temperatury w bloku grzewczym.
- Nie przekraczać zalecanego czasu ogrzewania.

- Stosować odpowiedni, skalibrowany termometr do potwierdzenia poprawności temperatury Wkładki Neogen® bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej (np. termometr zanurzeniowy zanurzany częściowo lub cyfrowy termometr z termoogniwem, ale nie termometr zanurzeniowy zanurzany całkowicie). Termometr należy umieścić w wyznaczonym miejscu Wkładki Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej.

WAŻNA INFORMACJA

Aby zmniejszyć ryzyko związane z zanieczyszczeniem krzyżowym podczas przygotowania testu:

- Zmienić rękawiczki przed nawodnieniem probówek reagentowych.
- Zaleca się stosowanie jałowych końcówek pipet do biologii molekularnej z (filtrowaną) barierą aerozolową.
- Do każdego przeniesienia próbki używać nowej końcówki pipety.
- Przy przenoszeniu próbek z buforu przednamnażającego do probówki lizującej należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Aby uniknąć skażenia pipetora, użytkownik może zdecydować się dodać etap transferu pośredniego. Przykładowo można przenieść przednamnożoną próbkę do jałowej probówki.
- W miarę możliwości należy używać stanowiska badawczego biologii molekularnej z lampą bakteriobójczą.
- Należy okresowo dezynfekować stoły i sprzęt laboratoryjny (pipety, narzędzia do zakładania/zdejmowania korków itp.) za pomocą 1–5% (obj./obj., wodnego) roztworu domowego wybielacza lub roztworu do usuwania DNA.

Aby ograniczyć ryzyko związane z wynikiem fałszywie dodatnim:

- Nie otwierać probówek reagentowych po procesie amplifikacji.
- Zanieczyszczone probówki należy utylizować, namaczając je w 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworze domowego wybielacza przez 1 godzinę i wynosząc poza obszar przygotowania testów.
- Nie umieszczać probówek reagentowych w autoklawie po procesie amplifikacji.

Dodatkowe informacje oraz lokalne przepisy dotyczące utylizacji zawiera karta charakterystyki produktu.

W przypadku pytań dotyczących konkretnych zastosowań lub procedur należy odwiedzić stronę www.neogen.com lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy Neogen.

Obowiązki użytkownika

Użytkownicy są zobowiązani do zapoznania się z instrukcjami oraz informacjami dotyczącymi produktu. W celu uzyskania dalszych informacji należy odwiedzić stronę internetową **www.neogen.com** lub skontaktować się z lokalnym przedstawicielem lub dystrybutorem firmy Neogen.

Przy wyborze metody testowania należy pamiętać, że takie czynniki zewnętrzne, jak metody próbkowania, protokoły testowania, przygotowanie próbki, dalsze postępowanie, technika laboratoryjna oraz sama próbka mogą wpływać na uzyskiwane wyniki.

Obowiązkiem użytkownika przy wyborze jakiejkolwiek metody testowania lub produktu jest poddanie ocenie dostatecznej liczby próbek z właściwymi macierzami i z uwzględnieniem zagrożeń powodowanych przez mikroorganizmy, tak aby zastosowana metoda mogła spełnić oczekiwania użytkownika i ustalone przez niego kryteria.

Obowiązkiem użytkownika jest również dopilnowanie, aby zastosowane metody testowania i uzyskane wyniki spełniały wymagania klienta i dostawcy.

Podobnie jak w przypadku każdej metody testowania wyniki uzyskiwane za pomocą produktu firmy Neogen Food Safety nie stanowią gwarancji jakości testowanych macierzy ani procesów.

Aby pomóc klientom ocenić metodę różnych macierzy spożywczych, firma Neogen opracowała zestaw Kontroli Neogen® macierzy do diagnostyki molekularnej. W razie potrzeby należy użyć zestawu Kontroli Neogen macierzy do diagnostyki molekularnej (MC) do ustalenia, czy dana macierz może wpływać na wyniki Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter*. Należy przetestować kilka próbek reprezentatywnych dla danej macierzy, czyli na przykład próbek pozyskanych z różnych źródeł, podczas dowolnego okresu walidacji przy stosowaniu metody firmy Neogen, a także podczas testowania nowych lub nieznanych macierzy albo macierzy, które zostały poddane zmianom (w zakresie procesowym lub surowcowym).

Macierz można zdefiniować jako typ produktu o nieodłącznych właściwościach, takich jak skład i proces wytwarzania. Różnice pomiędzy macierzami mogą być łatwo zauważalne, jak np. efekty spowodowane różnicami w procedurach obróbki lub prezentacji, przykładowo surowe lub pasteryzowane, świeże lub suszone itd.

Wyłączenia gwarancji / Ograniczone środki zaradcze

JEŚLI NIE ZOSTAŁO TO WYRAŹNIE OKREŚLONE W ROZDZIALE DOT. OGRANICZONEJ GWARANCJI POJEDYNCZYCH OPAKOWAŃ PRODUKTÓW, FIRMA NEOGEN WYŁĄCZA WSZELKIE GWARANCJE WYRAŹNE I DOROZUMIANE, W TYM MIĘDZY INNYMI WSZELKIE GWARANCJE ZGODNOŚCI Z PRZEZNACZENIEM I PRZYDATNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU. W razie wad jakiegokolwiek produktu firmy Neogen Food Safety firma Neogen lub jej autoryzowany dystrybutor wymieni taki produkt lub, wedle własnego uznania, zwróci koszty zakupu tego produktu. Są to jedyne przysługujące środki zaradcze. W ciągu 60 dni od wykrycia jakiejkolwiek podejrzewanej wady produktu należy niezwłocznie powiadomić firmę Neogen oraz zwrócić produkt. W przypadku dalszych pytań prosimy o kontakt z przedstawicielem firmy Neogen lub autoryzowanym dystrybutorem firmy Neogen.

Ograniczenie odpowiedzialności firmy Neogen

FIRMA NEOGEN NIE BĘDZIE ODPOWIEDZIALNA ZA JAKIEKOLWIEK SZKODY ANI STRATY, ZARÓWNO BEZPOŚREDNIE, POŚREDNIE, SZCZEGÓLNE, UBOCZNE LUB NASTĘPCZE, W TYM MIĘDZY INNYMI ZA UTRACONE ZYSKI. W żadnym wypadku odpowiedzialność firmy Neogen z mocy prawa nie może przekroczyć ceny zakupu rzekomo wadliwego produktu.

Przechowywanie i utylizacja

Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* należy przechowywać w temp. 2–8°C (35–47°F). Nie zamrażać. Podczas przechowywania chronić zestaw przed światłem. Po otwarciu zestawu należy sprawdzić, czy woreczek foliowy nie jest uszkodzony. Nie używać zestawu, jeżeli woreczek jest uszkodzony. Po otwarciu nieużywane probówki z reagentem należy przechowywać w woreczku wielokrotnego zamknięcia z pochłaniaczem wilgoci wewnątrz, co pozwoli zachować stabilność liofilizowanych reagentów. Ponownie zamknięte woreczki można przechowywać w temp. 2–8°C (35–47°F) maksymalnie przez 90 dni.

Nie stosować Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* po upływie daty ważności. Termin ważności i numer partii podano na zewnętrznej etykiecie pudełka. Po użyciu podłoże przednamnażające i probówki Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* mogą zawierać materiały patogenne. Po zakończeniu badania należy stosować się do aktualnych standardów branżowych dotyczących utylizacji zanieczyszczonych odpadów. Dodatkowe informacje oraz lokalne przepisy dotyczące utylizacji zawiera karta charakterystyki produktu.

Instrukcja użycia

Należy dokładnie przestrzegać wszystkich instrukcji. W przeciwnym razie wyniki mogą być niedokładne.

Należy okresowo dezynfekować stoły i sprzęt laboratoryjny (pipety, narzędzia do zakładania/zdejmowania korków itp.) za pomocą 1–5% (obj./obj., wodnego) roztworu domowego wybielacza lub roztworu do usuwania DNA.

Użytkownik powinien ukończyć szkolenie kwalifikacyjne dla użytkowników Systemu Neogen do diagnostyki molekularnej (OQ), tak jak opisano to w dokumencie „Instrukcje i protokoły dotyczące wymagań instalacji (IQ) / kwalifikacji operacyjnej (OQ) systemu Neogen do diagnostyki molekularnej”[6].

Przygotowanie pożywki

Bulion wzbogacający Neogen® *Campylobacter* (CE250) należy przygotować zgodnie z Informacjami o produkcie. **Nie umieszczać pożywki w autoklawie przed użyciem.** Przygotowaną pożywkę należy wykorzystać w ciągu 24 godzin. Jeśli przygotowany bulion nie zostanie natychmiast wykorzystany, należy go przechowywać w temperaturze 2–8°C[7], bez dostępu światła. Przed wykorzystaniem pożywki należy doprowadzić ją do temperatury 20–30°C.

Pobieranie próbek

Bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter* nie należy stosować do płukania drobiu ani jako podłoże transportowe. Próbki należy pobierać i transportować zgodnie z własnymi ustalonymi procedurami.

Przednamnażanie próbki

W Tabeli 2 można znaleźć wytyczne dotyczące ogólnych protokołów przednamnażania próbek żywności i próbek środowiskowych.

Użytkownik ma obowiązek przeprowadzić walidację alternatywnych protokołów próbkowania lub proporcji roztworów, aby sprawdzić, czy dana metoda badawcza spełnia kryteria określone przez użytkownika.

Przygotowanie próbek

a. Płukanki z tusz i surowych części drobiowych

1. Przemywać jedną wypatroszoną, surową tuszę drobiową 400 ml zbuforowanej wody peptonowej (BPW) przez jedną minutę. W przypadku surowych części mięsa drobiowego przemywać od 1,8 do 2 kg (4 lb ± 10%) elementów drobiowych 400 ml BPW[1,8].

2. W przypadku tuszy drobiowej i surowych części drobiowych należy pozwolić na odcieknięcie nadmiaru płynów przed przemywaniem próbki, aby uniknąć przeniesienia nadmiaru płynu do obróbki do torebki na próbkę[8].
3. W przypadku drobiu poddanego obróbce chlorkiem cetylopirydyniowym (CPC) konieczne jest dodanie 5 ml na litr polisorbatu 80 (IUPAC: monooleinian polioksyetylenosorbitolu (20); CAS 9005-65-6) do przygotowanego bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*. Polisorbat 80 można dodać do wody przed sterylizacją, aby ułatwić rozpuszczanie bądź też dodać bezpośrednio do sterylnej wody przed przygotowaniem bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*.
4. Przenieść w warunkach aseptycznych 30 ml płukanki do sterylnej torebki i dodać 30 ml bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*.

b. Gąbka do wymazów z tusz

1. Przed pobraniem próbki gąbka powinna być nawilżona maksymalnie 25 ml BPW[1]. W przypadku transportowania próbek należy upewnić się, że torebka jest zwinięta i utrzymywana w temperaturze 2–8°C.
2. Pobrać wymaz z tuszy drobiowej lub pobrać próbkę przy pomocy gąbki.
3. Umieścić wacik w sterylnej torebce i dodać 25 ml bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*. Należy upewnić się, że wacik lub gąbka są pokryte podłożem przednamnażającym.

c. Surowe produkty drobiowe

1. W warunkach aseptycznych odważyć 325 ± 32,5 g próbki i umieścić w sterylnej torebce. Dodać 1625 ± 32,5 ml BPW do surowego produktu drobiowego. Aby rozbić grudki, dokładnie wymieszać, krótko masując ręcznie.
2. Po wymieszaniu umieścić 30 ml mieszaniny surowego produktu drobiowego w sterylnej torebce. Następnie dodać 30 ml bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter* i dokładnie wymieszać.

d. Mięso surowe i gotowe do spożycia

1. W warunkach aseptycznych odważyć 25 g próbki i umieścić w sterylnej torebce. Zaleca się stosowanie torebki filtrującej, aby ułatwić pobieranie próbek.
2. Dodać 225 ml bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*.
3. Masować ręcznie, aby rozbić grudki. Unikać tworzenia bąbelków przy mieszaniu. Nie poddawać torebki obróbce w stomacherze ani mieszalniku.

e. Próbki z okładzin na buty na etapie produkcji pierwotnej

1. Pobrać próbkę z okładzin na buty lub skarpet zgodnie z ustalonymi procedurami pobierania próbek.
2. Umieścić JEDNĄ skarpetę w sterylnej torebce i dodać 100 ml bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*.

f. Waciki do ręcznego pobierania próbek

1. Pobrać próbkę nawilżonym zestawem do pobierania wymazu zgodnie z ustalonymi procedurami pobierania próbek.
2. Umieścić wacik w sterylnej torebce i dodać 100 ml bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*.

Inkubacja przednamnożonej próbki

1. Zwinąć torebkę, aby zminimalizować wolną przestrzeń i zapobiec kontaktowi przednamnożonej próbki z powietrzem. Delikatnie masować torebkę przez ok. 10 ± 2 sekundy. **Nie poddawać torebki obróbce w stomacherze ani mieszalniku. Unikać tworzenia bąbelków przy mieszaniu.**
2. Inkubować torebkę w warunkach tlenowych w temperaturze 41,5 ± 1°C. Właściwe czasy inkubacji podano w Tabeli 2.

OSTRZEŻENIE: Gdy bufor neutralizujący z kompleksem sulfonianu arylu ma zostać użyty jako roztwór nawilżający gąbkę, przed rozpoczęciem badania należy przygotować roztwór rozcieńczony w stosunku 1:2 (1 część próbki w 1 części jałowego bulionu wzbogacającego) przednamnożonej próbki środowiskowej, aby zmniejszyć ryzyko związane z wynikiem fałszywie ujemnym prowadzącym do wydania zanieczyszczonego produktu. Inną możliwością jest przeniesienie 10 µl wzbogacającego buforu neutralizującego do probówek z roztworem lizującym Neogen.

Użytkownik ma obowiązek przeprowadzić walidację alternatywnych protokołów próbkowania lub proporcji roztworów, aby sprawdzić, czy dana metoda badawcza spełnia kryteria określone przez użytkownika.

Tabela 2. Ogólne protokoły przednamnażania.

Macierz próbki	Wielkość próbki	Bulion wzbogacający Neogen *Campylobacter* (ml)[b]	Temperatura przednamnażania (± 1°C)	Czas przednamnażania (godz.)	Objętość analizowanej próbki (µl)[c]
• Płukanki z tusz[a] • Płukanki z części drobiowych[a]	30 ml płukanki w BPW	30	41,5	22–26	20
• Gąbka do wymazów z tusz[a]	1 gąbka nawilżona maksymalnie 25 ml BPW	25	41,5	22–26	20
• Mięso surowe • Mięso gotowe do spożycia	25 g	225	41,5	24–28	20
• Próbki z okładzin na buty na etapie produkcji pierwotnej	1 zestaw do pobierania próbki z okładzin na buty	100	41,5	22–26	20
• Waciki do ręcznego pobierania próbek na etapie produkcji pierwotnej	1 nawilżony zestaw	100	41,5	22–26	20

(a) W przypadku drobiu poddanego obróbce chlorkiem cetylopirydyniowym (CPC) konieczne jest dodanie 5 ml na litr polisorbatu 80 (IUPAC: monooleinian polioksyetylenosorbitolu (20); CAS 9005-65-6) do przygotowanego bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*. Polisorbat 80 można dodać do wody przed sterylizacją bądź też dodać do sterylnej wody przed przygotowaniem bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*.

(b) Bulion wzbogacający Neogen *Campylobacter* należy wykorzystać w ciągu 24 godzin od przygotowania. Przed użyciem pożywka powinna zostać doprowadzona do temperatury otoczenia (25–30°C).

(c) Przed pobraniem przednamnożonej próbki do analizy należy delikatnie masować dolną część torebki. **Po pobraniu próbki zwinąć torebkę, aby zapobiec kontaktowi przednamnożonej próbki z powietrzem.** Do ponownego badania lub kroków potwierdzających może być potrzebna dodatkowa próbka.

Specjalne instrukcje dotyczące zatwierdzonych metod

Certyfikat nr 111803 AOAC® Performance Tested℠ (PTM)

PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 111803

W badaniach AOAC Research Institute PTM℠ Molekularny test Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* okazał się być skuteczną metodą wykrywania bakterii *Campylobacter*. W Tabeli 3 przedstawiono macierze przetestowane w ramach tego badania.

Tabela 3. Protokoły przednamnażania zgodnie z certyfikatem nr 111803 AOAC PTM℠.

Macierz próbki	Wielkość próbki	Bulion wzbogacający Neogen *Campylobacter* (ml)[c]	Temperatura przednamnażania (± 1°C)	Czas przednamnażania (godz.)	Objętość analizowanej próbki (µl)[d]
Cała tusza przemyta 400 ml BPW[a] [b]	30 ml płukanki w BPW	30	41,5	22–26	20
Część drobiowa (od 1,8 do 2 kg) przemyty 400 ml BPW[a] [b]	30 ml płukanki w BPW	30	41,5	22–26	20
Gąbka do wymazów z tusz indyczych[a] [b]	1 gąbka nawilżona maksymalnie 25 ml BPW	25	41,5	24–26	20
Surowe mielone mięso drobiowe (325 ± 32,5 g) przemyte 1625 ± 32,5 ml BPW[b]	30 ml mieszaniny produktu w BPW	30	41,5	24–28	20
Panierowane kawałki z kurczaka	25 g	225	41,5	24–28	20

(a) W przypadku drobiu poddanego obróbce chlorkiem cetylopirydyniowym (CPC) konieczne jest dodanie 5 ml na litr polisorbatu 80 (IUPAC: monooleinian polioksyetylenosorbitolu (20); CAS 9005-65-6) do przygotowanego bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*. Polisorbat 80 można dodać do wody przed sterylizacją bądź też dodać do sterylnej wody przed przygotowaniem bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter*.

(b) Alternatywnie tę macierz można wzbogacać 30 ml bulionu wzbogacającego Boltona niezawierającego krwi 2X (BF-BEB) przez 48 ± 2 godziny w temperaturze 42 ± 1,0°C w warunkach mikroaerobowych. Przenieść 20 µl próbki do roztworu lizującego Neogen.

(c) Bulion wzbogacający Neogen *Campylobacter* należy wykorzystać w ciągu 24 godzin od przygotowania. Przed użyciem pożywka powinna zostać doprowadzona do temperatury otoczenia (25–30°C).

(d) Przed pobraniem przednamnożonej próbki do analizy należy delikatnie masować dolną część torebki. **Po pobraniu próbki zwinąć torebkę, aby zapobiec kontaktowi przednamnożonej próbki z powietrzem.** Do ponownego badania lub kroków potwierdzających może być potrzebna dodatkowa próbka.

Przygotowanie Tacy Neogen® urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej

1. Zmoczyć szmatkę lub jednorazowy ręcznik 1-5% (obj./obj., wodnym) roztworem wybielacza do użytku domowego i przetrzeć nim Tacę Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej.
2. Spłukać wodą Tacę Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej.
3. Osuszyć Tacę Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej za pomocą jednorazowego ręcznika.
4. Przed rozpoczęciem użytkowania należy sprawdzić, czy Taca Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej jest sucha.

Przygotowanie Wkładki Neogen® bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej

Wkładkę Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej należy umieścić bezpośrednio na blacie laboratoryjnym: Taca Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej nie będzie potrzebna. Stosować blok w temperaturze otoczenia w laboratorium (20–25°C).

Przygotowanie Wkładki Neogen® bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej

Wkładkę Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej należy umieścić w suchym podwójnym bloku grzewczym. Włączyć suchy blok grzewczy i ustawić temperaturę pozwalającą Wkładce Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej osiągnąć i utrzymać temperaturę 100 ± 1°C.

UWAGA: W zależności od typu bloku grzewczego Wkładkę Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej należy zostawić na około 30 minut, by osiągnęła odpowiednią temperaturę. Używając odpowiedniego, skalibrowanego termometru (przykładowo częściowo zanurzanego termometru lub cyfrowego termometru z termoogniwem, a nie całkowicie zanurzanego termometru) umieszczonego w wyznaczonym miejscu, sprawdzić, czy temperatura Wkładki Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej wynosi 100 ± 1°C.

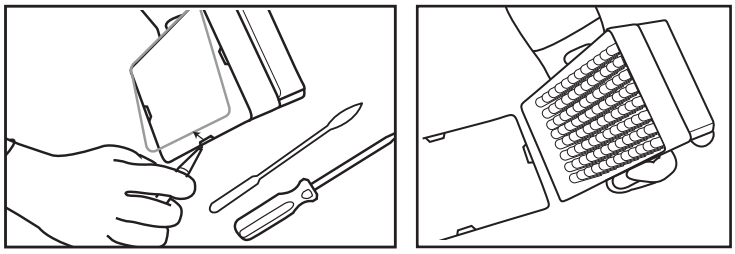
Przygotowanie Urządzenia Neogen® do diagnostyki molekularnej

1. Uruchomić oprogramowanie Neogen® do diagnostyki molekularnej i zalogować się. Skontaktować się z przedstawicielem Neogen Food Safety, aby upewnić się, że dysponują Państwo najnowszą wersją oprogramowania.
2. Włączyć Urządzenie Neogen do diagnostyki molekularnej.
3. Utworzyć lub edytować serię z danymi dla każdej próbki. Szczegółowe informacje są dostępne w instrukcji obsługi Systemu Neogen do diagnostyki molekularnej.

UWAGA: Przed włożeniem Tacy Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej z probówkami reakcyjnymi Urządzenie Neogen do diagnostyki molekularnej musi osiągnąć stan gotowości. Etap nagrzewania trwa około 20 minut i sygnalizuje go POMARAŃCZOWA kontrolka na pasku stanu urządzenia. Kiedy urządzenie będzie gotowe do rozpoczęcia analizy, kolor paska stanu zmieni się na ZIELONY.

Liza

Za pomocą śrubokrętu wyjąć dolną część stojaka z probówkami z roztworem lizującym Neogen przed umieszczeniem go we Wkładce Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej.



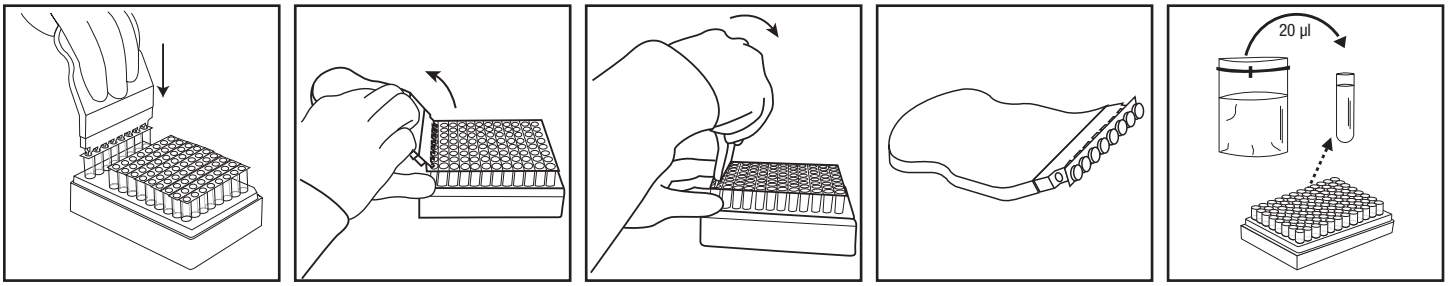
1. Umożliwić ogrzanie probówek z roztworem lizującym Neogen, pozostawiając stojak w temperaturze otoczenia (20–25°C) na noc (16–18 godzin). Alternatywą dla równoważenia temperatury probówek z roztworem lizującym Neogen do temperatury otoczenia jest pozostawienie probówek z roztworem lizującym Neogen na stole laboratoryjnym na co najmniej 2 godziny, inkubacja probówek z roztworem lizującym Neogen w cieplarce nastawionej na 37 ± 1°C przez 1 godzinę lub umieszczenie ich w suchym podwójnym bloku grzewczym na 30 sekund w temp. 100°C.
2. Odwrócić probówki zamknięte korkiem w celu wymieszania ich zawartości. Przejść do następnego kroku w ciągu 4 godzin od odwrócenia.
3. **Wyjąć przednamnożoną próbkę z cieplarki.**
   - **3.1.1 Przed przeniesieniem próbki do probówki z roztworem lizującym Neogen należy delikatnie masować dolną część torebki z przednamnożoną próbką.**
   - **3.1.2 Do ponownego badania lub kroków potwierdzających może być potrzebna dodatkowa próbka. Po pobraniu próbki zwinąć torebkę, aby zminimalizować wolną przestrzeń i zapobiec kontaktowi przednamnożonej próbki z powietrzem. Jeśli wymagane jest potwierdzenie domniemanych wyników, należy wykonać kroki potwierdzające niezwłocznie po otrzymaniu domniemanych wyników.**
4. Dla każdej próbki oraz próbki NC (sterylnego podłoża przednamnażającego) wymagana jest jedna probówka z roztworem lizującym Neogen.
   - 4.1 Taśmy z probówkami z roztworem lizującym Neogen można dociąć do żądanej liczby probówek. Dobrać wymaganą liczbę probówek lub taśm złożonych z 8 probówek. Umieścić probówki z roztworem lizującym Neogen w pustym stojaku.
   - 4.2 Aby uniknąć zanieczyszczeń krzyżowych, należy otwierać taśmy z probówkami z roztworem lizującym Neogen pojedynczo i na każdym etapie przenoszenia stosować nową końcówkę pipety.
   - 4.3 Przednamnożoną próbkę należy przenieść do probówek z roztworem lizującym Neogen w opisany poniżej sposób:

     Najpierw przenieść każdą przednamnożoną próbkę do pojedynczej probówki z roztworem lizującym Neogen. **Na końcu** przenieść NC.

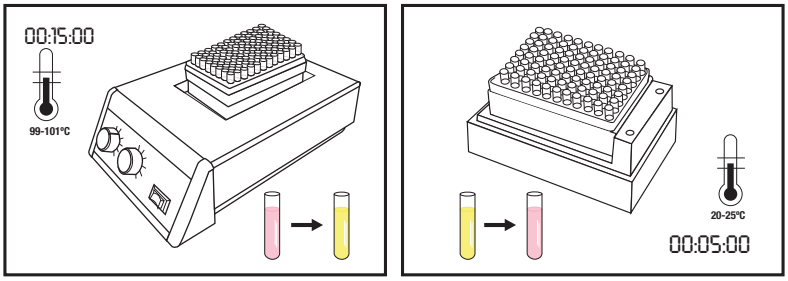
   - 4.4 Do zdejmowania korków taśmy z probówkami z roztworem lizującym Neogen (po jednej taśmie na raz) należy wykorzystać Narzędzie Neogen® do zakładania/zdejmowania korków probówek do diagnostyki molekularnej – Liza.

4.5 Zdjąć korek probówki z roztworem lizującym Neogen – jeśli lizat będzie zachowany do celów ponownego wykonania testu, umieścić korki w czystym pojemniku do ponownego założenia po wykonaniu lizy.
4.5.1 Odnośnie postępowania z lizatem patrz Załącznik A.
4.6 Przenieść 20 µl próbki do probówki z roztworem lizującym Neogen.

5. Kroki od 4.4 do 4.6 należy powtarzać zależnie od potrzeby dla wszystkich próbek poddawanych badaniu.



6. Po przeniesieniu wszystkich próbek przenieść 20 µl NC (jałowe podłoże przednamnażające, np. BPW) do probówki z roztworem lizującym Neogen. Nie stosować wody jako NC.
7. Upewnić się, że temperatura Wkładki Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej wynosi 100 ± 1°C.
8. Umieścić odkryty stojak na probówki z roztworem lizującym Neogen we Wkładce Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej i ogrzewać przez 15 ± 1 min. Podczas ogrzewania roztwór lizujący Neogen zmieni barwę z różowej (chłodny) na żółtą (gorący).
8.1 Próbki, które nie przeszły odpowiedniej obróbki cieplnej na etapie lizy, można uznać za potencjalne zagrożenie biologiczne i NIE należy ich umieszczać w Urządzeniu Neogen do diagnostyki molekularnej.
9. Wyjąć odkryty stojak z probówkami z roztworem lizującym Neogen z bloku grzewczego Neogen do diagnostyki molekularnej i umożliwić schłodzenie we Wkładce Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej przez co najmniej 5 minut, a maksymalnie 10 minut. Wkładka Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej, stosowana w temperaturze otoczenia bez Tacy Neogen® bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej, powinna znajdować się bezpośrednio na stole laboratoryjnym. Po schłodzeniu roztwór lizujący Neogen ponownie przybierze różową barwę.
10. Wyjąć stojak z probówkami z roztworem lizującym Neogen z Wkładki Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej.

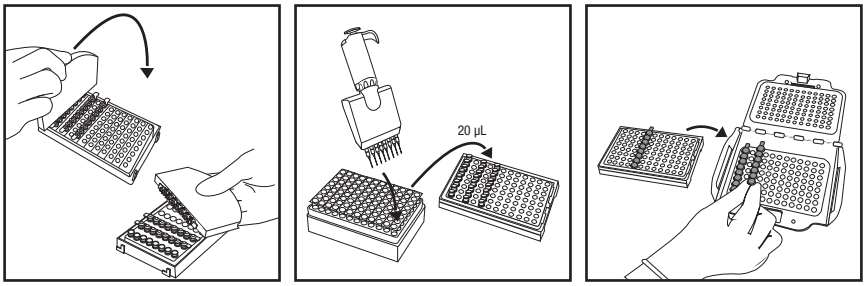


Amplifikacja

1. Dla każdej próbki oraz NC wymagana jest jedna probówka reagentowa Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter*.
1.1 Taśmy z probówkami można dociąć do pożądanej liczby probówek. Dobrać wymaganą liczbę pojedynczych probówek reagentowych Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* lub taśm złożonych z 8 probówek.
1.2 Probówki należy umieścić na pustym stojaku.
1.3 Nie wolno dopuścić do wstrząśnięcia granulek reagenta na dnie probówek.
2. Wybrać jedną probówkę Kontroli reagentowej Neogen i umieścić ją w stojaku.
3. Aby uniknąć zanieczyszczeń krzyżowych, należy otwierać taśmy z probówkami reagentowymi Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* pojedynczo i na każdym etapie przenoszenia stosować nową końcówkę pipety.
4. Przenieść poszczególne lizaty do probówki reagentowych Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* oraz do probówki z Kontrolą reagentową Neogen w sposób opisany poniżej:

Przenieść **najpierw** każdą próbkę lizatu do oddzielnej probówki reagentowej Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter*, a następnie przenieść NC. **Na końcu** nawodnić probówkę z Kontrolą reagentową Neogen.

5. Do zdejmowania korków probówek reagentowych Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* należy wykorzystać Narzędzie Neogen® do zakładania/zdejmowania korków probówek do diagnostyki molekularnej – Reagent, po jednej taśmie na raz. Wyrzucić korek.
   5.1 **Przenieść 20 µl próbki lizatu z górnej ½ płynu (unikać osadu) probówki z roztworem lizującym Neogen do odpowiedniej probówki reagentowej Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter*. Pipetować pod kątem, aby nie dopuścić do wstrząśnięcia granulek. Delikatnie wymieszać, pobierając i wypuszczając roztwór pipetą 5 razy.**
   5.2 Powtarzać krok 5.1, aż wszystkie pojedyncze próbki lizatu zostaną dodane do odpowiednich probówek reagentowych Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* znajdujących się w taśmie.
   5.3 Probówki reagentowe Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* należy zamknąć załączonymi dodatkowymi korkami i za pomocą zaokrąglonej strony Narzędzia Neogen do zakładania/zdejmowania korków probówek do diagnostyki molekularnej – Reagent wywołać nacisk ruchem w przód i w tył, aby upewnić się, że korek został szczelnie nałożony.
   5.4 Kroki od 5.1 do 5.3 należy powtarzać zależnie od potrzeby dla wszystkich próbek poddawanych badaniu.
   5.5 Po przeniesieniu wszystkich próbek lizatu powtórzyć kroki od 5.1 do 5.3, aby przenieść 20 µl lizatu NC do probówki reagentowej Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter*.
   5.6 Przenieść **20 µl <u>lizatu NC</u> do probówki z Kontrolą reagentową Neogen**. Pipetować pod kątem, aby nie dopuścić do wstrząśnięcia granulek. Delikatnie wymieszać, pobierając i wypuszczając roztwór pipetą 5 razy.
6. Zamknięte korkiem probówki należy umieścić na czystej i odkażonej tacy Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej. Zamknąć i zablokować pokrywę tacy Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej.



7. W oprogramowaniu Neogen do diagnostyki molekularnej sprawdzić i potwierdzić konfigurację analizy.
8. Kliknąć przycisk Start w programie i wybrać używane urządzenie. Nastąpi automatyczne otwarcie pokrywy wybranego urządzenia.
9. Aby rozpocząć analizę, należy umieścić Tacę Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej w Urządzeniu Neogen do diagnostyki molekularnej i zamknąć pokrywę. Na wyniki trzeba poczekać 60 minut, choć wyniki dodatnie można uzyskać wcześniej.
10. Po zakończeniu testu należy wyjąć Tacę Neogen urządzenia szybkiego ładowania testów do diagnostyki molekularnej z Urządzenia Neogen do diagnostyki molekularnej i zutylizować probówki, namaczając je w 1-5% (obj./obj., wodnym) roztworze domowego wybielacza przez 1 godzinę i usuwając z obszaru przygotowywania testów.

WAŻNA INFORMACJA: Aby zminimalizować ryzyko otrzymania wyników fałszywie dodatnich w związku z zanieczyszczeniem krzyżowym, nie należy otwierać probówek reagentowych zawierających DNA po amplifikacji. Dotyczy to probówek reagentowych Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter*, probówek Kontroli reagentowej Neogen oraz probówek kontroli Neogen macierzy. Zanieczyszczone probówki należy zawsze utylizować, namaczając je w 1–5% (obj./obj., wodnym) roztworze wybielacza do użytku domowego przez 1 godzinę i wynosząc poza obszar przygotowania testów.

Wyniki i interpretacja

Algorytm interpretuje krzywą strumienia świetlnego powstałego w wyniku wykrycia amplifikacji kwasu nukleinowego. Oprogramowanie prowadzi automatyczną analizę wyników oraz koduje je odpowiednimi kolorami. Wynik dodatni lub ujemny określa się przez analizę wielu określonych niepowtarzalnych parametrów krzywej. Domniemane wyniki dodatnie przekazuje się w czasie rzeczywistym, natomiast wyniki ujemne i „Sprawdzić” wyświetlą się po zakończeniu testu.

Domniemane wyniki dodatnie próbek należy potwierdzić zgodnie ze standardowymi procedurami operacyjnymi laboratorium lub stosując odpowiednią referencyjną metodę potwierdzającą[1,2], począwszy od transferu z głównego bulionu wzbogacającego Neogen *Campylobacter* do wybranych płytek z inkubacją bakterii *Campylobacter* w warunkach mikroaerofilnych, a następnie potwierdzenie izolatów za pomocą stosownych metod biochemicznych, mikroskopowych i serologicznych. Aby przednamnażanie przebiegało jak najlepiej, po pobraniu próbki należy zwinąć torebkę do wzbogacania.

UWAGA: Nawet próbka ujemna nie da odczytu zerowego, ponieważ system i odczynniki do amplifikacji Molekularnego testu Neogen do wykrywania 2 – *Campylobacter* charakteryzują się swoistym poziomem tła w RLU.

W rzadkich przypadkach, przy wystąpieniu nietypowego światła wychodzącego, algorytm opisze je jako „Sprawdzić". Firma Neogen zaleca powtórzenie testów dla wszystkich próbek oznaczonych jako „Sprawdzić". Jeżeli utrzymuje się wynik „Sprawdzić", należy przejść do testu potwierdzającego z zastosowaniem preferowanej metody lub zgodnie z lokalnymi przepisami[1,2].

Załącznik A. Przerwanie protokołu: Przechowywanie i ponowne badanie lizatów poddanych obróbce cieplnej

1. W celu przechowywania lizatu poddanego obróbce cieplnej należy ponownie zamknąć probówkę z roztworem lizującym Neogen czystym korkiem (patrz część Liza, punkt 4.5).
2. Przechowywać w temp. od 2 do 8°C maksymalnie przez 72 godziny.
3. Przygotować przechowywaną próbkę do amplifikacji przez odwrócenie 2–3 razy w celu zmieszania.
4. Otworzyć probówki.
5. Umieścić mieszane probówki lizatu we Wkładce Neogen bloku grzewczego do diagnostyki molekularnej i ogrzewać w temp. 100 ± 1°C przez 5 ± 1 min.
6. Wyjąć stojak z probówkami z roztworem lizującym Neogen z bloku grzewczego Neogen do diagnostyki molekularnej i umożliwić schłodzenie we Wkładce Neogen bloku chłodzenia do diagnostyki molekularnej przez co najmniej 5 minut, a maksymalnie 10 minut.
7. Kontynuować protokół od etapu **Amplifikacji** wyszczególnionego powyżej.

Bibliografia:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Skontaktować się z przedstawicielem firmy Neogen Food Safety, aby uzyskać egzemplarz tego dokumentu.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Objaśnienie symboli

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Инструкции к препарату

Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*

Описание продукта и его назначение

Neogen® Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* используется вместе с системой молекулярной диагностики Neogen® для быстрого и точного обнаружения штаммов бактерий *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* и *Campylobacter coli* в обогащенных образцах пищевых продуктов и сред производства пищевых продуктов.

В Neogen Тест-наборе для молекулярного анализа используется петлевая изотермическая амплификация для быстрого расширения нуклеотидных последовательностей с высокой точностью и чувствительностью в сочетании с биолюминесценцией для выявления амплификации. Предположительно положительные результаты отображаются в реальном времени, а отрицательные результаты — по завершении анализа. Предположительно положительные результаты следует подтверждать предпочтительным для вас методом или в соответствии с местными нормативными требованиями[1,2].

Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* предназначен для применения в лабораторных условиях и должен использоваться специалистами, прошедшими обучение лабораторным методам работы. Компания Neogen документально не подтверждала возможность использования этого продукта в других отраслях промышленности, за исключением отрасли производства продуктов питания и напитков. Например, компания Neogen не подтверждала документально возможность использования этого продукта для тестирования фармацевтических, косметических, клинических или ветеринарных образцов. Действие Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* не оценивалось в отношении всех возможных пищевых продуктов, технологий производства пищевых продуктов, протоколов тестирования и штаммов бактерий.

Как и в случае применения любого метода тестирования, на результаты исследования может повлиять источник, состав и качество обогатительной среды. На результаты исследования могут, кроме того, повлиять такие факторы, как метод отбора образцов, протоколы тестирования, подготовка образцов, способы обработки, а также методика лабораторной работы. Чтобы гарантировать соответствие выбранного метода критериям пользователя, компания Neogen рекомендует оценить метод, включая обогатительную среду, непосредственно в лаборатории пользователя с применением достаточного количества образцов, конкретных пищевых продуктов, а также микробных провокационных проб.

Компания Neogen оценивала действие Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*, используя в качестве обогатительной среды Neogen® Среду обогащения для бактерий рода *Campylobacter* и среду обогащения Болтона, не содержащую компоненты крови.

Прибор для молекулярной диагностики Neogen® предназначен для использования вместе с образцами, прошедшими тепловую обработку на этапе лизиса, который проводится с целью уничтожения присутствующих в образце организмов. Образцы, которые не прошли надлежащую тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять их в прибор для молекулярной диагностики Neogen.

Процессы разработки и производства компании Neogen Food Safety прошли проверку и получили сертификат ISO 9001 (Международная организация по стандартизации).

В Neogen Тест-наборе 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* предусмотрено 96 тестов, описание которых приведено в таблице 1.

Таблица 1. Компоненты Neogen Тест-набора для молекулярного анализа

Элемент	Обозначение	Количество	Содержимое	Комментарии
Neogen® Раствор для лизиса (LS)	Розовый раствор в прозрачных пробирках	96 (12 пластинок по 8 пробирок на каждой)	580 мкл раствора для лизиса в каждой пробирке	В штативе и готовы к использованию
Neogen® Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* (пробирки с реагентом)	Пурпурные пробирки	96 (3 пакета, содержащие 4 пластинки по 8 пробирок на каждой)	Лиофилизированная смесь для амплификации и обнаружения штаммов	Готовы к использованию
Запасные колпачки	Пурпурные колпачки	96 (12 пластинок по 8 колпачков на каждой)		Готовы к использованию
Neogen® Контроль реагентов (RC)	Прозрачные пробирки с контрольно-герметизирующими крышками	16 (2 пакета по 8 отдельных пробирок в каждом)	Лиофилизированная контрольная ДНК, смесь для амплификации и обнаружения штаммов	Готовы к использованию

Отрицательный контроль (NC), не входящий в набор, представляет собой стерильную обогатительную среду, например Neogen Среду обогащения для бактерий рода *Campylobacter*. Не используйте воду в качестве среды для отрицательного контроля.

Краткое руководство по началу работы можно найти на веб-сайте www.neogen.com

Техника безопасности

Прочтите, примите к сведению и соблюдайте все правила техники безопасности, содержащиеся в инструкциях по использованию системы молекулярной диагностики Neogen и Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*. Сохраните инструкции по технике безопасности для использования в дальнейшем.

⚠ **ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ.** Указывает на опасную ситуацию, которая, если ее не избежать, может привести к смерти или тяжелой травме и (или) к повреждению имущества.

УВЕДОМЛЕНИЕ. Указывает на потенциально опасную ситуацию, которая, если ее не избежать, может привести к повреждению имущества.

⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Не используйте Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* для диагностики заболеваний людей или животных.

Пользователь несет ответственность за обучение персонала надлежащим методикам проведения анализа, например, излагаемым в документе «Надлежащая лабораторная практика»[3], ISO/IEC 17025[4] или ISO 7218[5].

Для снижения рисков, связанных с выпуском зараженного продукта вследствие ложноотрицательного результата, соблюдайте приведенные далее правила.

- Соблюдайте протокол и выполняйте тестирование в строгом соответствии с инструкциями к препарату.
- Храните Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* согласно указаниям на упаковке и инструкциям к препарату.
- Всегда используйте Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* до истечения срока годности.
- Подготовьте Neogen® Среду обогащения для бактерий рода *Campylobacter* согласно инструкциям к препарату.
- Не обрабатывайте Neogen Среду обогащения для бактерий рода *Campylobacter* в автоклаве перед использованием.

- Используйте Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* для исследования образцов продуктов питания и окружающей среды, прошедших внутреннюю или стороннюю проверку.
- Используйте Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* только на тех поверхностях, с теми дезинфицирующими средствами, в соответствии с теми протоколами и для тех штаммов бактерий, которые прошли внутреннюю или стороннюю проверку.
- Образец среды, содержащий нейтрализующий буферный раствор с арилсульфонатным комплексом, следует перед проверкой разбавить в пропорции 1:2 (1 часть образца в 1 части стерильного обогатительного бульона). Альтернативный вариант — перенести 10 мкл обогатительной среды нейтрализующего буферного раствора в пробирки с раствором для лизиса Neogen. Средства подготовки образцов к анализу Neogen®, которые содержат нейтрализующий буферный раствор с арилсульфонатным комплексом: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G и HS2410NB2G.

Для снижения рисков, связанных с воздействием химических и биологически опасных веществ, соблюдайте приведенные далее правила.

- Выполняйте тестирование на патогены в оборудованной надлежащим образом лаборатории под контролем обученного персонала. Инкубированные обогатительные среды, а также оборудование или поверхности, которые контактировали с инкубированными обогатительными средами, могут содержать патогены в количестве, достаточном для угрозы здоровью человека.
- Обязательно соблюдайте стандартные лабораторные меры обеспечения безопасности, в том числе используйте защитную одежду и средства защиты глаз при работе с реагентами и загрязненными образцами.
- Избегайте контакта с обогатительной средой и пробирками с реагентом после амплификации.
- Утилизируйте обогащенные образцы в соответствии с действующими местными, региональными и национальными регулятивными нормами.
- Образцы, которые не прошли надлежащую тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять их в прибор для молекулярной диагностики Neogen.

Для снижения рисков, связанных с перекрестным загрязнением при подготовке образцов для диагностики, соблюдайте приведенные далее правила.

- Обязательно надевайте перчатки (для защиты пользователя и во избежание введения нуклеаз).

Для снижения рисков, связанных с воздействием горячих жидкостей, соблюдайте приведенные далее правила.

- Не превышайте рекомендованную температуру в нагревателе.
- Не превышайте рекомендованную продолжительность нагрева.
- Для проверки температуры внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики Neogen® следует использовать соответствующим образом откалиброванный термометр (например, термометр частичного погружения или термопарный цифровой термометр, но не термометр полного погружения). Термометр следует вставить в специально отведенное место на внутреннем нагревательном блоке для молекулярной диагностики Neogen.

УВЕДОМЛЕНИЕ

Для снижения рисков, связанных с перекрестным загрязнением при подготовке образцов для диагностики, соблюдайте приведенные далее правила.

- Перед смачиванием осадка реагента меняйте перчатки.
- Рекомендуется использовать стерильные аэрозоль-устойчивые (фильтрующие) наконечники для пипеток, применяемые в молекулярной биологии.
- Для переноса каждого образца используйте пипетку с новым наконечником.
- При переносе образца из обогатительной среды в пробирку с раствором для лизиса придерживайтесь свода правил «Надлежащие лабораторные практики» (Good Laboratory Practices). Во избежание загрязнения микродозатора можно добавить промежуточный этап переноса. Например, пользователь может переносить каждый обогащенный образец в стерильную пробирку.
- По возможности следует использовать установки для работ в области молекулярной биологии, оборудованные бактерицидными лампами.
- Периодически проводите дезинфекцию лабораторных столов и оборудования (пипеток, инструментов для запечатывания и распечатывания пробирок и т. д.) с помощью раствора бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) или раствора для удаления ДНК.

Для снижения рисков, связанных с ложноположительными результатами, необходимо учитывать следующую информацию.

- Ни в коем случае не открывайте пробирки после амплификации.
- Всегда утилизируйте загрязненные пробирки путем погружения в раствор бытового отбеливателя (1–5 % в объемном соотношении с водой) на 1 час вдали от зоны подготовки образцов для диагностики.
- Ни в коем случае не подвергайте пробирки с реагентом автоклавной обработке после амплификации.

Дополнительную информацию и местные нормативные требования в отношении утилизации отходов см. в паспортах безопасности.

Если у вас возникли вопросы по конкретным способам применения или процедурам, посетите наш веб-сайт по адресу www.neogen.com или обратитесь к местному представителю или дистрибьютору компании Neogen.

Ответственность пользователей

Пользователи несут полную ответственность за ознакомление с информацией и инструкциями к препарату. Для получения более подробной информации посетите наш веб-сайт по адресу **www.neogen.com** либо свяжитесь с местным представителем или дистрибьютором Neogen.

При выборе метода исследования важно понимать, что на результаты исследования могут влиять внешние факторы, например метод забора образцов, протокол исследования, подготовка образцов, способы обработки, методика лабораторной работы, и сам по себе образец тоже может влиять на результаты.

За выбор метода исследования и исследуемого продукта отвечает пользователь, который должен на основании исследования достаточного количества образцов с помощью надлежащих матриц и микробных провокационных проб определить, отвечает ли выбранный метод исследования необходимым ему критериям.

Пользователь также несет ответственность за то, что выбранный им метод исследования отвечает требованиям его клиентов или поставщиков.

Результаты, полученные с помощью продукта Neogen Food Safety (как и при использовании любого другого метода исследований), не гарантируют качество матриц или технологических процессов, подвергавшихся исследованиям.

Чтобы помочь клиентам оценить метод применительно к различным матрицам пищевых продуктов, компания Neogen разработала набор «Контроль матрицы для молекулярной диагностики Neogen®». При необходимости используйте контроль матрицы для молекулярной диагностики Neogen (MC), чтобы определить, может ли матрица повлиять на результаты тестов из Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*. При принятии метода Neogen или тестировании новых или неизвестных матриц либо матриц, материалы или методы обработки которых подверглись изменениям, протестируйте несколько выборочных образцов матрицы, т. е. образцов различного происхождения (в течение любого периода проверки).

Матрицу можно определить как тип продукта с характерными свойствами, такими как состав и метод обработки. Различия между матрицами могут быть вызваны просто различиями в их обработке или состоянии. Например, сырые или пастеризованные, свежие или высушенные и т. д.

Ограничение гарантий и средств судебной защиты

ЕСЛИ ИНОЕ ЯВНО НЕ УКАЗАНО В РАЗДЕЛЕ ОБ ОГРАНИЧЕННОЙ ГАРАНТИИ НА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ УПАКОВКЕ ПРОДУКТА, NEOGEN НЕ ПРИЗНАЕТ ПРЯМЫЕ ИЛИ КОСВЕННЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, ГАРАНТИЮ ТОВАРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИЛИ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СООТВЕТСТВИИ С УКАЗАННОЙ ОБЛАСТЬЮ ПРИМЕНЕНИЯ. Если в изделии компании Neogen Food Safety обнаруживаются дефекты, компания Neogen или уполномоченный этой компанией дистрибьютор обязуется по своему усмотрению заменить это изделие или возместить стоимость его покупки. Это единственный способ правовой защиты. О возможном дефекте необходимо немедленно уведомить компанию Neogen в течение шестидесяти дней с момента его обнаружения и вернуть дефектный препарат в компанию Neogen. По любым дополнительным вопросам обращайтесь к представителю или официальному дилеру Neogen.

Ограничение ответственности компании Neogen

КОМПАНИЯ NEOGEN НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА УЩЕРБ ИЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ЯВЛЯЮЩИЕСЯ ПРЯМЫМИ, НЕПРЯМЫМИ, УМЫШЛЕННЫМИ, СЛУЧАЙНЫМИ ИЛИ КОСВЕННЫМИ, ВКЛЮЧАЯ, ПОМИМО ПРОЧЕГО, УТРАЧЕННУЮ ПРИБЫЛЬ. Ответственность компании Neogen ни при каких обстоятельствах и несмотря ни на какие требования не может превышать стоимость изделия.

Хранение и утилизация

Храните Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* при температуре 2–8 °C (35–47 °F). Не замораживайте продукт. Храните вдали от воздействия прямых солнечных лучей. После открытия комплекта убедитесь в том, что пакет из фольги не поврежден. Если пакет поврежден, не используйте продукт. Открытые неиспользуемые пробирки с реагентом следует хранить в повторно герметизируемом пакете с влагопоглотителем. Это обеспечивает стабильность лиофилизированных реагентов. Повторно герметизированные пакеты можно хранить при температуре 2–8 °C (35–47 °F) не более 90 дней.

Не используйте Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* по истечении срока годности. Дата истечения срока годности и номер партии указаны на этикетке на наружной поверхности коробки. После применения обогатительная среда и пробирки для проведения тестов из Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* могут содержать болезнетворные микроорганизмы. По окончании тестирования утилизируйте загрязненные отходы согласно действующим промышленным стандартам. Дополнительную информацию и местные нормативные требования в отношении утилизации отходов см. в паспортах безопасности.

Инструкции по применению

Строго соблюдайте все инструкции. В противном случае результаты могут быть неточными.

Периодически проводите дезинфекцию лабораторных столов и оборудования (пипеток, инструментов для запечатывания и распечатывания пробирок и т. д.) с помощью раствора бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) или раствора для удаления ДНК.

Пользователь должен пройти обучение по вопросам аттестации функционирующего оборудования (OQ) применительно к системе молекулярной диагностики Neogen, как описано в документе «Аттестация установленного оборудования (IQ) и аттестация функционирующего оборудования (OQ): протоколы и инструкции для системы молекулярной диагностики Neogen»[6].

Подготовка среды

Подготовьте Neogen® Среду обогащения для бактерий рода *Campylobacter* (CE250) согласно инструкциям к препарату. **Не обрабатывайте среду в автоклаве перед использованием.** Используйте подготовленную среду в течение 24 часов после приготовления. Храните подготовленную среду при температуре 2–8 °C[7] в месте, защищенном от света, если она не будет использована сразу же после приготовления. Температура среды перед использованием должна составлять 20–30 °C.

Сбор образцов

Neogen Среда обогащения для бактерий рода *Campylobacter* не должна использоваться для промывания тушек птицы или в качестве транспортной среды. Собирайте и переносите образцы согласно установленным процедурам сбора образцов.

Обогащение образца

В таблице 2 представлено руководство к общим протоколам обогащения образцов пищевых продуктов и окружающей среды.

За проверку альтернативных протоколов отбора образцов или степеней разбавления для обеспечения соответствия этого метода тестирования критериям пользователя несет ответственность сам пользователь.

Подготовка образца

a. Промывка тушки и частей сырой птицы

1. Промойте одну выпотрошенную тушку сырой птицы забуференной пептонной водой (BPW) объемом 400 мл в течение одной минуты. При промывании частей сырой птицы: промойте от 1,8 до 2 кг (4 фунта ± 10 %) частей птицы в BPW объемом 400 мл[1,8].
2. Перед отбором образца среды после промывания тушки и частей сырой птицы позвольте лишней жидкости стечь, чтобы лишняя часть обрабатывающего раствора не попала в мешок для отбора образцов[8].
3. Если птица была обработана цетилпиридинием хлоридом (CPC), добавьте 5 мл на 1 л полисорбата-80 (IUPAC: полиоксиэтилен (20) сорбитан моноолеат; CAS 9005-65-6) к подготовленной Neogen Среде обогащения для бактерий рода *Campylobacter*. Полисорбат-80 можно добавлять в воду перед стерилизацией для ускорения растворения или непосредственно в стерильную воду перед подготовкой Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter*.
4. Перенесите в стерильных условиях 30 мл среды после промывания в стерильный мешок и добавьте 30 мл Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter*.

б. Губка для обтирания тушки

1. Перед отбором образца губки должны быть смочены в BPW объемом до 25 мл[1]. При транспортировке образцов мешок должен быть плотно закрыт и храниться при температуре 2–8 °C.
2. Снимите образец с тушки птицы с помощью тампона или губки.
3. Перенесите тампон в стерильный мешок и добавьте 25 мл Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter*. Среда обогащения должна полностью покрывать тампон или губку.

в. Сырая птица

1. Взвесьте в стерильных условиях 325 ± 32,5 г образца и поместите его в стерильный мешок. Добавьте 1625 ± 32,5 мл BPW к сырой птице. Удалите комки вручную путем надавливания.
2. После смешивания добавьте 30 мл сырой смеси птицы в стерильный пакет, а затем добавьте 30 мл Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter* и тщательно перемешайте.

г. Сырое и готовое к употреблению мясо

1. Взвесьте в стерильных условиях 25 г образца и поместите его в стерильный мешок. Для ускорения процесса отбора образцов рекомендуется использовать мешочные фильтры.
2. Добавьте 225 мл Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter*.
3. Перемешайте вручную, чтобы удалить комочки, не допуская при этом образования пузырьков. Не обрабатывайте мешок в смесителе или гомогенизаторе.

д. Бахилы для сбора образцов на производстве первичной продукции

1. Отбирайте образцы, используя бахилы или носки согласно установленным процедурам сбора образцов.
2. Поместите ОДИН носок в стерильный мешок и добавьте 100 мл Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter*.

е. Тампоны на веревке

1. Отбирайте образцы, используя предварительно смоченный тампон на веревке согласно установленным процедурам сбора образцов.
2. Поместите тампон в стерильный мешок и добавьте 100 мл Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter*.

Обогатительная инкубация

1. Плотно закройте мешок, чтобы минимизировать объем воздуха и свободного пространства над продуктом и предотвратить попадание воздуха в среду для обогащения. Осторожно перемешайте содержимое мешка вручную в течение 10 ± 2 секунд. **Не перемешивайте содержимое мешка в смесителе или гомогенизаторе и не допускайте образования пузырьков при перемешивании.**
2. Инкубируйте мешок аэробно при температуре 41,5 ± 1 °C; информацию о необходимом периоде инкубации см. в таблице 2.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ. Если вы решите использовать нейтрализующий буфер, содержащий арилсульфонатный комплекс, в качестве гидратирующего раствора для губки, необходимо выполнить разведение 1:2 (1 часть образца и 1 часть стерильной среды обогащения) обогащенного образца окружающей среды перед тестированием, чтобы снизить риски, связанные с ложноотрицательным результатом, приводящим к выпуску загрязненного продукта. Альтернативный вариант — перенести 10 мкл обогатительной среды нейтрализующего буферного раствора в пробирки с раствором для лизиса Neogen.

За проверку альтернативных протоколов отбора образцов или степеней разбавления для обеспечения соответствия этого метода тестирования критериям пользователя несет ответственность сам пользователь.

Таблица 2. Общие протоколы обогащения

Матрица образца	Размер образца	Neogen Среда обогащения для бактерий рода *Campylobacter* (мл)[6]	Температура обогащения (±1 °C)	Время обогащения (ч)	Анализируемый объем образца (мкл)[в]
• Промывка тушки птицы[а] • Промывка частей птицы[а]	30 мл раствора после промывки в BPW	30	41,5	22–26	20
• Губка для обтирания тушки[а]	1 губка, предварительно смоченная в BPW объемом до 25 мл	25	41,5	22–26	20
• Сырое мясо • Готовое к употреблению мясо	25 г	225	41,5	24–28	20
• Бахилы для сбора образцов на производстве первичной продукции	1 бахила	100	41,5	22–26	20
• Тампоны на веревке для сбора образцов на производстве первичной продукции	1 предварительно смоченный тампон	100	41,5	22–26	20

(а) Если птица была обработана цетилпиридинием хлоридом (CPC), добавьте 5 мл на 1 л полисорбата-80 (IUPAC: полиоксиэтилен (20) сорбитан моноолеат; CAS 9005-65-6) к подготовленной Neogen Среде обогащения для бактерий рода *Campylobacter*. Полисорбат-80 можно добавлять в воду перед стерилизацией или в стерильную воду перед подготовкой Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter*.

(б) Используйте Neogen Среду обогащения для бактерий рода *Campylobacter* в течение 24 часов после подготовки. Перед использованием обогатительная среда должна храниться при температуре окружающей среды (25–30 °C).

(в) Перед отбором обогатительного образца для анализа осторожно перемешайте содержимое нижней части мешка. **После отбора образца плотно закройте мешок, чтобы предотвратить воздействие воздуха на обогащенный образец.** Для повторного тестирования или этапов подтверждения могут понадобиться дополнительные образцы.

Особые инструкции к утвержденным методам

Сертификат AOAC® Performance Tested℠ (PTM) № 111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

В исследованиях PTM℠ AOAC Research Institute Neogen Тест-набор 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* оказался эффективным для обнаружения *Campylobacter*. Тестируемые во время исследования матрицы показаны в таблице 3.

Таблица 3. Протоколы обогащения образцов согласно сертификату № 111803 AOAC PTM℠

Матрица образца	Размер образца	Neogen Среда обогащения для бактерий рода *Campylobacter* (мл) (в)	Температура обогащения (±1 °C)	Время обогащения (ч)	Анализируемый объем образца (мкл)(г)
Целая тушка, промытая в 400 мл BPW(а) (б)	30 мл раствора после промывки в BPW	30	41,5	22–26	20
Часть птицы (1,8–2 кг), промытая в 400 мл BPW(а) (б)	30 мл раствора после промывки в BPW	30	41,5	22–26	20
Губка для обтирания тушки индейки(а) (б)	1 губка, предварительно смоченная в BPW объемом до 25 мл	25	41,5	24–26	20
Сырой фарш из мяса птицы (325 ± 32,5 г), промытый в 1625 ± 32,5 мл BPW(б)	30 мл смеси продукта в BPW	30	41,5	24–28	20
Куриные наггетсы	25 г	225	41,5	24–28	20

(а) Если птица была обработана цетилпиридинием хлоридом (CPC), добавьте 5 мл на 1 л полисорбата-80 (IUPAC: полиоксиэтилен (20) сорбитан моноолеат; CAS 9005-65-6) к подготовленной Neogen Среде обогащения для бактерий рода *Campylobacter*. Полисорбат-80 можно добавлять в воду перед стерилизацией или в стерильную воду перед подготовкой Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter*.

(б) Альтернативно данная матрица может быть обогащена 30 мл двойного объема среды обогащения Болтона, не содержащей компоненты крови, (BF-BEB) в течение 48 ± 2 ч при 42 ± 1,0 °C в микроаэробных условиях. Перенесите 20 мкл образца в раствор для лизиса Neogen.

(в) Используйте Neogen Среду обогащения для бактерий рода *Campylobacter* в течение 24 часов после подготовки. Перед использованием обогатительная среда должна храниться при температуре окружающей среды (25–30 °C).

(г) Перед отбором обогатительного образца для анализа осторожно перемешайте содержимое нижней части мешка. **После отбора образца плотно закройте мешок, чтобы предотвратить воздействие воздуха на обогащенный образец.** Для повторного тестирования или этапов подтверждения могут понадобиться дополнительные образцы.

Подготовка лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen®

1. Смочите кусок ткани или одноразовое полотенце в растворе бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) и протрите им лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen.
2. Сполосните водой лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen.
3. Протрите лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen досуха одноразовым полотенцем.
4. Перед использованием лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen убедитесь в том, что он сухой.

Подготовка блока «Neogen® Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)»

Поместите блок «Neogen Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)» на лабораторный стол. При этом лоток «Neogen Молекулярная диагностика. Лоток для охладительного блока» не используется. Используйте блок при температуре окружающей среды в лаборатории (20–25 °C).

Подготовка внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики Neogen®

Поместите внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики Neogen в сухое двухблочное нагревательное устройство. Включите сухое нагревательное устройство и установите температуру таким

образом, чтобы температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики Neogen достигла постоянного значения 100 ± 1 °C.

ПРИМЕЧАНИЕ. Внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики Neogen достигает нужной температуры примерно за 30 минут (в зависимости от типа нагревательного устройства). Используя подходящий откалиброванный термометр (например, термометр частичного погружения, термопарный цифровой термометр, но не термометр полного погружения), размещенный в указанном месте, убедитесь в том, что температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики Neogen составляет 100 ± 1 °C.

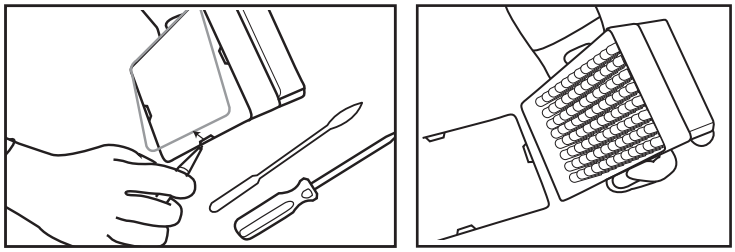
Подготовка прибора для молекулярной диагностики Neogen®

1. Включите прибор для молекулярной диагностики Neogen® и войдите в систему. Чтобы убедиться в наличии самой последней версии программного обеспечения, обратитесь к представителю Neogen Food Safety.
2. Включите прибор для молекулярной диагностики Neogen.
3. Создайте или отредактируйте цикл анализа с данными для каждого образца. Подробную информацию см. в руководстве пользователя прибора для молекулярной диагностики Neogen.

ПРИМЕЧАНИЕ. Прежде чем вставлять лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen с реакционными пробирками в прибор для молекулярной диагностики Neogen, убедитесь в том, что прибор достиг состояния готовности. Данная стадия нагрева занимает около 20 минут и обозначается ОРАНЖЕВЫМ светом в строке состояния прибора. Когда прибор будет готов к запуску цикла, цвет панели состояния изменится на ЗЕЛЕНЫЙ.

Лизис

Извлеките нижнюю часть штатива для пробирок с раствором для лизиса Neogen с помощью отвертки, прежде чем помещать его во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики Neogen.



1. Пробирки с раствором для лизиса Neogen должны нагреться: для этого оставьте штатив в условиях температуры окружающей среды (20–25 °C) на ночь (16–18 часов). Альтернативный способ довести пробирки с раствором для лизиса Neogen до температуры окружающей среды: поместить пробирки с раствором для лизиса Neogen на лабораторный стол минимум на 2 часа, оставить их для инкубации в инкубаторе при температуре 37 ± 1 °C в течение 1 часа или поместить их на 30 секунд в сухое двухблочное нагревательное устройство при температуре 100 °C.
2. Переверните запечатанные пробирки для смешивания содержимого. Перейдите к следующему шагу через 4 часа после переворачивания.
3. **Извлеките обогащенный образец из инкубатора.**
   - **3.1.1 Перед переносом образца в пробирку с раствором для лизиса Neogen осторожно перемешайте содержимое нижней части мешка.**
   - **3.1.2 Для повторного тестирования или этапов подтверждения могут понадобиться дополнительные образцы. После сбора образца плотно закройте мешок, чтобы минимизировать объем воздуха и свободного пространства над продуктом и предотвратить попадание воздуха в среду для обогащения. Если требуется подтверждение предположительных результатов, приступайте к этапам подтверждения сразу же после получения предположительного результата.**
4. На каждый образец, а также образец для отрицательного контроля (NC) (в стерильной обогатительной среде) требуется одна пробирка с раствором для лизиса Neogen.
   - 4.1 Для получения необходимого количества пробирок пластинки с пробирками с раствором для лизиса Neogen можно разрезать. Выберите необходимое количество пробирок или пластинок с 8 пробирками с раствором для лизиса. Поместите пробирки с раствором для лизиса Neogen на пустой штатив.

4.2 Во избежание перекрестного загрязнения распечатывайте пластинки с пробирками с раствором для лизиса Neogen по одной за раз и для каждого этапа переноса используйте новый наконечник для пипетки.

4.3 Перенесите обогащенный образец в пробирки с раствором для лизиса Neogen, как описано ниже.

> **Сначала** перенесите каждый обогащенный образец в отдельную пробирку с раствором для лизиса Neogen. Образцы для отрицательного контроля переливайте **в последнюю очередь**.

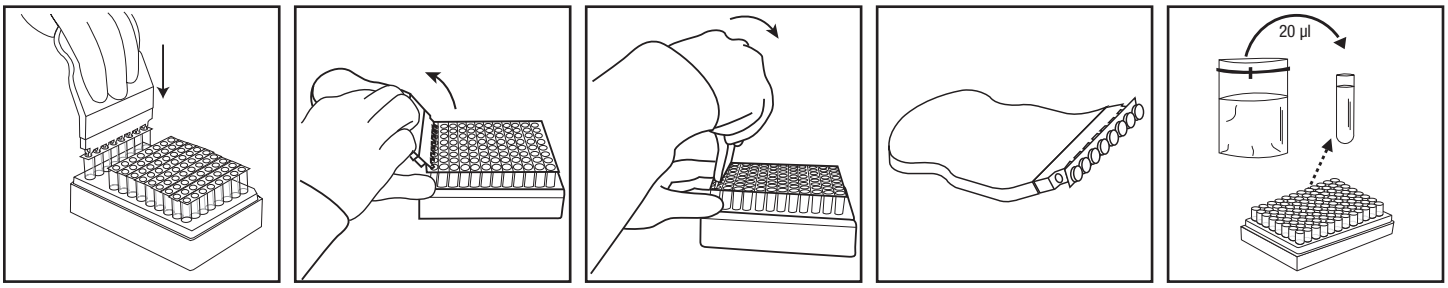
4.4 Распечатайте пробирки с раствором для лизиса Neogen с помощью инструмента «Neogen® Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (раствор для лизиса)». Пластинки с пробирками следует распечатывать по одной за раз.

4.5 Выбросьте колпачок от пробирки с раствором для лизиса Neogen. Если лизат необходимо сохранить для повторного тестирования, поместите колпачки в чистый контейнер для повторного использования после лизиса.

4.5.1 Процедура обработки сохраненного лизата описана в приложении A.

4.6 Перенесите 20 мкл образца в пробирку с раствором для лизиса Neogen.

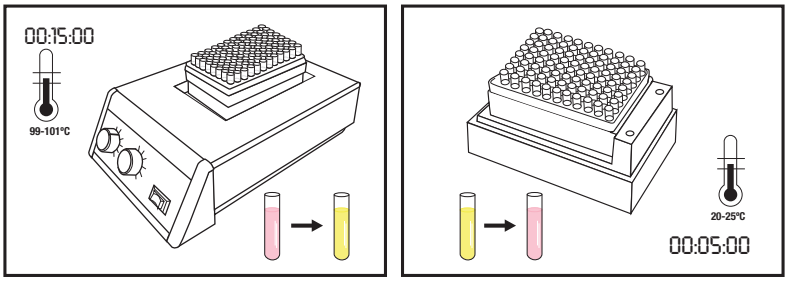
5. Повторите этапы 4.4–4.6 столько раз, сколько образцов необходимо протестировать.



6. После переноса всех образцов перенесите в пробирку с раствором для лизиса Neogen 20 мкл среды для отрицательного контроля (стерильной обогатительной среды, например BPW). Не используйте воду в качестве среды для отрицательного контроля.
7. Убедитесь в том, что температура внутреннего нагревательного блока для молекулярной диагностики Neogen составляет 100 ± 1 °C.
8. Поместите штатив с открытыми пробирками для лизиса Neogen во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики Neogen и нагревайте в течение 15 ± 1 минуты. Во время нагрева цвет раствора для лизиса Neogen изменится с розового (в холодном состоянии) на желтый (в горячем состоянии).

8.1 Образцы, которые не прошли надлежащую тепловую обработку на этапе лизиса, могут представлять биологическую опасность. ЗАПРЕЩАЕТСЯ вставлять их в прибор для молекулярной диагностики Neogen.

9. Извлеките штатив с открытыми пробирками с раствором для лизиса Neogen из нагревательного блока молекулярной диагностики Neogen и поместите его для охлаждения в блок «Neogen Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)» на период от 5 до 10 минут. Блок «Neogen Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)», используемый при температуре окружающей среды без лотка «Neogen® Молекулярная диагностика. Лоток для охладительного блока», должен находиться непосредственно на лабораторном столе. После охлаждения цвет раствора для лизиса Neogen снова станет розовым.
10. Извлеките штатив с пробирками для лизиса Neogen из блока «Neogen Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)».



Амплификация

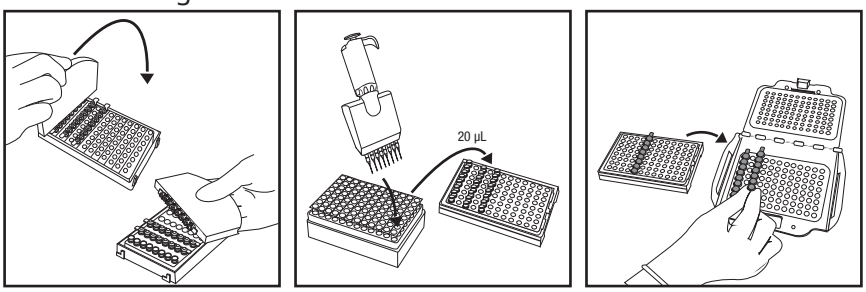
1. На каждый образец, а также образец для отрицательного контроля (NC) требуется одна пробирка с реагентом из Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*.

1.1 Для получения необходимого количества пробирок пластинки с пробирками можно разрезать. Выберите необходимое количество отдельных пробирок или пластинок по 8 пробирок с реагентом из Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*.
1.2 Поставьте пробирки в пустой штатив.
1.3 Не встряхивайте осадок от реагента, который может образоваться на дне пробирок.

2. Выберите одну пробирку «Neogen Контроль реагентов» и поместите ее в штатив.
3. Во избежание перекрестного загрязнения распечатывайте одну пластинку с пробирками с реагентом из Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* за раз и для каждого этапа переноса используйте новый наконечник для пипетки.
4. Перенесите каждый из лизатов в пробирку с реагентом Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* и пробирку «Neogen Контроль реагентов» согласно приведенному ниже описанию.

Перенесите лизат каждого образца в отдельные пробирки с реагентом Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* **в первую очередь**, а затем — образцы для отрицательного контроля (NC). Смочите пробирку «Neogen Контроль реагентов» **в последнюю очередь**.

5. Распечатайте пробирки с реагентом Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* с помощью инструмента «Neogen® Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (Реагент)»; пластинки с пробирками следует распечатывать по одной за раз. Выбросьте колпачок.
   5.1 **Перенесите 20 мкл лизата образца из верхней ½ части пробирки с раствором для лизиса Neogen (не допуская попадания осадка) в соответствующую пробирку с реагентом Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*. Переливать лизат в пробирку следует под наклоном, чтобы не поднять осадок. Перемешайте лизат в пробирке: для этого 5 раз осторожно наберите и выпустите жидкость из пипетки.**
   5.2 Повторяйте этап 5.1 до тех пор, пока лизат каждого образца не будет перелит в соответствующую пробирку с реагентом Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* на пластинке.
   5.3 Закройте пробирки с реагентом Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* запасными колпачками и надавите скругленной стороной инструмента «Neogen Молекулярная диагностика. Инструмент для запечатывания/распечатывания пробирок (Реагент)», совершая движения вперед-назад, чтобы обеспечить плотную посадку колпачков.
   5.4 Повторите этапы 5.1–5.3 столько раз, сколько образцов необходимо протестировать.
   5.5 После переноса лизатов всех образцов повторите действия 5.1–5.3, чтобы перенести 20 мкл лизата для отрицательного контроля (NC) в пробирку с реагентом Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*.
   5.6 Перенесите **20 мкл <u>лизата для отрицательного контроля (NC)</u> в пробирку «Neogen Контроль реагентов»**. Переливать лизат в пробирку следует под наклоном, чтобы не поднять осадок. Перемешайте лизат в пробирке: для этого 5 раз осторожно наберите и выпустите жидкость из пипетки.
6. Загрузите запечатанные пробирки в чистый продезинфицированный лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen. Закройте и зафиксируйте крышку лотка быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen.



7. Проверьте и подтвердите настроенный цикл анализа в программном обеспечении прибора для молекулярной диагностики Neogen.
8. Нажмите кнопку «Пуск» в программном обеспечении и выберите инструмент для использования. Крышка выбранного прибора откроется автоматически.
9. Поместите лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen в прибор для молекулярной диагностики Neogen и закройте крышку, чтобы запустить анализ. Результаты появятся в течение 60 минут. Положительные результаты могут появиться раньше.

10. По завершении анализа диагностики извлеките лоток быстрой загрузки для молекулярной диагностики Neogen из прибора для молекулярной диагностики Neogen и утилизируйте пробирки, поместив их в раствор бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) на 1 час вдали от области подготовки образцов для анализа.

УВЕДОМЛЕНИЕ. Для минимизации риска получения ложноположительных результатов вследствие перекрестного загрязнения ни в коем случае не открывайте пробирки с реагентом, содержащие амплифицированную ДНК. Это касается пробирки с реагентом Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter*, пробирки «Neogen Контроль реагентов» и пробирок контроля матрицы Neogen. Всегда утилизируйте запечатанные пробирки с реагентом путем выдерживания в растворе бытового отбеливателя (1–5 % в объемном отношении с водой) в течение 1 часа вдали от области подготовки образцов для анализа.

Результаты диагностики и их интерпретация

Специальный алгоритм анализирует кривую светоотдачи, выводимую в результате обнаружения амплификации нуклеотидных последовательностей. Программное обеспечение автоматически анализирует полученные данные и снабжает их цветовыми кодами. Положительный или отрицательный результат определяется путем анализа ряда уникальных параметров кривой. Предположительно положительные результаты отображаются в реальном времени, а отрицательные результаты и данные, требующие изучения, — по окончании анализа.

Предположительно положительные результаты следует подтверждать в соответствии со стандартными лабораторными процедурами или подходящим стандартным методом[1,2]. Начать необходимо с переноса образцов из первичной Neogen Среды обогащения для бактерий рода *Campylobacter* в отобранные пластины с *Campylobacter* при микроаэрофильных условиях инкубации с последующим подтверждением изолятов с использованием соответствующих биохимических, микроскопических и серологических методов. Для наилучшего сохранения среды обогащения плотно закройте мешок обогащения после сбора образца.

ПРИМЕЧАНИЕ. Результаты анализа не могут быть нулевыми даже в случае исследования отрицательного образца, поскольку система и амплификационные реагенты из Neogen Тест-набора 2 для молекулярного анализа - *Campylobacter* способны считывать показания «фоновой» RLU.

В редких случаях получения необычных световых данных алгоритм заносит соответствующие результаты в категорию информации, требующей изучения. Компания Neogen рекомендует проводить повторный анализ образцов, требующих изучения. Если результат анализа не меняется, проверьте его предпочтительным для вас методом или в соответствии с местными нормативными требованиями[1,2].

Приложение A. Прерывание выполнения протокола: хранение и повторное тестирование лизатов, подвергшихся термообработке

1. Для хранения подвергшихся термообработке лизатов повторно запечатайте пробирку с раствором для лизиса Neogen новым колпачком (см. раздел 4.5 «Лизис»).
2. Отправьте образец на хранение при температуре от 2 до 8 °C на период до 72 часов.
3. Подготовьте сохраненный образец для амплификации, перевернув пробирку 2–3 раза для перемешивания.
4. Распечатайте пробирки.
5. Поместите пробирки со смешанным лизатом во внутренний нагревательный блок для молекулярной диагностики Neogen и подогрейте до температуры 100 ± 1 °C в течение 5 ± 1 минуты.
6. Извлеките штатив с пробирками с раствором для лизиса Neogen из нагревательного блока молекулярной диагностики Neogen и поместите его для охлаждения в блок «Neogen Молекулярная диагностика. Охладительный блок (вставной)» на период от 5 до 10 минут.
7. Продолжите выполнение протокола в соответствии с разделом **«Амплификация»**, как описано выше.

Ссылки.

1. Лабораторное руководство по микробиологии. Лабораторное руководство по микробиологии 41.04 Службы безопасности и контроля продуктов питания (FSIS) Министерства сельского хозяйства США (USDA). Изоляция и идентификация бактерий *Campylobacter jejuni, coli и lari* в образцах среды после промывания, губках после обтирания и образцах сырого продукта птицы. 1 августа 2016 г.
2. ISO 10272-1. Микробиология пищевой цепи. Горизонтальный метод обнаружения и подсчета штаммов бактерий *Campylobacter spp*. Часть 1. Метод обнаружения.
3. Администрация по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США. Свод федеральных нормативных актов, раздел 21, часть 58. Надлежащая лабораторная практика для доклинических лабораторных исследований.
4. ISO/IEC 17025. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.
5. ISO 7218. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие правила микробиологического анализа.
6. Аттестация установленного оборудования (IQ) и аттестация функционирующего оборудования (OQ) Neogen: протоколы и инструкции для системы молекулярной диагностики Neogen. Для получения копии этого документа обратитесь к представителю Neogen Food Safety.
7. ISO 11133. Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред.
8. Директива 10, 250.1 Службы безопасности и контроля продуктов питания (FSIS) министерства сельского хозяйства США (USDA). Программа проверки сырого мяса и продукции птицеводства на наличие бактерий рода *Salmonella* и *Campylobacter*. 20 сентября 2013 г.

Пояснение символов

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Ürün Talimatları

Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*

Ürün Tanımı ve Kullanım Amacı

Neogen® Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* zenginleştirilmiş gıda ve çevresel gıda işleme numunelerinde *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari* ve *Campylobacter coli*'nin hızlı ve spesifik tespiti için Neogen® Moleküler Tayin Sistemi ile birlikte kullanılır.

Neogen Moleküler Tespit Analizi'nde, nükleik asit dizgelerinin yüksek özgüllük ve duyarlılıkla hızla amplifiye edilmesi için döngü aracılı izotermal amplifikasyonun yanı sıra amplifikasyonun tespit edilmesi amacıyla biyoluminesans kullanılır. Negatif sonuçlar test tamamlandıktan sonra gösterilirken, olası pozitif sonuçlar gerçek zamanlı olarak bildirilir. Olası pozitif sonuçlar, tercih edilen yöntem kullanılarak veya yerel düzenlemelerde belirtildiği şekilde doğrulanmalıdır[1,2].

Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* ürünü, laboratuvar ortamında, laboratuvar teknikleri konusunda eğitim almış profesyonellerin kullanımına yöneliktir. Neogen, bu ürünü yiyecek veya içecek endüstrileri dışında kullanım için tescil ettirmemiştir. Örneğin Neogen bu ürünü farmasötik ürünler, kozmetik malzemeler, klinik veya veterinerlik amaçlı numunelerin testlerinde kullanım için tescil ettirmemiştir. Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* olası tüm gıda ürünleri, işlenmiş gıdalar, test protokolleri veya mümkün olan tüm bakteri suşları ile değerlendirilmemiştir.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, zenginleştirme ortamının kaynağı, formülasyonu ve kalitesi sonuçları etkileyebilir. Numune alma yöntemleri, test protokolleri, numune hazırlama, taşıma ve laboratuvar tekniği gibi faktörler de sonuçları etkileyebilir. Neogen, yöntemin kullanıcının ölçütlerini karşıladığından emin olmak için belirli gıdalar ve mikrobiyal zorluklarla yeterli sayıda numune kullanılarak kullanıcının ortamında zenginleştirme ortamı dahil olmak üzere yöntemin değerlendirilmesini önerir.

Neogen, Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'i Neogen® *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri ve kansız Bolton Zenginleştirme Besiyeri ile birlikte değerlendirmiştir.

Neogen® Moleküler Tayin Cihazı, numune içinde var olan organizmaları yok etmek için tasarlanmış lizis test aşaması sırasında ısıl işlemden geçen numuneler ile kullanım için tasarlanmıştır. Lizis test aşaması sırasında doğru şekilde ısıl işleme tabi tutulmayan numuneler, olası bir biyolojik tehlike olarak düşünülebilir ve Neogen Moleküler Tayin Cihazı'na YERLEŞTİRİLMEMELİDİR.

Neogen Gıda Güvenliği, ISO (Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı) 9001 tasarım ve üretim sertifikasına sahiptir.

Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* test kiti, Tablo 1'de açıklanmış olduğu gibi 96 test içerir.

Tablo 1. Neogen Moleküler Tespit Analizi Kit Bileşenleri

Malzeme	Tanım	Miktar	İçindekiler	Yorumlar
Neogen® Lizis Solüsyonu (LS)	Şeffaf tüplerde pembe solüsyon	96 (8 tüplük 12 şerit)	Tüp başına 580 µL LS	Raflı ve kullanıma hazır
Neogen® Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpleri	Mor tüpler	96 (3 torba; 8 tüplük 4 şerit içerir)	Liyofilize spesifik amplifikasyon ve tespit karışımı	Kullanıma hazır
İlave kapaklar	Mor kapaklar	96 (8 kapaklık 12 şerit)		Kullanıma hazır
Neogen® Reaktif Kontrolü (RC)	Şeffaf üstten kapatmalı tüpler	16 (8 ayrı tüp içeren 2 poşet)	Liyofilize kontrol DNA'sı, amplifikasyon ve tespit karışımı	Kullanıma hazır

Kitte sunulmayan Negatif Kontrol (NC), Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri gibi steril bir zenginleştirme ortamıdır. NC olarak su kullanmayın.

Hızlı başlangıç kılavuzu şu adreste bulunabilir: www.neogen.com

Güvenlik

Kullanıcı, Neogen Moleküler Tayin Sistemi ve Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* ile ilgili talimatlarda yer alan tüm güvenlik bilgilerini okumalı, anlamalı ve bunlara uymalıdır. Güvenlik talimatlarını ileride başvurmak üzere saklayın.

⚠ **UYARI:** Önlenmemesi halinde ölüm ya da ciddi yaralanma ve/veya mal zararı ile sonuçlanabilecek tehlikeli bir durumu gösterir.

BİLDİRİM: Kaçınılmaması halinde maddi zarar ile sonuçlanabilen olası tehlikeli bir durumu gösterir.

⚠ UYARI

Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'i insanların veya hayvanların sağlık durumlarını tanılamak amacıyla kullanmayın.

Kullanıcı, personelini doğru test teknikleri konusunda eğitmelidir; örneğin, İyi Laboratuvar Uygulamaları[3], ISO/IEC 17025[4] veya ISO 7218[5].

Kontamine ürünün açığa çıkmasına yol açan yanlış bir negatif sonuçla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Tam olarak ürün talimatlarında belirtildiği şekilde protokolü uygulayın ve testleri gerçekleştirin.
- Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'i ambalaj üzerinde ve ürün talimatlarında belirtildiği şekilde saklayın.
- Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'i mutlaka son kullanma tarihinden önce kullanın.
- Neogen® *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri'ni ürün talimatlarını izleyerek hazırlayın.
- Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri'ni otoklavlamayın.
- Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'i kurum içinde veya üçüncü bir tarafça onaylanmış gıda ve çevre numuneleri ile kullanın.
- Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'i sadece kurum içinde veya üçüncü bir tarafça onaylanmış yüzeyler, sanitizerler, protokoller ve bakteri suşları ile kullanın.
- Aril sülfonat kompleksiyle birlikte Nötrleştirici Tampon içeren çevresel bir numune için test etmeden önce 1:2 oranında bir dilüsyon gerçekleştirin (1 ölçek steril zenginleştirme sıvı besiyeri içine 1 ölçek numune). Başka bir seçenek ise Neogen Lizis Solüsyonu tüplerine 10 µL nötrleştirici tampon zenginleştirme aktarmaktır. Aril sülfonat kompleksli Nötrleştirici Tampon içeren Neogen® Numune İşleme Ürünleri: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G ve HS2410NB2G.

Kimyasallara ve biyolojik tehlikelere maruz kalma ile ilişkili riskleri azaltmak için:

- Patojen testini doğru donanıma sahip bir laboratuvarda, eğitimli personelin kontrolü altında gerçekleştirin. İnkübe edilmiş zenginleştirme ortamı ve inkübe edilmiş zenginleştirme ortamıyla temas etmiş ekipman veya yüzeyler, insan sağlığı için risk oluşturmaya yetecek düzeylerde patojenler içerebilir.
- Reaktifler ve kontamine olmuş numuneler ile çalışırken, uygun koruyucu kıyafet ve gözlük kullanımı dahil olmak üzere, daima standart laboratuvar güvenlik uygulamalarını izleyin.
- Amplifikasyon sonrasında zenginleştirme ortamları ve reaktif tüplerinin içeriği ile temastan kaçının.
- Zenginleştirilmiş numuneleri, geçerli yerel/bölgesel/ulusal/düzenleyici standartlara göre imha edin.
- Lizis test aşaması sırasında doğru şekilde ısıl işleme tabi tutulmayan numuneler, olası bir biyolojik tehlike olarak düşünülebilir ve Neogen Moleküler Tayin Cihazı'na YERLEŞTİRİLMEMELİDİR.

Testi hazırlarken çapraz kontaminasyonla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Daima eldiven takın (kullanıcıyı korumak ve nükleazların girişini önlemek için).

Sıcak sıvılara maruz kalınmasıyla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Isıtıcıdaki önerilen sıcaklık ayarını aşmayın.
- Önerilen ısıtma süresini aşmayın.
- Neogen® Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası sıcaklığını doğrulamak için uygun ve kalibre edilmiş bir termometre kullanın (örneğin tamamen daldırma tipi termometre değil, kısmi daldırma tipi termometre veya dijital sıcaklık sensörlü termometre). Termometre, Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nda belirlenmiş olan konuma yerleştirilmelidir.

BİLDİRİM

Testi hazırlarken çapraz kontaminasyonla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Reaktif pellet hidrasyonundan önce eldivenleri değiştirin.
- Steril, aerosol bariyerli (filtreli), moleküler biyoloji sınıfı pipet uçlarının kullanılması tavsiye edilir.
- Her numune aktarımı için yeni bir pipet ucu kullanın.

- Numunenin zenginleştirilmiş besiyerinden lizis tüpüne aktarılması için İyi Laboratuvar Uygulamalarını kullanın. Pipeti kullanacak kişinin kontaminasyona maruz kalmasından kaçınmak için kullanıcı ara bir aktarım adımı eklemeyi seçebilir. Örneğin kullanıcı zenginleştirilmiş her numuneyi steril bir tüpe aktarabilir.
- Mevcutsa germisidal lamba içeren bir moleküler biyoloji çalışma tezgahı kullanın.
- Laboratuvar tezgahlarını ve ekipmanını (pipetler, kapak takma/kapak sökme araçları vb.) %1-5'lik (suda v:v) bir çamaşır suyu çözeltisi veya DNA uzaklaştırma çözeltisi ile periyodik olarak dekontamine edin.

Yanlış pozitif sonuçlarla ilişkili riskleri azaltmak için:

- Amplifikasyon sonrasında reaktif tüplerini asla açmayın.
- Kontamine olmuş tüpleri, her zaman %1-5'lik (suda v:v) bir çamaşır suyu solüsyonunda 1 saat süreyle bekleterek ve test hazırlık alanından uzakta imha edin.
- Amplifikasyon sonrasında reaktif tüplerine asla otoklav uygulamayın.

Ek bilgiler ve ürünün imha edilmesi ile ilgili yerel düzenlemeler için Güvenlik Veri Formu'na bakın.

Belirli uygulamalar veya prosedürler hakkında sorularınız varsa www.neogen.com adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel Neogen temsilcisi ya da distribütörü ile iletişim kurun.

Kullanıcının Sorumluluğu

Kullanıcılar ürün talimatları ve bilgileri hakkında bilgi edinmekle yükümlüdür. Daha fazla bilgi için **www.neogen.com** adresindeki web sitemizi ziyaret edin veya yerel Neogen temsilcinizle ya da dağıtımcınızla iletişime geçin.

Bir test yöntemi seçilirken numune alma yöntemleri, test protokolleri, numunenin hazırlanması, işlem yapılması, laboratuvar tekniği gibi dış faktörlerin ve numunenin kendisinin sonuçları etkileyebileceğinin bilinmesi gerekir.

Seçilen test yönteminin kullanıcının kriterlerini karşıladığı konusunda kullanıcıyı tatmin edecek uygun matrisler ve mikrobiyal zorluklarla yeterli sayıda numuneyi değerlendirmek üzere herhangi bir test yönteminin seçilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinin ve sonuçlarının müşteri ve tedarikçi gereksinimlerini karşılamasını sağlamak yine kullanıcının sorumluluğundadır.

Tüm test yöntemlerinde olduğu gibi, herhangi bir Neogen Gıda Güvenliği ürününün kullanılmasından elde edilen sonuçlar test edilen matrislerin veya süreçlerin kalitesi konusunda bir garanti oluşturmaz.

Çeşitli gıda matrislerine yönelik olarak yöntemin değerlendirilmesinde müşterilere yardımcı olmak için Neogen, Neogen® Moleküler Tayin Matris Kontrolü kitini geliştirmiştir. Gerektiğinde, matrisin Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* sonuçlarını etkileyip etkileyemediğini belirlemek üzere Neogen Moleküler Tayin Matris Kontrolünü (MC) kullanın. Neogen yönteminin adapte edildiği ya da yeni veya bilinmeyen matrislerin ya da ham maddesi veya prosesi değişen matrislerin test edildiği herhangi bir validasyon döneminde, matrisi temsil eden birkaç numuneyi, yani farklı kaynaktan alınan numuneleri test edin.

Matris; bileşim ve proses gibi yapısal özellikleri olan bir ürün türü olarak tanımlanabilir. Matrisler arasındaki farklılıklar, proseslerindeki veya sunumlarındaki farklılıkların neden olduğu etkiler kadar basit olabilir (ör. pastörize ve ham, kuru ve taze vb.).

Garantilerin Sınırlandırılması/Sınırlı Çözüm

Neogen, HER BİR ÜRÜN AMBALAJININ ÜZERİNDEKİ SINIRLI GARANTİ KISMINDA AÇIKÇA BELİRTİLENLER HARİCİNDE, PAZARLANABİLİRLİK VEYA BELİRLİ BİR KULLANIMA UYGUNLUK GARANTİLERİ DAHİL ANCAK BUNLARLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HERHANGİ BİR AÇIK VEYA ZIMNİ GARANTİYİ KABUL ETMEMEKTEDİR. Herhangi bir Neogen Gıda Güvenlik Ürünü'nün kusurlu olması durumunda, Neogen veya yetkili dağıtımcısı, tercihine göre ürünü değiştirecek veya ürün satış tutarını iade edecektir. Tarafınıza münhasır çözümler bunlardır. Üründe mevcut olduğundan kuşku duyulan herhangi bir kusurun fark edilmesinden sonraki altmış gün içinde durumu Neogen'e bildirin veya ürünü Neogen'e iade edin. Diğer her türlü sorunuz için lütfen Neogen temsilciniz veya yetkili Neogen distribütörünüz ile iletişim kurun.

Neogen'in Sınırlı Sorumluluğu

Neogen DOĞRUDAN, DOLAYLI, ÖZEL, ARIZİ VEYA NETİCE KABİLİNDEN DOĞMUŞ, KAYBEDİLMİŞ KAZANÇLAR DAHİL ANCAK BUNUNLA SINIRLI OLMAMAK ÜZERE HERHANGİ BİR KAYIP VEYA ZARARDAN SORUMLU OLMAYACAKTIR. Hiçbir durumda Neogen'in herhangi bir hukuk kuramı altındaki sorumluluğu, kusurlu olduğu iddia edilen ürünün satış fiyatını aşamaz.

Saklama ve Atma

Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'i 2-8°C'de (35-47°F) saklayın. Dondurmayın. Saklama sırasında kiti ışıktan uzak tutun. Kiti açtıktan sonra, folyo poşetin zarar görmemiş olduğunu teyit edin. Poşet zarar görmüşse kullanmayın.

Açıldıktan sonra, kullanılmayan reaktif tüplerinin, liyofilize reaktiflerin stabilitesini sürdürmek amacıyla, içinde nem çekici ile ağzı tekrar kapatılabilir poşet içinde saklanması gerekir. Yeniden kapatılmış poşetleri 90 günden uzun olmamak kaydıyla 2-8°C (35-47°F) sıcaklıkta saklayın.

Son kullanma tarihi geçen Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'i kullanmayın. Son kullanma tarihi ve lot numarası kutunun dış yüzündeki etikette belirtilmiştir. Kullanım sonrasında, zenginleştirme ortamı ve Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* tüpleri, potansiyel olarak patojenik materyaller içerebilir. Test tamamlandığında, kontamine atığın imha edilmesi için geçerli endüstri standartlarına uyun. Ek bilgiler ve ürünün imha edilmesi ile ilgili yerel düzenlemeler için Güvenlik Veri Formu'na bakın.

Kullanım Talimatları

Tüm talimatlara dikkatle uyun. Bu uyarının dikkate alınmaması hatalı sonuçlara neden olabilir.

Laboratuvar tezgahlarını ve ekipmanını (pipetler, kapak takma/kapak sökme araçları vb.) %1-5'lik (suda v:v) bir çamaşır suyu çözeltisi veya DNA uzaklaştırma çözeltisi ile periyodik olarak dekontamine edin.

Kullanıcı, "Neogen Moleküler Tayin Sistemi için Kurulum Yeterliliği (IQ) / Çalışma Yeterliliği (OQ) Protokolleri ve Talimatlar" belgesinde[6] açıklanan şekilde Neogen Moleküler Tayin Sistemi operatör yeterliliği (OQ) eğitimini tamamlamalıdır.

Ortam Hazırlama

Neogen® *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri'ni (CE250) ürün talimatlarını izleyerek hazırlayın. **Ortamı kullanmadan önce otoklavlamayın.** Hazırlanan ortamı 24 saat içinde kullanın. Hazırlanan besiyerini 2-8°C'de[7] hemen kullanılmayacaksa ışıktan korunacağı bir yerde saklayın. Kullanmadan önce ortam sıcaklığının 20-30°C olduğundan emin olun.

Numune Toplama

Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri, kuş yıkama veya taşıma ortamı olarak kullanılmamalıdır. Yerleşik numune alma prosedürlerinizi izleyerek numuneleri toplayıp taşıyın.

Örnek Zenginleştirme

Tablo 2; gıda ve çevresel numunelere yönelik genel zenginleştirme protokolleri için rehberlik sunar.

Bu test yönteminin kullanıcı kriterlerini karşılamasını sağlamak üzere alternatif numune alma protokollerinin veya dilüsyon oranlarının valide edilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Örnek Hazırlama

a. Karkas yıkama ve ham kümes hayvanı parçası yıkama

1. Ham kümes hayvanı karkasının içini boşalttıktan sonra 400 mL tamponlanmış peptonlu su (BPW) ile bir dakika yıkayın. Ham kümes hayvanı parçaları yıkanıyorsa, 1,8 ila 2 kg (4 lb ± %10) kuş parçalarını 400 mL BPW[1,8] ile yıkayın.
2. Karkas ve ham kümes hayvanı parçalarını yıkarken, numune torbasındaki fazla işleme sıvısını aktarmamak için numuneyi yıkamadan önce fazla sıvının damlamasını bekleyin[8].
3. Setilpiridinyum klorür (CPC) ile işlenen kümes hayvanları için L başına 5 mL Polysorbate 80'in (IUPAC: Polioksietilen (20) sorbitan monooleat; CAS 9005-65-6) hazırlanmış Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri'ne eklenmesi gerekir. Polysorbate 80, çözünmeyi kolaylaştırmak için sterilizasyon öncesinde suya eklenebilir veya Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri hazırlanmadan önce doğrudan steril suya eklenebilir.
4. 30 mL durulama suyunu steril bir torbaya aseptik olarak aktarın ve 30 mL Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri ekleyin.

b. Karkas spanç

1. Spançlar numune alınmadan önce 25 mL'ye kadar BPW ile nemlendirilmelidir[1]. Numuneler aktarılıyorsa torbanın sarılıp 2-8°C'de saklandığından emin olun.
2. Kümes hayvanı karkasından svab veya spanç ile numune alın.
3. Svabı steril bir torbaya yerleştirin ve 25 mL Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri ekleyin. Svab veya spancın zenginleştirme ortamı ile kaplandığından emin olun.

c. Ham kümes hayvanı ürünleri

1. Numuneden aseptik olarak 325 ± 32,5 g tartın ve numuneyi steril bir torbaya yerleştirin. Ham kümes hayvanı ürününe 1625 ± 32,5 mL BPW ekleyin. Parçaları dağıtmak için, elinizde masaj yaparak iyice karıştırın.
2. Karıştırdıktan sonra 30 mL ham kümes hayvanı karışımını steril bir torbaya koyun ve sonra 30 mL Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri ekleyin ve iyice karıştırın.

d. Ham ve yemeye hazır et

1. Numuneden aseptik olarak 25 g tartın ve numuneyi steril bir torbaya yerleştirin. Numune almayı kolaylaştırmak için filtre torbası önerilir.
2. 225 mL Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri ekleyin.
3. Parçaları bölmek için elinizle masaj yapın, karıştırırken kabarcık oluşmasını önleyin. Torbayı sindirme veya harmanlama işlemlerinden geçirmeyin.

e. Birincil üretim botu svabları

1. Yerleşik numune toplama prosedürlerinizi izleyerek, bot svabları veya şosetleri ile numuneyi toplayın.
2. BİR şoseti steril bir torbaya yerleştirin ve 100 mL Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri ekleyin.

f. Sürükleme svabı

1. Yerleşik numune toplama prosedürlerinizi izleyerek, önceden ıslatılmış svab cihazı ile numuneyi toplayın.
2. Svabı steril bir torbaya yerleştirin ve 100 mL Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri ekleyin.

Zenginleştirme İnkübasyonu

1. Tepe boşluğunu azaltmak ve zenginleştirmenin havaya maruz kalmasını önlemek için torbayı sarın. Yaklaşık 10 ± 2 saniye boyunca torbaya hafifçe masaj yapın. **Torbayı sindirme veya harmanlama işlemlerinden geçirmeyin ve karıştırma sırasında kabarcık oluşumunu önleyin.**
2. Torbayı 41,5 ± 1°C'de aerobik olarak inkübe edin; uygun inkübasyon süresi için tablo 2'ye bakın.

UYARI: Spanç için hidratlayıcı çözelti olarak aril sülfonat içeren nötralizasyon tamponu kullanmayı seçtiyseniz, kontamine ürünün açığa çıkmasına yol açan yanlış negatif bir sonuçla ilişkili riskleri azaltmak amacıyla, test öncesi zenginleştirilmiş çevresel numune için 1:2 oranında dilüsyon (1 ölçek steril zenginleştirme ortamı içine 1 ölçek numune) gerçekleştirilmesi gereklidir. Başka bir seçenek ise Neogen Lizis Solüsyonu tüplerine 10 µL Nötrleştirici Tampon zenginleştirme aktarmaktır.

Bu test yönteminin kullanıcı kriterlerini karşılamasını sağlamak üzere alternatif numune alma protokollerinin veya dilüsyon oranlarının valide edilmesi kullanıcının sorumluluğundadır.

Tablo 2. Genel Zenginleştirme Protokolleri.

Numune Matrisi	Numune Boyutu	Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri (mL)[b]	Zenginleştirme Sıcaklığı (± 1°C)	Zenginleştirme Süresi (saat)	Numune Analiz Hacmi (µL)[c]
• Karkas yıkama[a] • Kuş parçası yıkama[a]	BPW'de 30 mL rinsat	30	41,5	22-26	20
• Karkas spanç[a]	25 mL BPW ile önceden nemlendirilmiş 1 spanç	25	41,5	22-26	20
• Ham et • Yemeye hazır et	25 g	225	41,5	24-28	20
• Birincil üretimden bot svabları	1 bot svabı	100	41,5	22-26	20
• Birincil üretimden sürükleme svabları	1 önceden nemlendirilmiş cihaz	100	41,5	22-26	20

(a) Kuşlar Setilpiridinyum klorür (CPC) ile işlenmişse, L başına 5 mL Polysorbate 80'in (IUPAC: Polioksietilen (20) sorbitan monooleat; CAS 9005-65-6) hazırlanmış Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri'ne eklenmesi gerekir. Polysorbate 80, sterilizasyon öncesinde suya eklenebilir veya Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri hazırlanmadan önce steril suya eklenebilir.

(b) Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri hazırlandıktan sonraki 24 saat içinde kullanılmalıdır. Ortam kullanılmadan önce oda sıcaklığına (25-30°C) ulaşmalıdır.

(c) Analiz için zenginleştirme numunesi toplanmadan önce, torbanın altına hafifçe masaj yapın. **Numune alındıktan sonra, zenginleştirmenin havaya maruz kalmasını önlemek için torbayı sarın.** Yeniden test veya doğrulama adımları için ek numune gerekebilir.

Valide Edilmiş Yöntemler İçin Özel Talimatlar

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) Certificate #111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

AOAC Research Institute PTM℠ çalışmalarında, Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter*'in *Campylobacter* tespitinde etkili bir yöntem olduğu bulunmuştur. Çalışmada test edilen matrisler Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. AOAC PTM℠ Certificate #111803'e Göre Zenginleştirme Protokolleri.

Numune Matrisi	Numune Boyutu	Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri (mL)[(c)]	Zenginleştirme Sıcaklığı (± 1°C)	Zenginleştirme Süresi (saat)	Numune Analiz Hacmi (µL)[(d)]
400 mL BPW'de yıkanan bütün karkas[(a) (b)]	BPW'de 30 mL rinsat	30	41,5	22-26	20
400 mL BPW'de yıkanan kuş parçası (1,8-2 kg)[(a) (b)]	BPW'de 30 mL rinsat	30	41,5	22-26	20
Hindi karkas spancı[(a) (b)]	25 mL BPW ile önceden nemlendirilmiş 1 spanç	25	41,5	24-26	20
1625 ± 32,5 mL BPW'de yıkanmış ham kümes hayvanları (325 ± 32,5 g)[(b)]	BPW'de 30 mL ürün karışımı	30	41,5	24-28	20
Tavuk parçaları	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Kuşlar Setilpiridinyum klorür (CPC) ile işlenmişse, L başına 5 mL Polysorbate 80'in (IUPAC: Polioksietilen (20) sorbitan monooleat; CAS 9005-65-6) hazırlanmış Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri'ne eklenmesi gerekir. Polysorbate 80, sterilizasyon öncesinde suya eklenebilir veya Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri hazırlanmadan önce steril suya eklenebilir.

(b) Alternatif olarak bu matris, mikroaerobik koşullarda 42 ± 1,0°C'de 48 ± 2 saat boyunca 30 mL 2X kansız Bolton Zenginleştirme Besiyeri (BF-BEB) ile zenginleştirilebilir. Neogen Lizis Solüsyonuna 20 µL numune aktarın.

(c) Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri hazırlandıktan sonraki 24 saat içinde kullanılmalıdır. Ortam kullanılmadan önce oda sıcaklığına (25-30°C) ulaşmalıdır.

(d) Analiz için zenginleştirme numunesi toplanmadan önce, torbanın altına hafifçe masaj yapın. **Numune alındıktan sonra, zenginleştirmenin havaya maruz kalmasını önlemek için torbayı sarın.** Yeniden test veya doğrulama adımları için ek numune gerekebilir**.**

Neogen® Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'nin Hazırlanması

1. Bir bezi veya tek kullanımlık havluyu %1-5 (suda v:v) çamaşır suyu çözeltisiyle ıslatın ve Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni silin.
2. Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni su ile durulayın.
3. Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni silmek için tek kullanımlık bir havlu kullanın.
4. Kullanmadan önce, Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'nin kuru olduğundan emin olun.

Neogen® Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nın Hazırlanması

Neogen Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nı doğrudan laboratuvar tezgahına yerleştirin: Neogen Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Tepsisi kullanılmaz. Bloğu laboratuvar ortam sıcaklığında kullanın (20-25°C).

Neogen® Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın Hazırlanması

Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nı kuru, çift bloklu bir ısıtma ünitesine yerleştirin. Kuru blok ısıtıcı ünitesini çalıştırın ve Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın 100 ± 1°C'lik bir sıcaklığa ulaşmasını ve bu sıcaklığı korumasını sağlamak için sıcaklığı ayarlayın.

NOT: Isıtma ünitesine bağlı olarak, Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın istenen sıcaklığa ulaşması için yaklaşık 30 dakika bekleyin. Belirlenen yere yerleştirilmiş uygun, kalibre edilmiş bir termometre (ör. tamamen daldırmalı termometre değil, kısmi daldırmalı termometre veya dijital sıcaklık sensörlü termometre) kullanarak Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'nın 100 ± 1°C'de olduğunu doğrulayın.

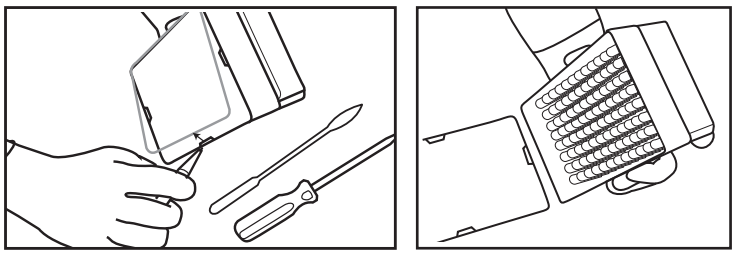
Neogen® Moleküler Tayin Cihazı'nın Hazırlanması

1. Neogen® Moleküler Tayin Yazılımı'nı başlatın ve giriş yapın. Yazılımın en güncel sürümüne sahip olduğunuzdan emin olmak için Neogen Food Safety temsilcisiyle temas kurun.
2. Neogen Moleküler Tayin Cihazı'nı çalıştırın.
3. Her bir numunenin verisiyle bir test oluşturun veya düzenleyin. Ayrıntılar için bkz. Neogen Moleküler Tayin Sistemi Kullanım Kılavuzu.

NOT: Reaksiyon tüpleri ile birlikte Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi yerleştirilmeden önce, Neogen Moleküler Tayin Cihazı Hazır duruma gelmelidir. Bu ısınma aşaması yaklaşık 20 dakika sürer ve cihazın durum çubuğunda TURUNCU bir ışıkla gösterilir. Cihaz bir testi başlatmaya hazır olduğunda, durum çubuğu YEŞİL renge döner.

Lizis

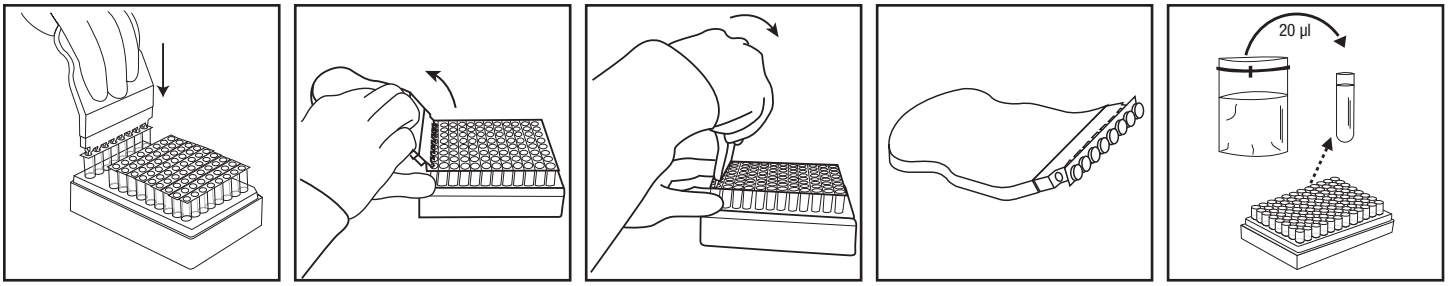
Neogen Lizis Solüsyonu Rafının alt kısmını Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'na yerleştirmeden önce tornavida ile sökün.



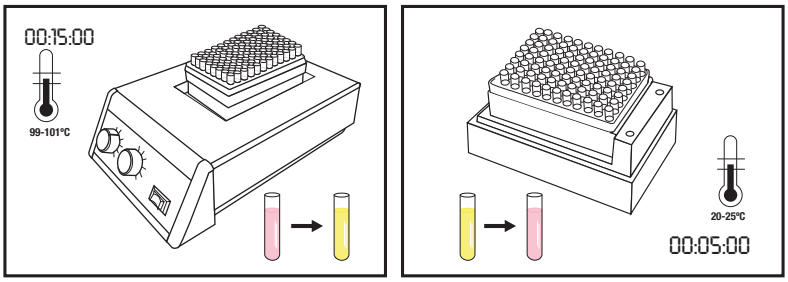
1. Rafı bir gece boyunca (16-18 saat) ortam sıcaklığına (20-25°C) ayarlayarak Neogen Lizis Solüsyonu tüplerinin ısınmasını sağlayın. Neogen Lizis Solüsyonu tüplerini ortam sıcaklığına getirmek için alternatifler, Neogen Lizis Solüsyonu tüplerini en az 2 saat laboratuvar tezgahına koymak, Neogen Lizis Solüsyonu tüplerini 1 saat boyunca 37 ± 1°C'de inkübe etmek veya kuru çift bloklu bir ısıtıcıya 100°C'de 30 saniyeliğine yerleştirmektir.
2. Karıştırmak için kapaklı tüpleri ters çevirin. Ters çevirdikten sonraki 4 saat içinde sıradaki adıma geçin.
3. **Zenginleştirilmiş numuneyi inkübatörden çıkarın.**
   - **3.1.1 Numuneyi Neogen Lizis Solüsyonu tüpüne aktarmadan önce zenginleştirme torbasının altına hafifçe masaj yapın.**
   - **3.1.2 Yeniden test veya doğrulama adımları için ek numune gerekebilir. Numuneyi aldıktan sonra tepe boşluğunu azaltmak ve zenginleştirmenin havaya maruz kalmasını önlemek için torbayı sarın. Varsayıma dayalı sonuçların doğrulanması gerekirse, varsayıma dayalı sonuç alındıktan hemen sonra doğrulama adımlarına geçin.**
4. Her numune ve NC numunesi (steril zenginleştirme ortamı) için bir Neogen Lizis Solüsyonu tüpü gereklidir.
   - 4.1 Neogen Lizis Solüsyonu tüp şeritleri, istenilen tüp sayısı kadar kesilebilir. İhtiyaç duyulan sayıda tüp veya 8 tüplük şeritler seçin. Neogen Lizis Solüsyonu tüplerini boş bir rafa koyun.
   - 4.2 Çapraz kontaminasyonu önlemek için Neogen Lizis Solüsyonu tüp şeridi kapaklarını teker teker açın ve her aktarım aşaması için yeni bir pipet ucu kullanın.
   - 4.3 Aşağıda açıklandığı gibi, zenginleştirilmiş numuneyi Neogen Lizis Solüsyonu tüplerine aktarın:

     İlk olarak, her bir zenginleştirilmiş numuneyi ayrı bir Neogen Lizis Solüsyonu tüpüne aktarın. **Son olarak** NC'yi aktarın.
   - 4.4 Tek seferde bir şerit üzerinde çalışarak, Neogen Lizis Solüsyonu tüp şeridinin kapağını sökmek için Neogen® Moleküler Tayin Kapak Takma / Kapak Sökme Aracı - Lizis'i kullanın.
   - 4.5 Neogen Lizis Solüsyonu tüp kapağını atın - Lizat tekrar test edilmek üzere tutulacaksa lizisten sonra tekrar uygulama için kapakları temiz bir kaba koyun.
     - 4.5.1 Elde bulunan lizatın işlenmesi için Ek A'ya bakın.
   - 4.6 Neogen Lizis Solüsyonu tüpüne 20 µL numune aktarın.

5. Test edilecek numune sayısı için 4.4 ila 4.6 adımlarını gerektiği şekilde tekrar edin.



6. Tüm numuneler aktarıldığında, 20 µL kadar NC'yi (BPW gibi steril zenginleştirme ortamı) Neogen Lizis Solüsyonu tüpüne aktarın. NC olarak su kullanmayın.
7. Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası sıcaklığının 100 ± 1°C'de olduğunu doğrulayın.
8. Üstü açık Neogen Lizis Solüsyonu tüpleri rafını Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası'na yerleştirin ve 15 ± 1 dakika boyunca ısıtın. Isıtma boyunca, Neogen Lizis Solüsyonunun rengi pembeden (soğuk) sarıya (sıcak) dönecektir.
   8.1 Lizis test aşaması sırasında doğru şekilde ısıl işleme tabi tutulmayan numuneler, olası bir biyolojik tehlike olarak düşünülebilir ve Neogen Moleküler Tayin Cihazı'na YERLEŞTİRİLMEMELİDİR.
9. Neogen Lizis Solüsyonu tüplerinin açık rafını Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğundan çıkarın ve Neogen Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nda en az 5, en fazla 10 dakika soğumasını bekleyin. Neogen® Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Tepsisi olmadan oda sıcaklığında kullanılan Neogen Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası, laboratuvar tezgahına doğrudan yerleştirilmelidir. Soğuduğunda, Neogen Lizis Solüsyonunun rengi tekrar pembeye dönecektir.
10. Neogen Lizis Solüsyonu tüp rafını Neogen Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'ndan çıkarın.



Amplifikasyon

1. Her bir numune ve NC için bir Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpü gereklidir.
   1.1 Tüp şeritleri istenilen tüp sayısı kadar kesilebilir. Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpünün veya gereken 8'li tüp şeritlerinin sayısını seçin.
   1.2 Tüpleri boş bir raf içine yerleştirin.
   1.3 Tüplerin dip tarafındaki reaktif pelletlerini karıştırmaktan kaçının.
2. Bir adet Neogen Reaktif Kontrolü Tüpü seçin ve rafa yerleştirin.
3. Çapraz kontaminasyonu önlemek için tek seferde yalnızca bir Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpü şerit kapağını açın ve her aktarım aşaması için yeni bir pipet ucu kullanın.
4. Lizatların her birini Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpü ile Neogen Reaktif Kontrolü Tüpüne aşağıda açıklanan şekilde aktarın:

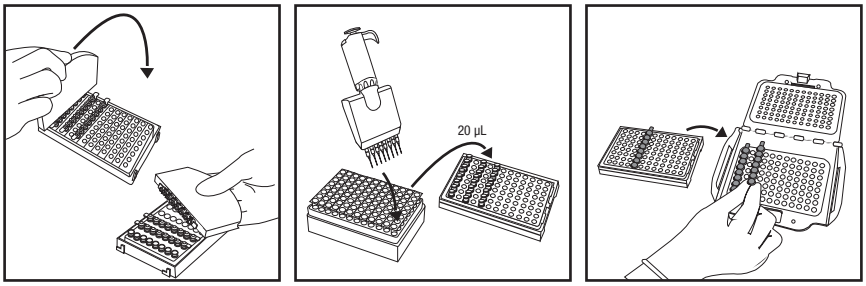
Her bir numune lizatını **önce** bir Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpüne, ardından NC'ye aktarın. Neogen Reaktif Kontrolü Tüpünü **en son** hidratlayın.

5. Neogen® Moleküler Tayin Kapak Takma / Kapak Sökme Aracı - Reaktif'i kullanarak, Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüplerinin kapağını, tek seferde tek tüp şeridi olacak şekilde çıkarın. Kapağı atın.
   5.1 **20 µL lizat numunesini, Neogen Lizis Solüsyonu tüpündeki sıvının ½'lik üst kısmından (çökeltiyi önleyerek) ilgili Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpüne aktarın. Pelletlerin karışmasını önlemek için açılı olarak dökün. Yukarı ve aşağı 5 kez pipetleyerek nazikçe karıştırın.**
   5.2 Şeritte karşılık gelen Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpüne tek lizat numunesi eklenene kadar adım 5.1'i tekrarlayın.
   5.3 Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüplerini, tedarik edilen ilave kapaklar ile kapatın ve kapağın sıkı bir şekilde kapatıldığından emin olmak amacıyla, ileri geri hareketle basınç uygulamak üzere Neogen Moleküler Tayin Kapak Takma / Kapak Sökme Aracı - Reaktif'inin yuvarlak tarafını kullanın.
   5.4 Test edilecek numune sayısı için 5.1 ila 5.3 adımlarını gerektiği şekilde tekrar edin.

5.5 Tüm lizat numuneleri aktarıldığında, adım 5.1 ila 5.3'ü tekrarlayarak 20 µL NC lizatı bir Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif Tüpüne aktarın.

5.6 **20 µL <u>NC lizatı</u> bir Neogen Reaktif Kontrolü Tüpüne** aktarın. Pelletlerin karışmasını önlemek için açılı olarak dökün. Yukarı ve aşağı 5 kez pipetleyerek nazikçe karıştırın.

6. Kapağı takılmış olan tüpleri temiz ve dekontamine edilmiş bir Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ne yükleyin. Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi kapağını kapatın ve mandalını kilitleyin.



7. Neogen Moleküler Tayin Yazılımı'nda yapılandırılmış testi gözden geçirin ve onaylayın.
8. Yazılımdaki Start (Başlat) düğmesine tıklayın ve kullanılacak cihazı seçin. Seçilen cihazın kapağı otomatik olarak açılır.
9. Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni Neogen Moleküler Tayin Cihazı'na yerleştirin ve testi başlatmak üzere kapağı kapatın. Pozitif sonuçlar daha önce tespit edilebilmekle beraber, sonuçlar 60 dakika içinde elde edilir.
10. Test tamamlandıktan sonra, Neogen Moleküler Tayin Hızlı Yükleyici Tepsisi'ni Neogen Moleküler Tayin Cihazı'ndan çıkarın ve tüpleri 1 saat boyunca %1-5'lik (suda v:v) çamaşır suyu çözeltisine daldırarak test hazırlık alanından uzakta imha edin.

BİLDİRİM: Çapraz kontaminasyondan kaynaklanan yanlış pozitif sonuçların elde edilmesi riskini en aza indirmek için amplifiye edilmiş DNA'yı içeren reaktif tüplerini hiçbir zaman açmayın. Buna Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* Reaktif, Neogen Reaktif Kontrolü ve Neogen Matris Kontrol Tüpleri dahildir. Ağzı sızdırmaz bir şekilde kapatılmış reaktif tüplerini, her zaman %1-5'lik (suda v:v) bir çamaşır suyu çözeltisinde 1 saat süreyle bekleterek ve test hazırlık alanından uzakta imha edin.

Sonuçlar ve Yorumlama

Bir algoritma, nükleik asit amplifikasyonu tayininden kaynaklanan ışık çıkışı eğrisini yorumlar. Sonuçlar yazılım tarafından otomatik olarak analiz edilir ve sonuca göre renk kodlamasına tabi tutulur. Benzersiz eğri parametreleri sayısı analiz edilerek Pozitif veya Negatif bir sonuç belirlenir. Negatif sonuçlar ve Kontrol sonuçları test tamamlandıktan sonra gösterilirken, olası Pozitif sonuçlar gerçek zamanlı olarak bildirilir.

Olası pozitif numuneler, birincil Neogen *Campylobacter* Zenginleştirme Besiyeri ile zenginleştirmeden mikroaerofilik inkübasyon ile seçici *Campylobacter* plaklarına aktarım, uygun biyokimyasal, mikroskopik ve serolojik yöntemler kullanılarak izolatların onaylanması gibi işlemlerle başlayarak standart laboratuvar prosedürlerine veya uygun referans doğrulama yöntemine[1,2] uygun şekilde doğrulanmalıdır. Zenginleştirmenin en iyi şekilde korunması için numune aldıktan sonra zenginleştirme torbasını sarın.

NOT: Sistem ve Neogen Moleküler Tespit Analizi 2 - *Campylobacter* amplifikasyon reaktifleri bir "arka plan" bağıl ışık birimine (RLU) sahip olduğu için negatif bir numune bile sıfır okuma sonucu vermeyecektir.

Nadir olarak olağan dışı ışık çıkışı durumunda, algoritma bu durumu Kontrol olarak etiketler. Neogen, tüm Kontrol numuneleri için kullanıcının testi tekrarlamasını önerir. Kontrol sonucu almaya devam ederseniz tercih ettiğiniz yöntemi kullanarak veya yerel düzenlemeler ile belirlendiği şekilde, doğrulama testine geçin[1,2].

Ek A. Protokol Kesintisi: Isıl işlem görmüş lizatların saklanması ve yeniden test edilmesi

1. Isıl işlem görmüş lizatı saklamak için, Neogen Lizis Solüsyonu Tüpünü temiz bir kapakla kapatın (bkz. Lizis bölümü, 4.5).
2. 72 saate kadar 2-8°C sıcaklıkta saklayın.
3. Saklanan numuneyi, karıştırmak üzere 2-3 kez ters yüz ederek amplifikasyon için hazırlayın.
4. Tüplerin kapaklarını çıkarın.
5. Karıştırılan lizat tüplerini Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğu Ek Parçası üzerine yerleştirin ve 5 ± 1 dakika 100 ± 1°C'de ısıtın.
6. Neogen Lizis Solüsyonu tüplerinin rafını Neogen Moleküler Tayin Isıtma Bloğundan çıkarın ve Neogen Moleküler Tayin Soğutma Bloğu Ek Parçası'nda en az 5, en fazla 10 dakika soğumasını bekleyin.
7. Protokole, yukarıda detayları verilen **Amplifikasyon** bölümünden devam edin.

Referanslar:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contact your Neogen Food Safety representative to obtain a copy of this document.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Sembollerin Açıklaması

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

製品情報

分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*

製品の概要および用途

Neogen®分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、Neogen®分子検出システムを用いて前培養した食品および食品製造工程中環境検体におけるカンピロバクター属菌（*Campylobacter jejuni*、*Campylobacter lari*および*Campylobacter coli*）を迅速かつ特異的に検出するときに使用します。

Neogen病原菌検出アッセイは、増幅した菌を検出するために、高い特異性と感度で核酸配列を迅速に増幅するLAMP法と、生物発光を組み合わせています。推定陽性結果はリアルタイムに表示され、陰性結果は検査が完了してから表示されます。結果が陽性と推定される場合は、任意の別の方法または行政の規制によって指定されたとおりに確認する必要があります[1,2]。

Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、検査技術の訓練を受けた技術者が検査室境で使用することを想定しています。Neogenは、食品または飲料以外の産業における本製品の使用に関しては検証しておりません。たとえば、Neogenは、本製品を医薬品、化粧品、臨床または動物診断検体の検査で使用することについて検証しておりません。Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、可能性のあるすべての食品や食品製造工程、検査プロトコル、あるいはすべての菌株について評価されたわけではありません。

すべての検査法と同様に、増菌ブロスのメーカーや組成、品質などの要因が結果に影響する場合があります。採取方法、検査プロトコル、検体の準備、取り扱い、および検査手技などの要因が結果に影響する場合もあります。Neogenは、検査方法がお客様の基準を確実に満たすように、お客様の環境において、特定の食品および微生物負荷を用いて十分な数の検体で、増菌ブロスを含む検査方法を評価することをお勧めします。

Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*とNeogen®*カンピロバクター*属菌増菌ブロスと血液非含有ボルトン増菌ブロスとの併用に対する評価は実施されています。

Neogen®分子検出装置自動検出システム用は、アッセイのライシスステップ中に熱処理を行った検体を測定することを目的としており、検体中に存在する微生物を溶菌するように設計されています。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考えられる可能性がありますので、Neogen分子検出装置自動検出システム用の装置内には入れないでください。

Neogen食品衛生関連製品部門は、設計と製造についてISO（国際標準化機構）9001認証を取得しています。

Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*検査キットは、表1に記載のとおり96検体用となっています。

表1. Neogen病原菌検出アッセイキットの内容

品目	特徴	数量	内容	コメント
Neogen®ライシス液（LS溶液）	クリアチューブに入ったピンク色の液体	96検査分（8連チューブ12セット）	チューブ1本につきLS 580 µL	ラック入り、調整済み
Neogen®分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブ	紫色チューブ	96検査分（8連チューブ4セット入り3パウチ）	凍結乾燥済み特異的増幅試薬および検出試薬	調整済み
予備キャップ	紫色キャップ	96検体分（8連キャップ12セット）		調整済み
Neogen®試薬コントロール（RC）	フリップトップ式クリアチューブ	16検査分（チューブ8本入り2パウチ）	凍結乾燥済みコントロールDNA、増幅試薬および検出試薬	調整済み

陰性コントロール（NC：キットには付属しません）は、Neogen*カンプロバクター*属菌用増菌ブロスなどの滅菌増菌ブロスです。水は陰性コントロールとして使用しないでください。

クイックスタートガイドは、www.neogen.comでご覧いただけます。

安全性

Neogen分子検出システムおよびNeogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*の製品情報に記載のすべての安全情報を読み、理解し、遵守してください。また、今後参照できるように、この安全性指示を保管しておいてください。

⚠ **警告：** 警告は、それを避けなければ死亡または重篤な傷害ないし物的損害が発生しうる危険な状況を示します。

注記： 回避できない場合、物的損害が起こり得る危険な状況を示します。

⚠ 警告

Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、ヒトまたは動物の病態診断に使用しないでください。

検査実施担当者に適切な検査技術を身につけるように指導してください（例：GLP[3]、ISO/IEC 17025[4]、ISO 7218[5]）。

汚染製品の出荷につながる偽陰性結果に伴うリスクを回避するために：

- プロトコルに従い、製品情報に記載のとおりに検査を行ってください。
- Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、外箱表示および製品情報に記載のとおりに保管してください。
- Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、有効期限までに必ず使用してください。
- 製品情報に従ってNeogen®*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスを調製してください。
- Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスをオートクレーブで加熱滅菌処理しないでください。
- Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、社内または第三者による検証を行った食品検体および環境検体に使用してください。
- Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、社内または第三者による検証を行った表面、殺菌剤、プロトコル、菌株のみに使用してください。
- アリルスルホン酸塩添加中和緩衝液を含む環境検体については、試験前に1:2の希釈（検体1に対して滅菌増菌ブロス1）を行ってください。別の方法としては、中和緩衝液増菌ブロス10 µLをNeogenライシスチューブに滴下します。Neogen®検体処理製品のうち、アリルスルホン酸塩添加中和緩衝液を含む製品は、RS96010NB、RS9604NB、SSL10NB、SSL10NB2G、HS10NB、HS10NB2G、HS2410NB2Gです。

化学物質およびバイオハザードへの暴露に伴う危険を回避するために：

- 技能訓練を受けた検査実施担当者の管理下で、適切な設備のある検査室にて食中毒菌検査を行ってください。培養済み増菌ブロスおよび培養済み増菌ブロスと接触する機器または接触面には、人体に有害となりうる量の病原体が含まれている可能性があります。
- 試薬および汚染された検体を取り扱う際は、適切な保護衣、保護メガネの装着など、標準的な検査室の安全手順に常に従ってください。
- 増菌後のブロスや、増幅後の試薬チューブ内容物には触れないでください。
- 現行の地方／地域／国の規制基準に従って、増菌された検体を廃棄してください。
- 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考えられる可能性がありますので、Neogen分子検出装置内には入れないでください。

アッセイ準備中の交差汚染に伴う危険を回避するために：

- 手袋を必ず着用してください（ユーザー保護と遺伝子の混入を避けるため）。

高温の液体への暴露に伴う危険を回避するために：

- ヒーターの温度設定を推奨温度以上にしないでください。
- 推奨される加熱時間を超えないでください。
- 適切な較正済みの温度計を使用して、Neogen®分子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（例：浸線付温度計またはデジタル熱電対温度計。全浸没温度計は使用しないこと）。温度計は、必ずNeogen分子検出ヒートブロックインサートの指定の部位に設置してください。

注記

アッセイ準備中の交差汚染に伴う危険を回避するために：

- 試薬ペレットを水和する前に、手袋を交換してください。
- 滅菌済みのエアロゾルバリア材（フィルター付）、分子生物学グレードのピペットチップの使用を推奨します。
- 検体ごとに新しいピペットチップを使用してください。
- GLP（医薬品安全性試験実施基準）に従って検体を増菌ブロスからライシスチューブに移してください。ピペットの汚染を回避するため、中間的な滴下ステップを追加することもできます。例えば、増菌された各検体を滅菌チューブに滴下することができます。
- 利用可能な場合は、殺菌灯が装備された病原菌取扱エリアを使用してください。
- 検査室の作業台および備品（ピペット、キャップ／デキャップツール等）は、水で1～5%（v/v）に希釈した家庭用漂白液またはDNA除去用液を使用して定期的に除染してください。

偽陽性の結果に伴う危険を回避するために：

- 増幅後の試薬チューブは絶対に開けないでください。
- 汚染されたチューブは、常に、水で1～5%（v/v）に希釈したの家庭用漂白液に1時間浸漬した後、アッセイの準備作業領域から隔離して、廃棄してください。
- 増幅後の試薬チューブは絶対にオートクレーブで加熱滅菌処理しないください。

廃棄に関する詳細および行政の規制については、安全データシートをご参照ください。

具体的な用途や手順についてご質問がありましたら、当社のウェブサイト（www.neogen.com）をご覧いただくか、Neogen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。

お客様の使用責任

お客様には、使用前に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。詳細につきましては、当社ウェブサイト**www.neogen.com**をご覧いただくか、担当のNeogen販売担当者または販売店にお問い合わせください。

検査方法を選択する際には、採取方法、検査プロトコル、検体の準備、取り扱い、検査手技、検体自体などの外的要因が結果に影響することを認識することが重要です。

検査方法または製品を選択する際に、適切なマトリックスおよび微生物負荷を用いて十分数の検体を評価して、選択した試験方法がお客様の基準を満たすことをお客様の責任でご確認ください。

また、検査方法および結果が顧客または供給業者の要件を満たしているかについても、事前にお客様の責任でご確認ください。

どの検査方法を使用した場合でも、Neogen食品衛生製品を用いて得られた結果は、検査を実施した食品マトリックスまたは工程の品質を保証するものではありません。

各種食品マトリックスの検査方法の評価にご利用いただくため、NeogenではNeogen®分子検出マトリックスコントロール病原菌検出システム用をご用意しました。必要に応じて、Neogen分子検出基質コントロール（MC）を使用し、対象マトリックスがNeogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*の検査結果に影響を及ぼすかどうかを判定してください。Neogenの検査法を採用する場合、または新規や由来の不明なマトリックス、あるいは原材料を加工したマトリックスや加工工程が変更されたマトリックスを検査する場合は、検証期間中に、マトリックスの標準となる複数の検体（由来の異なる検体）を検査してください。

マトリックスは、成分や加工状態など固有の特性を備える製品の種類として定義されます。マトリックス間の違いは、加工や外観（例：未加工か滅菌済みか、新鮮か乾物か、等）の違いに起因する効果と同じように単純な場合があります。

保証の範囲／賠償の制限

個々の製品パッケージの限定保証条項に明示されている場合を除き、NEOGENは明示または黙示を問わず、商品性または特定の目的への適合性に関する保証を含むがこれに限定されない、いかなる種類の保証も負いかねます。Neogen食品衛生製品部門の製品に欠陥があった場合、Neogenまたは指定販売店で交換あるいは製品購入価格の払い戻しをいたします。対応は上記のみとさせていただきます。製品の欠陥が疑われる場合は、判明した時点から60日以内に速やかにNeogenに通知し、製品をNeogenに返品する必要があります。ご不明な点がございましたら、Neogenの担当者またはNeogenの正規卸売業者にお問い合わせください。

Neogenの保証責任範囲

NEOGENは、直接的、間接的、特殊なもの、偶発的または必然的であるかを問わず、利益損失を含むがこれに限定されないあらゆる損失または損害に対しての責任を負わないものとします。いかなる場合も、いかなる法的理論の下でも、Neogenの保証責任範囲は、欠陥と申し立てられた製品の購入金額を超えないものとします。

保管と廃棄

Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は2～8°C（35～47°F）で保管してください。冷凍しないでください。暗所で保管してください。キット開封後は、ホイルパウチが破損してい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、使用しない試薬チューブは、凍結乾燥試薬の安定性を保つため、乾燥剤と共に再密閉可能なパウチ内に必ず保管してください。封をしたパウチは2～8°C（35～47°F）で、90日間保管できます。

Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は使用期限までに必ず使用してください。使用期限とロット番号は箱の外側のラベルに記載しています。使用後、増菌ブロスおよびNeogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*には病原性の物質が含まれている可能性があります。検査終了後は、汚染廃棄物に関する現行の業界基準に従って廃棄してください。廃棄に関する詳細および行政の規制については、安全データシートをご参照ください。

使用方法

すべての指示に、注意深く従ってください。従わない場合、正確な結果が得られないことがあります。

検査室の作業台および備品（ピペット、キャップ／デキャップツール等）は、水で1～5%（v/v）に希釈したの家庭用漂白液またはDNA除去用液を使用して定期的に除染してください。

ユーザーは、「Neogen分子検出システムの設置資格（IQ）／操作資格（OQ）プロトコルと手順」[6]に記載のとおり、Neogen分子検出システムのオペレーター資格（OQ）トレーニングを受講する必要があります。

ブロスの調製

製品情報に従ってNeogen®*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス（CE250）を調製してください。**使用前にブロスをオートクレーブで加熱滅菌処理しないでください。**調製済みブロスは調製後24時間以内に使用してください。調製後すぐに使用しない場合は、調整済みブロスを2～8°C[7]で遮光して保管してください。使用前に必ずブロスを20～30°Cに戻してください。

検体の採取

Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスは、鶏肉（家禽肉）の洗浄や輸送ブロスには使用しないでください。所定の検体採取手順に従って検体を採取し、輸送してください。

検体の増菌

表2には、食品および環境検体を増菌する場合の一般的なガイドラインを示しています。

この検査法がお客様の基準に合致するかを確かめるため、別の採取プロトコルまたは希釈率で事前確認いただき、お客様の責任で使用の可否をご判断ください。

検体調製

a. 丸鶏の洗浄水、生の鶏肉（一部）の洗浄水

1. 内臓を抜いた生の丸鶏を緩衝ペプトン水（BPW）400 mLで1分間洗浄します。生の鶏肉（一部）を洗浄する場合は、1.8～2 kg（4ポンド ± 10%）の部位をBPW[1,8]400 mLで洗浄してください。
2. 丸鶏や生の鶏肉（一部）の場合は、検体バッグ[8]内に余分な処理液が入らないよう、検体の洗浄前に余分な水気を切るようにしてください。
3. 塩化セチルピリジニウム（CPC）で処理した鶏肉については、1 Lあたり5 mLのポリソルベート80（IUPAC：ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノオレエート、CAS 9005-65-6）を調製済みのNeogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスに添加する必要があります。ポリソルベート80は、溶解促進を目的として滅菌前に水に添加したり、Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスの調製前に滅菌水に直接添加したりすることもできます。
4. 洗浄水30 mLを無菌的に滅菌バッグに移し、Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス30 mLを添加してください。

b. 丸鶏の洗浄用スポンジ

1. 検体[1]採取前に、スポンジにBPWを最大25 mLまで浸み込ませておく必要があります。検体を輸送する場合は、バッグを巻くようにして畳み、2～8°Cで保管するようにしてください。
2. 丸鶏からスワブまたはスポンジで検体を収集します。
3. スワブを滅菌バッグに入れ、Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス25 mLを添加します。スワブまたはスポンジが増菌ブロスで覆われていることを確認します。

c. 生の鶏肉製品

1. 検体325 ± 32.5 gを無菌的に秤量し、滅菌バッグに入れます。BPW 1625 ± 32.5 mLを生の鶏肉製品に添加します。塊を分散させるために、手で短時間揉んでよく混合します。
2. 混合後、生の鶏肉製品の混合液30 mLを滅菌バッグに加え、次いでNeogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス30 mLを加えてよく混合します。

d. 生肉、調理済み食肉製品

1. 検体25 gを無菌的に秤量し、滅菌バッグに入れます。検体が採取しやすいように、フィルターバッグを推奨します。
2. Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス225 mLを添加します。
3. 手で揉んで塊を崩します。混合する際に気泡が出ないようにします。ストマッキングやブレンダーを使用してバッグを処理しないでください。

e. 一次生産現場のブーツ拭き取り検体

1. 所定の検体採取手順に従って、ブーツ拭き取り検体を採取するか、靴下から検体を採取します。
2. 靴下を片方だけ滅菌バッグに入れ、Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス100 mLを添加します。

f. 牽引スワブ

1. 所定の検体採取手順に従って、あらかじめ湿らせたスワブで検体を採取します。
2. スワブを滅菌バッグに入れ、Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス100 mLを添加します。

増菌ブロスの培養

1. バッグを巻くようにして畳み、上部に余分な隙間がないように空気を抜きます。約10 ± 2秒間、バッグを静かに揉みます。**ストマッキングやブレンダーを使用してバッグを処理しないでください。また、混合する際に気泡が出ないようにしてください。**
2. バッグを41.5 ± 1°Cで好気培養します。適切な培養時間については表2を参照してください。

警告：アリルスルホン酸複合体をスポンジの水和溶液として含む中和バッファーの使用を選択する場合には、汚染された製品の出庫につながる偽陰性の伴うリスクを回避するために、検査を行う前に増菌環境検体の1：2の希釈液（検体1に対し滅菌増菌ブロス1）を行う必要があります。別の方法としては、中和緩衝液増菌ブロス10 µLをNeogenライシスチューブに滴下します。

この検査法がお客様の基準に合致するかを確かめるため、別の採取プロトコルまたは希釈率で事前確認いただき、お客様の責任で使用の可否をご判断ください。

表2.一般的な増菌プロトコル。

検体マトリックス	検体量	Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス（mL）[b]	増菌温度（± 1°C）	増菌時間（時間）	検体の分析量（µL）[c]
• 丸鶏の洗浄水[a] • 部位肉の洗浄水[a]	BPW中洗浄水30 mL	30	41.5	22～26	20
• 丸鶏の洗浄用スポンジ[a]	最大25 mLのBPWであらかじめ湿らせたスポンジ1個	25	41.5	22～26	20
• 生肉 • 調理済み食肉製品	25 g	225	41.5	24～28	20
• 一次生産現場から採取したブーツ拭き取り検体	ブーツ拭き取り検体（スワブ）1本	100	41.5	22～26	20
• 一次生産現場から採取した牽引スワブ	あらかじめ湿らせたスワブ1本	100	41.5	22～26	20

(a) 鶏肉が塩化セチルピリジニウム（CPC）で処理されている場合は、1 Lあたり5 mLのポリソルベート80（IUPAC：ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノオレエート、CAS 9005-65-6）を調製済みのNeogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスに添加する必要があります。ポリソルベート80を、滅菌前に水に添加するか、Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスの調製前に滅菌水に添加することができます。

(b) Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスは、調製から24時間以内に使用する必要があります。使用前に、ブロスを周囲温度（25～30°C）に戻してください。

(c) 分析用の増菌検体を採取する前に、バッグの底を静かに揉みます。**検体採取後、増菌ブロスが空気に触れないよう、バッグを巻くようにして畳みます。**再検査や確認手順で検体の追加が必要になる場合があります。

バリデートされた方法に関する具体的な指示

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) 認証#111803

PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 111803

AOAC Research Institute PTM℠の試験において、Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*は、*カンピロバクター*属菌の検出に有効な方法であることが確認されています。上記試験において検査の対象となったマトリックスを表3に掲載します。

表3.AOAC PTM[SM]認証#111803に従う増菌プロトコル。

検体マトリックス	検体量	Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロス（mL）[c]	増菌温度（± 1°C）	増菌時間（時間）	検体の分析量（µL）[d]
BPW 400 mLで洗浄した丸鶏[a][b]	BPW中洗浄水30 mL	30	41.5	22～26	20
BPW 400 mLで洗浄した1.8 ～2 kgの丸鶏[a][b]	BPW中洗浄水30 mL	30	41.5	22～26	20
七面鳥と体スポンジ[a][b]	最大25 mLのBPWであらかじめ湿らせたスポンジ1個	25	41.5	24～26	20
BPW[b] 1625 ± 32.5 mLで洗浄した生の鶏ひき肉（325 ± 32.5 g）	BPW中製品混合液30 mL	30	41.5	24～28	20
チキンナゲット	25 g	225	41.5	24～28	20

(a) 鶏肉が塩化セチルピリジニウム（CPC）で処理されている場合は、1 Lあたり5 mLのポリソルベート80（IUPAC：ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノオレエート、CAS 9005-65-6）を調製済みのNeogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスに添加する必要があります。ポリソルベート80を、滅菌前に水に添加するか、Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスの調製前に滅菌水に添加することができます。

(b) または、このマトリックスを2X血液フリーボルトン増菌ブロス（BF-BEB）30 mLを用い、微好気条件で42 ± 1.0°Cにおいて48 ± 2時間増菌することができます。Neogenライシス溶液に検体20 µLを滴下します。

(c) Neogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスは、調製から24時間以内に使用する必要があります。使用前に、ブロスを周囲温度（25～30°C）に戻してください。

(d) 分析用の増菌検体を採取する前に、バッグの底を静かに揉みます。**検体採取後、増菌ブロスが空気に触れないよう、バッグを巻くようにして畳みます。**再検査や確認手順で検体の追加が必要になる場合があります。

Neogen®分子検出スピードローダートレイの準備

1. 水で1～5%（v/v）に希釈したの家庭用漂白液で湿らせた布か使い捨て用タオルを使って、Neogen分子検出スピードローダートレイを拭きます。
2. 水でNeogen分子検出スピードローダートレイを濯ぎます。
3. 使い捨てペーパータオル等で、Neogen分子検出スピードローダートレイを拭きます。
4. 使用前に、Neogen分子検出スピードローダートレイが乾燥していることを確認してください。

Neogen®分子検出チルブロックインサートの準備

Neogen分子検出チルブロックインサートを作業台の上に直に置きます。Neogen分子検出チルブロックトレイは使用しません。ブロックは検査室の室温（20～25°C）で使用します。

Neogen®分子検出ヒートブロックインサートブロックインサートの準備

Neogen分子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入れます。ドライブロックヒーターユニットをオンにして、温度を100 ± 1°Cに設定します。Neogen分子検出ヒートブロックインサートブロックインサートが設定温度に達したら、温度を保持します。

注：使用するヒーターユニットによっては、Neogen分子検出ヒートブロックインサートが設定温度に達するまでに約30分かかります。適切な較正済みの温度計（例：浸線付温度計またはデジタル熱電対温度計。全浸没温度計は使用しないこと）を指定の部位に設置し、Neogen分子検出ヒートブロックインサートが100 ± 1°Cであることを確認します。

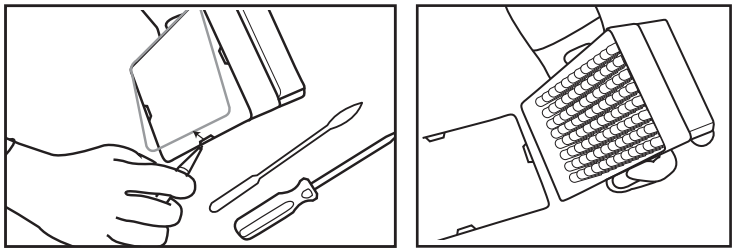
Neogen®分子検出装置自動検出システム用の準備

1. Neogen®病原菌自動検出ソフトウェアを起動してログインします。お使いのソフトウェアが最新バージョンであるかどうかを確認するには、Neogen食品衛生製品の営業担当者までお問い合わせください。
2. Neogen分子検出装置の電源を入れます。
3. 各検体のデータを含む検出結果を作成、編集します。詳細については、Neogen分子検出システムユーザーマニュアルを参照してください。

注：Neogen分子検出装置自動検出システム用は、反応チューブと共にNeogen分子検出スピードローダートレイを入れる前に、待機状態になっ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、装置のステータスバーがオレンジ色に点灯します。装置の準備ができると、ステータスバーは緑色に変わります。

ライシス

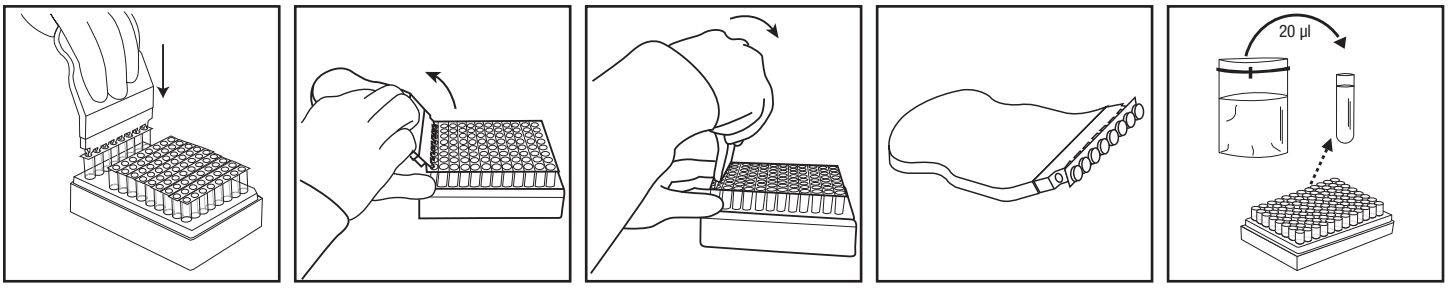
Neogen分子検出ヒートブロックインサートに入れる前に、ドライバーでNeogenライシスチューブラックの底部を取り外します。



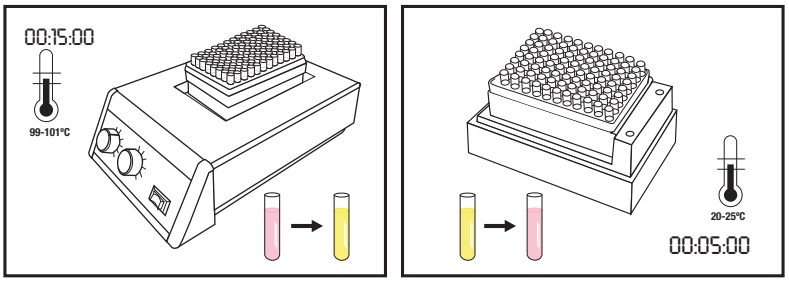
1. Neogenライシスチューブは、ラックに一晩（16～18時間）静置して、室温（20～25°C）に戻します。Neogenライシスチューブを室温に戻す別の方法としては、Neogenライシスチューブを作業台の上に2時間以上静置するか、Neogenライシスチューブを37 ± 1°Cの培養器内で1時間保温するか、Neogenライシスチューブをドライダブルブロックヒーターに入れて100°Cで30秒間加熱します。
2. キャップを閉めた状態のライシスチューブを反転させて中の液を混合させます。反転後4時間以内に次のステップに進みます。
3. **培養器から増菌済みブロスを取り出します。**
   3.1.1 検体をNeogenライシスチューブに滴下する前に、増菌バッグの底を静かに揉みます。
   3.1.2 再検査や確認手順で検体の追加が必要になる場合があります。検体採取後、バッグを巻くようにして畳み、余分な隙間が出ないように空気を抜きます。推定結果の確認が必要な場合は、推定結果が出た直後に確認手順を進めてください。
4. 各検体およびNC検体（滅菌増菌ブロス）につきNeogenライシスチューブ1本が必要です。
   4.1 Neogenライシスチューブのストリップは、必要なチューブ数分にカットすることができます。各チューブまたは8連チューブのストリップの数を選択してください。Neogenライシスチューブを空のラックに置きます。
   4.2 交差汚染を回避するため、Neogenライシスチューブのキャップは一度に1ストリップずつ外し、滴下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。
   4.3 以下に記載のとおり、増菌した検体をNeogenライシスチューブに滴下します。

最初に、増菌した各検体を各Neogenライシスチューブに滴下します。**最後に**NCを滴下します。

   4.4 Neogen®分子検出キャップ／デキャップツール ― 溶解、Neogenライシスチューブのキャップを一度に1ストリップずつ外します。
   4.5 Neogenライシスチューブのキャップを廃棄します。ライシス液を再検査用に保存する場合は、キャップを清潔な容器に入れておき、ライシス後に再度キャップを嵌めます。
      4.5.1 保存した溶解物の処理については、付録Aを参照してください。
   4.6 Neogenライシスチューブに検体20 µLを滴下します。
5. 検査する検体数に応じて、ステップ4.4～4.6を繰り返します。



6. すべての検体を移注したら、NC（ネガティヴコントロール用滅菌増菌ブロス、例：BPW）20 µLをNeogenライシスチューブに滴下します。水は陰性コントロールとして使用しないでください。
7. Neogen分子検出ヒート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てください。
8. Neogen分子検出ヒートブロックインサート内にカバーを外したNeogenライシスチューブラックを入れて、15 ± 1分間加熱します。加熱中、Neogenライシス液はピンク色（低温）から黄色（高温）に変色します。
   8.1 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考えられる可能性がありますので、Neogen分子検出装置自動検出装置内には入れないでください。
9. Neogen分子検出装置ヒートブロックからカバーを外したNeogenライシスチューブラックを取り出し、Neogen分子検出チルブロックインサート内で5分間以上（最大10分間）冷却します。Neogen®分子検出チルブロックトレイを外して室温に戻されたNeogen分子検出チルブロックインサートは、作業台の上に直に置いてください。冷却されると、Neogenライシス液はピンク色に戻ります。
10. Neogen分子検出チルブロックインサートからNeogenライシスチューブラックを取り出します。

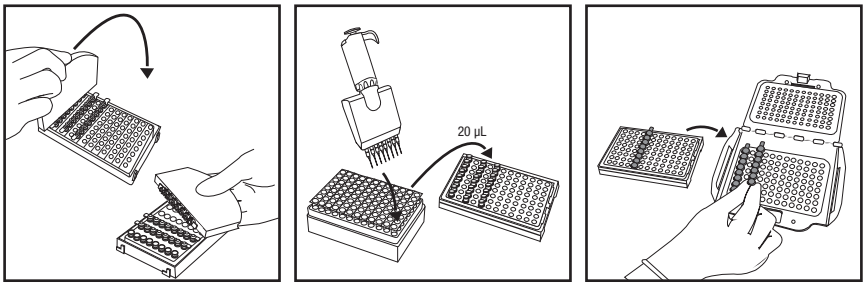


増幅

1. 各検体およびNCにつきNeogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブ1本が必要です。
   1.1 チューブのストリップは、必要な数に合わせてカットできます。各Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブまたは8連チューブのストリップの数を選択してください。
   1.2 チューブを空のラックに置きます。
   1.3 チューブの底の試薬ペレットを撹拌しないでください。
2. Neogen試薬コントロールチューブを1本選択して、ラックに置きます。
3. 交差汚染を回避するため、Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブのキャップは一度に1ストリップずつ外し、滴下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. 下記のように、各溶菌液を、Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブおよびNeogen試薬コントロールチューブに滴下してください。

Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*の各試薬チューブに**まず**各検体溶解物を滴下し、次にNCを滴下します。**最後に**Neogen試薬コントロールチューブを水和します。

5. Neogen®分子検出キャップ／デキャップツール ― 試薬用を使用して、Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブのキャップを一度に1ストリップずつ外します。キャップを廃棄します。
   5.1 **検液20 µLをNeogenライシスチューブの液体の上部1/2（沈澱物は避けてください）から取り、対応するNeogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブに分注します。ペレットが撹拌されないよう、一定の角度で分注します。ピペット操作で5回静かに混合します。**
   5.2 個々の検体ライセートをストリップ内の対応するNeogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブに添加するまで、ステップ5.1を繰り返します。
   5.3 Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブに同梱の予備キャップで蓋をし、Neogen分子検出キャップ／デキャップツール ― 試薬用の丸い側を使用して前後に圧をかけ、キャップがしっかりと締めます。
   5.4 検査する検体数について、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滴下したら、ステップ5.1～5.3を繰り返してNCライシス液20 µLをNeogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬チューブに滴下します。
   5.6 **Neogen試薬コントロールチューブにNC溶菌液20 µLを**滴下します。ペレットが撹拌されないよう、一定の角度で分注します。ピペット操作で5回静かに混合します。
6. 清潔な、殺菌済みNeogen分子検出スピードローダートレイにキャップをしたチューブを装填します。Neogen分子検出スピードローダートレイを閉めて、留めがねをかけます。



7. Neogen測定機器病原菌自動検出システム用ソフトウェアで設定した検査内容を確認します。
8. ソフトウェアのスタートボタンをクリックして、使用する装置を選択します。選択された装置の蓋が自動的に開きます。
9. Neogen分子検出装置自動検出装置内にNeogen分子検出スピードローダートレイを置き、蓋を閉めてアッセイをスタートします。結果は60分ほどで判定されますが、陽性の場合はもっと早く検出されます。
10. アッセイ終了後、Neogen分子検出スピードローダートレイをNeogen分子検出装置自動検出システム用から取り出し、チューブは水で1～5%（v/v）に希釈した家庭用漂白液に1時間浸漬した後、アッセイの準備作業領域から隔離して、廃棄してください。

注記：交差汚染による偽陽性の危険を最小限に抑えるため、増幅DNAの入っ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分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*試薬、Neogen試薬コントロール、Neogenマトリックスコントロールチューブが含まれます。汚染されたチューブは、常に、水で1～5%（v/v）に希釈したの家庭用漂白液に1時間浸漬した後、アッセイの準備作業領域から隔離して、廃棄してください。

結果と解釈

アルゴリズムが核酸増幅の結果より得られた光出力曲線を解釈します。結果はソフトウェアが自動的に解析し、結果に応じて色分けされます。陽性または陰性の結果は、それぞれが持つ固有の曲線パラメータを解析することにより特定されます。結果が陽性と推定される場合はリアルタイムでレポートされますが、陰性およびInspect（検証が必要な結果）の場合は、その検査が完了した後に表示されます。

陽性と推定される検体は、検査室の標準作業手順書、または適切な参照法[1,2]に従って確認する必要があります。まず、前培養したNeogen*カンピロバクター*属菌用増菌ブロスによる一次増菌物を選択的*カンピロバクター*属菌用プレートに移し微好気条件で培養し、適切な生化学的、顕微鏡的、血清学的手法を使用して単離菌を確認してください。増菌ブロスを最適な状態に維持するには、検体採取後、増菌バッグを巻くようにして畳んでください。

注：陰性検体がシステムとして0を返さない場合でも、Neogen分子検出アッセイ2 - *カンピロバクター*増幅試薬は「バックグラウンド」相対発光量（RLU）を持っています。

異常な光出力がみられるなどの稀なケースについては、アルゴリズムがこれを「再検査してください」と表示します。Neogen社はお客様に、「再検査」検体に対して検査を再度行うことを推奨します。その結果が続けて再検査であった場合は、任意の別の方法または行政の規制[1,2]によって指定されたとおりに確認検査を行ってください。

付録A. プロトコルの中断：加熱処理済み溶解物の保管と再検査

1. 加熱処理済み溶解物を保管するには、Neogenライシスチューブに清潔なキャップを嵌めます（「ライシス」セクション、4.5を参照）。
2. 2～8°Cで最大72時間保管します。
3. 保管された検体を2～3回反転させて混合し、増幅用として準備します。
4. チューブのキャップを外します。
5. 混合したライシスチューブをNeogen分子検出ヒートブロックインサートに置き、100 ± 1°Cで5 ± 1分間加熱します。
6. Neogen分子検出ヒートブロックからNeogenライシスチューブラックを取り出し、Neogen分子検出チルブロックインサート内で5分間以上（最大10分間）冷却します。
7. 上記の「**増幅**」セクションに詳述されているプロトコルを継続します。

参考文献：

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Contact your Neogen Food Safety representative to obtain a copy of this document.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

記号の説明

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

发布日期：2024-01

NEOGEN

产品信息

分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*

产品说明及预期用途

Neogen® 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*与 Neogen® 分子检测系统一起使用，用于快速、专门检测增菌后的食品和食品加工环境样品中的*空肠弯曲杆菌*、*红嘴鸥弯曲杆菌*和*大肠弯曲杆菌*。

Neogen 分子检测试剂盒采用环介导等温扩增技术来快速扩增具有高特异性和高敏感性的核酸序列，结合使用生物发光特性来检测扩增反应。将实时报告假定阳性结果，阴性结果则在分析完成后显示。应使用您喜欢的方法或按照当地法规指定的方法确认假定阳性结果[1,2]。

Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*专供受过实验室技术培训的专业人员在实验室环境下使用。对于在食品或饮料以外的行业中使用此产品，Neogen 尚未有资料可证。例如，对于将此产品用于检测制药、化妆品、临床或家畜样品，Neogen 尚未有资料可证。尚未针对所有可能的食品产品、食品加工、检测方案或针对所有可能的细菌类型评估 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*。

正如所有检测方法一样，增菌培养基的来源、配方和质量都可能会影响结果。取样方法、检测方案、样品制备、处理和实验室技术等因素都可能会影响结果。Neogen 建议在用户环境中利用充足数量的样品以及特定的食品和微生物激发试验对包括增菌培养基在内的方法进行评估，确保相应的方法符合用户的标准。

Neogen 已通过 Neogen® *弯曲杆菌*增菌肉汤和无血 Bolton 增菌肉汤对 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*进行了评估。

Neogen® 分子检测仪器专用于在分析裂解步骤中经过热处理的样品，该步骤旨在破坏样品中存在的微生物。未在分析裂解步骤中经过适当热处理的样品可能会被视为具有潜在生物危害性，不应将其插入 Neogen 分子检测仪器。

Neogen Food Safety 产品的设计和生产已经获得 ISO（国际标准化组织）9001 认证。

Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*检测试剂盒包含 96 个检测反应管，如表 1 所述。

表 1. Neogen 分子检测试剂盒构成

项目	标识	数量	内容物	备注
Neogen® 裂解溶液 (LS)	透明管，粉红溶液	96（12 排，每排 8 管）	每管 580 µL LS	已上架，即开即用
Neogen® 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管	紫色管	96（3 袋；4 排，每排 8 管）	特定扩增和检测试剂的冻干样	即开即用
额外的盖	紫色盖	96（12 排，每排 8 个盖）		即开即用
Neogen® 试剂对照 (RC)	透明翻盖管	16（2 袋，每袋 8 管）	DNA、扩增和检测试剂的冻干对照品	即开即用

阴性对照 (NC) 采用的是无菌增菌培养基（如 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤），未在检测试剂盒中提供。请勿将水用作 NC。

如需获取快速入门指南，请访问 www.neogen.com

安全

用户应该阅读、理解并遵守 Neogen 分子检测系统和 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*说明中的所有安全信息。妥善保存安全说明书，以备日后查阅。

⚠ **警告：** 表示危险情况，如果不注意避免，可能造成死亡或严重的人身伤害和/或财产损失。

注意： 表示潜在的危险情况，如果不注意避免，可能导致财产损失。

⚠ 警告

请勿在人类或动物的各种诊断中使用 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*。

用户必须就当前适用的检测技术对其人员进行培训，例如：优良实验室规范[3]、ISO/IEC 17025[4] 或 ISO 7218[5]。

为了降低与假阴性结果相关的风险，避免释放出受污染产品，请注意以下事项：

- 遵守操作流程并按照产品信息中提供的方法执行检测。
- 请按照包装和产品信息中的指示储存 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*。
- 始终在过期日期之前使用 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*。
- 按照产品信息准备 Neogen® *弯曲杆菌*增菌肉汤。
- 切勿对 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤进行高压灭菌。
- 将 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*用于经内部或第三方验证的食品和环境样品。

- 仅将 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*用于经内部或第三方验证的表面、消毒剂、方案和菌株。
- 对于含有中和缓冲液和芳基磺酸酯复合物的的环境样品，应在检测前按 1:2 的比例进行稀释（1 份样品对 1 份无菌增菌肉汤）。另一种选择是将 10 µL 的中和缓冲培养液转移至 Neogen 裂解溶液管内。含有中和缓冲液和芳基磺酸酯复合物的 Neogen® 采样产品包括：RS96010NB、RS9604NB、SSL10NB、SSL10NB2G、HS10NB、HS10NB2G 和 HS2410NB2G。

为了降低与化学品和生物危害暴露相关的风险，请注意以下事项：

- 在训练有素的工作人员的控制下，于妥善配备的实验室中执行致病菌检测。增菌培养基以及接触过增菌培养基的设备或表面可能含有致病菌，足以对人体健康造成风险。
- 始终遵守标准实验室安全规范，包括在处理试剂和受污染样品时穿戴适当的防护服和护眼装置。
- 避免接触增菌培养基和扩增后试剂反应管的内容物。
- 根据当地/地区/国家/法规标准的现行要求对经过增菌的样品进行废弃处理。
- 未在分析裂解步骤中经过适当热处理的样品可能会被视为具有潜在生物危害性，不应将其插入 Neogen 分子检测仪器。

为了在准备分析时降低与交叉污染相关的风险，请注意以下事项：

- 始终戴手套（保护用户和防止引入核酸酶）。

为了降低与高温液体暴露相关的风险，请注意以下事项：

- 不要超出建议的加热器温度设置。
- 不要超出建议的加热时间。
- 使用正确的经过校准的温度计检验 Neogen® 分子检测加热模块的温度（例如，局浸温度计或热电偶数字温度计，而非全浸温度计）。温度计必须放置于 Neogen 分子检测加热模块中的指定位置。

注意

为了在准备分析时降低与交叉污染相关的风险，请注意以下事项：

- 在进行试剂小球水化之前更换手套。
- 建议使用无菌的、带气溶胶屏障（带滤芯）的分子生物级移液管吸头。
- 每次转移样品时使用新的吸头。
- 将样品从培养基转移至裂解管时遵循实验室良好操作规范。为了避免移液管污染，用户可以选择增加一个中间转移步骤。例如，用户可以将每个经过增菌的样品转移至无菌管中。
- 使用配有杀菌灯的分子生物工作站（如可行）。
- 使用 1-5%（与水的体积比）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（移液管、开盖器等）。

为了降低与假阳性结果相关的风险，请注意以下事项：

- 请勿在扩增后打开试剂反应管。
- 处理受污染的试管时，应先将其放在浓度为 1-5%（与水的体积比）的家用漂白溶液中浸泡 1 个小时，且始终远离分析准备区。
- 请勿在扩增后对试剂反应管进行高压灭菌。

请参考“安全数据表”了解其它信息和当地的弃置法规。

如果您对于特定的应用或程序存有疑问，请访问我们的网站 www.neogen.com，也可与您当地的 Neogen 代表或经销商联系以获得帮助。

用户责任

用户有责任熟悉产品信息和说明。请访问我们的网站 **www.neogen.com** 或联系您当地的 Neogen 代表或经销商，以了解更多信息。

选择检测方法时，务必认识到各种外部因素（如取样方法、检测方案、样品制备、处理、实验室技术和样品本身）都可能会影响结果。

用户在选择检测方法或产品时，应自行负责选用合适的基质和微生物激发试验对足够多的样品进行评估，以确保所选择的检测方法达到用户的标准。

检测方法及结果能否满足客户及供应商的要求也由用户负责。

同所有检测方法一样，使用任何 Neogen Food Safety 产品所得到的结果并不能保证受检基质或程序的质量。

为帮助客户评估各种食品基质方法，Neogen 开发了 Neogen® 分子检测基质对照试剂盒。需要时，可以使用 Neogen 分子检测基质对照 (MC) 来确定基质是否会影响 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*的结果。在采用 Neogen 方法或在检测新的或未知基质或者原材料或工艺发生变更的基质的任何验证期间，对若干典型的基质样品进行检测，即通过不同来源获取的样品。

基质可定义为一种具备内源特性的产品（如化学成分或工艺）。基质间的差异是因加工或外观的不同而导致的差异，例如原样和经过巴氏消毒处理之间的差异以及新鲜和干燥之间的差异。

有限保证/有限补救措施

除非各个产品包装的有限保证部分明确声明，否则，NEOGEN 将不提供任何明示或默示保证，包括但不限于适销性或特定用途适用性保证。如果证明任何 Neogen Food Safety 产品存在缺陷，Neogen 或其授权经销商可以自行决定是提供换货，还是对产品进行退款。这是向您提供的唯一补救方案。您必须在发现产品存在任何可疑缺陷的 60 天内立即通知 Neogen，并将该产品退还给 Neogen。如有任何疑问，请联系 Neogen 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、间接、特殊、偶然或非直接原因造成的损害，NEOGEN 概不承担任何责任，包括但不限于利润损失。根据法律理论，Neogen 对所谓存在缺陷的产品的赔付不会超过产品的购买价格。

储存和弃置

在 2-8°C (35-47°F) 温度下储存 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*。请勿冰冻。避光储存试剂盒。打开试剂盒后，应检查铝箔袋是否破损。如果铝箔袋破损，请勿使用。打开之后，未使用的试剂反应管应始终储存在内部带有干燥剂的可重新密封铝箔袋中，以保持冻干试剂的稳定性。将重新密封的铝箔袋储存在 2-8°C (35-47°F) 温度下，但储存时间不能超过 90 天。

请勿使用过期的 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*。过期日期和批号注明在包装箱外侧的标签上。使用之后，增菌培养基和 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*管可能含有致病物质。完成检测后，应遵照当前的行业标准弃置受污染的废弃物。请参考“安全数据表”了解其它信息和当地的弃置法规。

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%（与水的体积比）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（移液管、开盖器等）。

用户应当遵照“针对 Neogen 分子检测系统的安装合格 (IQ)/操作合格 (OQ) 方案和说明”文档[6]中的规定接受 Neogen 分子检测系统操作员资格验证 (OQ) 培训。

培养基制备

按照产品信息制备 Neogen® *弯曲杆菌*增菌肉汤 (CE250)。**使用前请勿对培养基进行高压灭菌。**在制备后的 24 小时内使用制备的培养基。如果制备后不会立即使用，应将制备的肉汤储存在 2-8°C[7] 的环境下，并遮盖避光存放。使用前确保培养基的温度为 20-30°C。

样品采集

Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤不应用于禽类冲洗或运输培养基。按照既定样品采集程序采集和运输样品。

样品培养

表 2 提供了针对食品和环境样品的一般培养方案指导。

用户有责任验证备用取样方案或者稀释率，以确保本检测方法符合用户的标准。

样品制备

a. 胴体冲洗和生禽部分冲洗

1. 使用 400 mL 的缓冲蛋白胨水 (BPW) 冲洗一个去内脏的生禽胴体一分钟。如果要冲洗生禽部分，使用 400 mL 的 BPW 冲洗 1.8 到 2 Kg（4 磅 ± 10%）的禽类部分[1,8]。
2. 对于胴体和生禽部分，在冲洗样品之前应让多余液体滴落，以免将过量处理液体转移到样品袋中[8]。
3. 对于已经使用氯化十六烷基吡啶 (CPC) 处理的家禽肉，必须在制备的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤中添加 5 mL/L 的聚山梨醇酯 80（IUPAC：聚甲醛 (20) 无水山梨醇单油酸酯；CAS 9005-65-6）。聚山梨醇酯 80 可以在灭菌前添加到水中以促进溶解，或者可以在制备 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤之前直接添加到无菌水中。
4. 在无菌条件下将 30 mL 冲洗液转移到无菌袋中并添加 30 mL 的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤。

b. 胴体海绵

1. 应该在采样前使用最多 25 mL 的 BPW 对海绵进行水化[1]。如果样品需要运输，要确保袋子下滚并在 2-8°C 温度下存放。
2. 用涂抹棒涂抹家禽胴体或用海绵采集样品。
3. 将涂抹棒放入无菌袋并添加 25 mL 的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤。确保涂抹棒或海绵被增菌培养基覆盖。

c. 生禽产品

1. 在无菌条件下称量 325 ± 32.5 g 样品放入无菌袋中。将 1625 ± 32.5 mL BPW 添加到生禽产品中。如要使结块分散，请用手轻轻揉按使其充分混合。
2. 混合后，将 30 mL 生禽产品混合物添加到无菌袋中，然后添加 30 mL Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤并充分混合。

d. 生肉和即食肉

1. 在无菌条件下称量 25 g 样品放入无菌袋中。建议使用过滤袋帮助采样。
2. 添加 225 mL 的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤。

3. 用手揉按以揉碎小块，混合时避免产生气泡。不要通过均质操作或拌合来处理无菌袋。

e. 主要生产采样靴

1. 按照既定样品采集程序使用采样靴或袜子采集样品。
2. 将一只袜子放入无菌袋并添加 100 mL 的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤。

f. 拖式涂抹棒

1. 按照既定样品采集程序使用预先蘸液的涂抹棒采集样品。
2. 将涂抹棒放入无菌袋并添加 100 mL 的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤。

增菌培养

1. 下滚袋子以最大程度减少顶空，避免增菌接触空气。轻轻揉按袋子大约 10 ± 2 秒。**不要通过均质操作或拌合来处理无菌袋，混合时应避免产生气泡。**
2. 在 41.5 ± 1°C 有氧条件下对袋子进行培养，请参考表 2 了解适当培养时间。

警告：如果您选择使用含芳基磺酸酯复合物的中和缓冲液作为海绵的水化溶液，则必须在检测之前按 1:2 的比例（1 份样品对 1 份无菌增菌肉汤）稀释增菌的环境样品，以降低导致受污染产品释放的假阴性结果的相关风险。另一种选择是将 10 µL 的中和缓冲培养液转移至 Neogen 裂解溶液管内。

用户有责任验证备用取样方案或者稀释率，以确保本检测方法符合用户的标准。

表 2. 通用培养方案。

样品基质	样品大小	Neogen *弯曲杆菌* 增菌肉汤 (mL)[b]	培养温度 (± 1°C)	培养时间 (小时)	样品分析量 (µL)[c]
• 胴体冲洗[a] • 禽类部分冲洗[a]	BPW 中 30 mL 清洗液	30	41.5	22-26	20
• 胴体海绵[a]	1 块预先蘸有最多 25 mL BPW 的海绵	25	41.5	22-26	20
• 生肉 • 即食肉	25 g	225	41.5	24-28	20
• 来自主要生产的采样靴	1 个采样靴	100	41.5	22-26	20
• 来自主要生产的拖式涂抹棒	1 个预先蘸液的装置	100	41.5	22-26	20

(a) 如果禽类已使用氯化十六烷基吡啶 (CPC) 进行了处理，则必须在制备的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤中添加 5 mL/L 的聚山梨醇酯 80（IUPAC：聚甲醛 (20) 无水山梨醇单油酸酯 CAS 9005-65-6）。聚山梨醇酯 80 可以在灭菌前添加到水中，或者可以在制备 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤之前添加到无菌水中。

(b) Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤应在制备后的 24 小时内使用。培养基在使用前应处于室温 (25-30°C)。

(c) 在采集增菌样品进行分析之前，轻轻揉按袋子底部。**采集样品后，下滚袋子以防止培养液暴露于空气中。**重新执行测试或确认步骤可能还需要更多样品。

验证方法具体说明

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) 证书 #111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

AOAC 研究所 PTM℠ 研究结果显示，Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*是可以用于检测 *弯曲杆菌*的一种有效的方法。研究中检测的基质显示在表 3 中。

表 3. 增菌方案符合 AOAC PTM℠ 证书 #111803。

样品基质	样品大小	Neogen *弯曲杆菌* 增菌肉汤 (mL)[c]	培养温度 (± 1°C)	培养时间 (小时)	样品分析量 (µL)[d]
在 400 mL BPW 中冲洗的整个胴体[a] [b]	BPW 中 30 mL 清洗液	30	41.5	22-26	20
在 400 mL BPW 中清洗的禽类部分 (1.8 到 2 Kg) [a] [b]	BPW 中 30 mL 清洗液	30	41.5	22-26	20
火鸡胴体海绵[a] [b]	1 块预先蘸有最多 25 mL BPW 的海绵	25	41.5	24-26	20
在 1625 ± 32.5 mL BPW 中冲洗的地面生禽 (325 ± 32.5 g)[b]	BPW 中 30 mL 产品混合物	30	41.5	24-28	20
鸡块	25 g	225	41.5	24-28	20

(a) 如果禽类已使用氯化十六烷基吡啶 (CPC) 进行了处理，则必须在制备的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤中添加 5 mL/L 的聚山梨醇酯 80（IUPAC：聚甲醛 (20) 无水山梨醇单油酸酯 CAS 9005-65-6）。聚山梨醇酯 80 可以在灭菌前添加到水中，或者可以在制备 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤之前添加到无菌水中。

(b) 或者，也可在微氧条件下，使用 30 mL 2X 无血 Bolton 增菌肉汤 (BF-BEB) 以 42 ± 1.0°C 的温度培养该基质 48 ± 2 小时。将 20 µL 样品转移到 Neogen 裂解溶液中。

(c) Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤应在制备后的 24 小时内使用。培养基在使用前应处于室温 (25-30°C)。

(d) 在采集增菌样品进行分析之前，轻轻揉按袋子底部。**采集样品后，下滚袋子以防止培养液暴露于空气中。**重新执行测试或确认步骤可能还需要更多样品。

Neogen® 分子检测快速转移托盘的准备工作

1. 将一块干布或一次性纸巾用 1-5%（与水的体积比）家用漂白溶液浸湿，用来擦拭 Neogen 分子检测快速转移托盘。
2. 用清水清洗 Neogen 分子检测快速转移托盘。
3. 使用一次性纸巾擦干 Neogen 分子检测快速转移托盘。
4. 使用前确保 Neogen 分子检测快速转移托盘保持干燥。

Neogen® 分子检测冷却架的准备工作

将 Neogen 分子检测冷却架直接置于实验室工作台上：无需使用 Neogen 分子检测冷却模块托盘。在实验室环境温度 (20-25°C) 下使用模块。

Neogen® 分子检测加热模块的准备工作

将 Neogen 分子检测加热模块放入双干燥块加热器中。开启干燥模块加热装置并设定温度，使 Neogen 分子检测加热模块达到并保持 100 ± 1°C。

注释：根据不同的加热器，允许 Neogen 分子检测加热模块在大约 30 分钟后达到工作温度。使用放在指定位置的、正确的、经过校准的温度计（如局浸温度计或热电偶数字温度计，而非全浸温度计）检验 Neogen 分子检测加热模块的温度是否达到 100 ± 1°C。

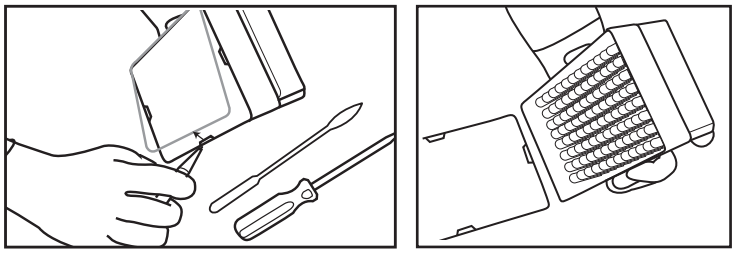
Neogen® 分子检测仪器的准备工作

1. 启动 Neogen® 分子检测软件并登录。请联系您的 Neogen Food Safety 代表，确保您使用的是最新版的软件。
2. 打开 Neogen 分子检测仪器。
3. 利用每个样品的数据为其创建或编辑一次运行检测。请参考“Neogen 分子检测系统用户手册”了解详细信息。

注释：插入带反应管的 Neogen 分子检测快速转移托盘前，Neogen 分子检测仪器必须处于就绪状态。此加热步骤大概需要 20 分钟，由仪器状态栏中的一个橙色灯进行指示。当仪器准备好启动检测时，状态栏将变为绿色。

裂解

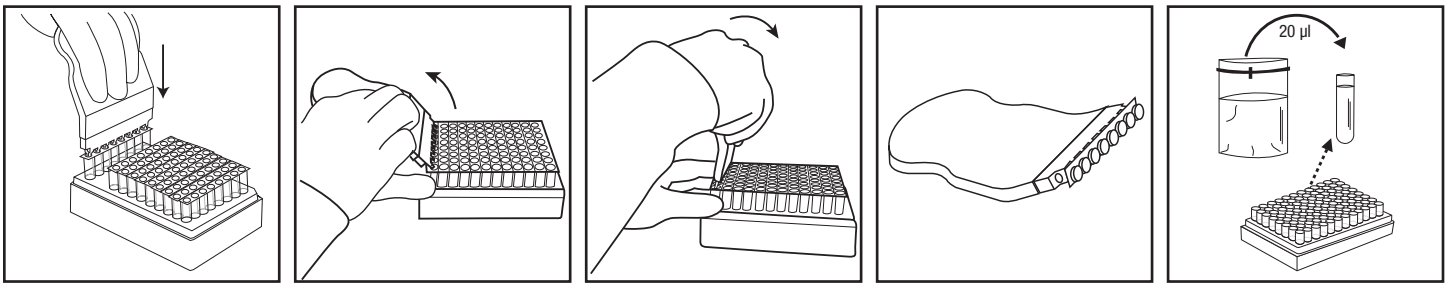
请用螺丝刀移除 Neogen 裂解溶液管架的底部，然后再将其置于 Neogen 分子检测加热模块中。



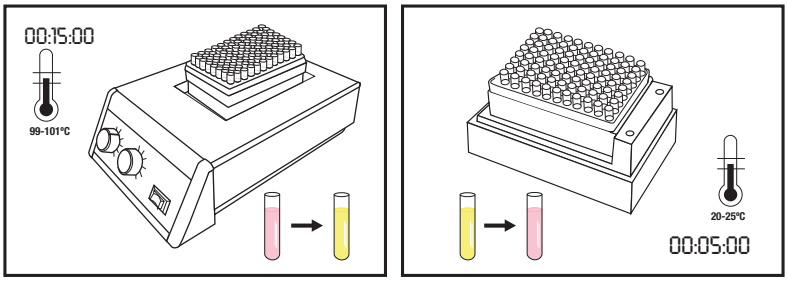
1. 将管架置于室温 (20-25°C) 环境下一整夜（16-18 小时），让 Neogen 裂解溶液管预热。使 Neogen 裂解溶液管平衡到室温的另一种方法是将 Neogen 裂解溶液管放在实验室工作台上至少 2 小时、在 37 ± 1°C 培养设备中培养 Neogen 裂解溶液管 1 小时，或将其置于双干燥块加热器中在 100°C 下持续加热 30 秒。
2. 倒置封盖的裂解溶液管，使其混合均匀。在倒置后 4 小时内继续执行下一步。
3. **从培养设备中取出增菌样品。**
   3.1.1 将样品转移到 Neogen 裂解溶液管之前，轻轻揉按增菌袋的底部。
   3.1.2 重新执行测试或确认步骤可能还需要更多样品。采集样品后，下滚袋子以最大程度减少顶空，避免增菌接触空气。如果需要确认假定结果，在获得假定结果之后应立即继续执行确认步骤。
4. 每个样品和每个 NC 样品（无菌增菌培养基）都需要一支 Neogen 裂解溶液管。
   4.1 可以根据所需的试管数，对 Neogen 裂解溶液联排管进行切割。选择所需数量的试管或 8 联排管。将 Neogen 裂解溶液管放入空管架中。
   4.2 为了避免交叉污染，请一次仅打开一排 Neogen 裂解溶液管的管盖，并且每次转移溶液时使用新的移液管吸头。
   4.3 按如下所述将经过增菌的样品转移到 Neogen 裂解溶液管：

首先将每个经过增菌的样品转移到单个 Neogen 裂解溶液管中。**最后**转移 NC。

   4.4 使用 Neogen® 分子检测开盖器 - Lysis 打开 Neogen 裂解溶液联排管的管盖，一次仅打开一排。
   4.5 丢弃 Neogen 裂解溶液管的管盖 – 如果要保留裂解液以重新检测，请将管盖放入干净的容器中，以备裂解后重新使用。
   4.5.1 如需处理保留的裂解液，请参阅附录 A。
   4.6 将 20 µL 样品转移到 Neogen 裂解溶液管内。
5. 根据需要对待检测的样品重复步骤 4.4 到 4.6。



6. 当转移完所有样品后，将 20 µL 的 NC（无菌增菌培养基，如 BPW）转移到一支 Neogen 裂解溶液管中。请勿将水用作 NC。
7. 检验 Neogen 分子检测加热模块的温度是否达到了 100 ± 1°C。
8. 将未加盖的 Neogen 裂解溶液管架放入 Neogen 分子检测加热模块中加热 15 ± 1 分钟。加热期间，Neogen 裂解溶液将从粉红色（冷）变为黄色（热）。
   8.1 未在分析裂解步骤中经过适当热处理的样品可能会被视为具有潜在生物危害性，不应将其插入 Neogen 分子检测仪器。
9. 从 Neogen 分子检测加热模块中取出未加盖的 Neogen 裂解溶液管架，将其放入 Neogen 分子检测冷却架中冷却至少 5 分钟，最长 10 分钟。如果 Neogen 分子检测冷却架在环境温度下不与 Neogen® 分子检测冷却模块托盘配套使用，则应将其直接置于实验室工作台上。冷却后，Neogen 裂解溶液将恢复为粉红色。
10. 从 Neogen 分子检测冷却架上移除 Neogen 裂解溶液管架。

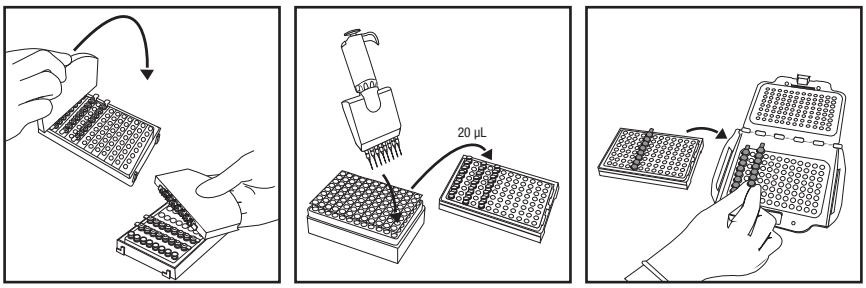


扩增

1. 每个样品和每个 NC 都需要一支 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管。
   1.1 根据所需的试管数，对联排管进行切割。选择所需数量的单个 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管或 8 联排管。
   1.2 将管放入空管架中。
   1.3 请勿将试剂小球搅离管底。
2. 选择一支 Neogen 试剂对照管并放入管架。
3. 为了避免交叉污染，请一次仅打开一排 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管的管盖，并且每次转移溶液时使用新的移液管吸头。
4. 按如下所述将相应的裂解液分别转移到 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管和 Neogen 试剂对照管：

首先将各个样品裂解液转移到单个 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管，然后再转移 NC。**最后**对 Neogen 试剂对照管进行水化。

5. 使用 Neogen® 分子检测开盖器 - Reagent 打开 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管的管盖，一次仅打开一排。丢弃管盖。
   5.1 **将 Neogen 裂解溶液管液体上部 ½ 层的 20 µL 样品裂解液（避免沉淀）转移到对应的 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管。成角度注入，以避免搅动小球。轻轻地上下吸动 5 次，以充分混合。**
   5.2 重复步骤 5.1，直到将所有样品裂解液添加到联排管对应的 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管为止。
   5.3 使用附加盖盖住 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管并使用 Neogen 分子检测开盖器 - Reagent 较圆的一侧以前后移动的方式加压，以确保将盖子盖紧。
   5.4 根据需要对待检测的样品重复步骤 5.1 到 5.3。
   5.5 当转移完所有样品裂解液后，重复步骤 5.1 到 5.3 以将 20 µL NC 裂解液转移到 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂反应管。
   5.6 将 **20 µL NC 裂解液转移至 Neogen 试剂对照管**。成角度注入，以避免搅动小球。轻轻地上下吸动 5 次，以充分混合。
6. 将加盖的试管放入干净且经过净化处理的 Neogen 分子检测快速转移托盘中。合上并锁定 Neogen 分子检测快速转移托盘盖。



7. 在 Neogen 分子检测软件中查看和确认配置的检测。
8. 在软件中单击“启动”按钮并选择要使用的仪器。所选仪器的盖会自动打开。
9. 将 Neogen 分子检测快速转移托盘放入 Neogen 分子检测仪器并合上盖子，以启动分析。结果将在 60 分钟内提供，但阳性结果可以更快检测到。
10. 分析完成后，从 Neogen 分子检测仪器中取出 Neogen 分子检测快速转移托盘，通过将试管浸入 1-5%（与水的体积比）家用漂白溶液 1 小时并使其远离分析准备区，对试管进行废弃处理。

注意：为了将因为交叉污染而导致的假阳性结果风险降至最低，请勿打开包含扩增的 DNA 的反应管。这包括 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*试剂、Neogen 试剂对照和 Neogen 基质对照管。对密封的试剂反应管进行废弃处理时，应始终将其放入浓度为 1 - 5%（与水的体积比）的家用漂白溶液中浸泡 1 小时，并确保其远离分析准备区。

结果和说明

软件会使用一种算法对来自核酸扩增检测的光输出曲线进行解读。软件会自动分析结果并根据不同结果用不同颜色进行标记。通过分析一系列独一无二的曲线参数可以确定阳性结果或阴性结果。将实时报告假定阳性结果，阴性结果和检查结果则在检测完成后显示。

假定阳性样品应当遵循实验室标准操作规程或正确的参考方法进行确认[1,2]，应首先将初步的 Neogen *弯曲杆菌*增菌肉汤培养液转移至选择性 *弯曲杆菌*微孔板进行微量需氧培养，然后利用正确的生化、微观和血清方法对分离菌进行确认。为了更好地维护培养液，采集样品后应下滚增菌袋。

注释：因为系统和 Neogen 分子检测试剂盒 2 - *弯曲杆菌*扩增试剂带有“背景”相对光单位 (RLU) 读数，即使阴性样品也不会出现读数为零的情况。

在极少数情况下，当存在异常光输出时，算法会显示“检查”标记。Neogen 建议用户对所有“检查”样品重新进行分析。如果结果仍为“检查”，请使用您喜欢的方法或按照当地法规指定的方法进行确认试验[1,2]。

附录 A. 方案中断：储存并重新检测热处理后的裂解液

1. 如需储存热处理后的裂解液，应使用干净的盖子为 Neogen 裂解溶液管重新封盖（请参阅 4.5“裂解”部分）
2. 在 2 - 8°C 温度下最多储存 72 小时。
3. 取出储存的样品以准备用于扩增，将其倒置 2-3 次进行混合。
4. 打开管盖。
5. 将混合后的裂解液管置于 Neogen 分子检测加热模块中并在 100 ± 1°C 温度下加热 5 ± 1 分钟。
6. 从 Neogen 分子检测加热模块中取出 Neogen 裂解溶液管架，将其放入 Neogen 分子检测冷却架中冷却最短 5 分钟，最长 10 分钟。
7. 继续执行上文详述的“**扩增**”部分的方案。

参考资料：

1. 微生物实验室指南。美国农业部 (USDA) 食品安全检验局 (FSIS) 微生物实验室指南 41.04。禽类冲洗、海绵和未加工产品样品中*空肠/大肠/红嘴鸥弯曲杆菌*的分离与鉴定。2016 年 8 月 1 日。
2. ISO 10272-1。食物链微生物 – *弯曲杆菌属*检测和计数的水平方法第 1 部分。检测方法。
3. 美国食品药品监督管理局。美国《联邦规章典集》(Code of Federal Regulations) 第 21 篇，第 58 部分。非临床实验室良好研究规范。
4. ISO/IEC 17025。用于检验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 - 微生物检验用一般规则。
6. 针对 Neogen 分子检测系统的 Neogen 安装合格 (IQ)/操作合格 (OQ) 方案和说明。请联系您的 Neogen Food Safety 代表，以获取本文档的副本。
7. ISO 11133。食物、动物饲料和水微生物 - 培养基的准备、生产、储存和性能测试。
8. 美国农业部 (USDA)。食品安全检验局 (FSIS) 指令 10，250.1.生肉和禽类产品*沙门氏菌*和*弯曲杆菌*鉴定计划。2013 年 9 月 20 日。

符号说明

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

คำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์

ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์*

รายละเอียดผลิตภัณฑ์และวัตถุประสงค์การใช้งาน

Neogen® ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* จะนำมาใช้กับระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen® สำหรับการตรวจหาเชื้อต่อไปนี้อย่างรวดเร็วและเฉพาะเจาะจง *แคมไพโลแบคเตอร์ เจจูไน, แคมไพโลแบคเตอร์ ลาไร* และ *แคมไพโลแบคเตอร์ โคไล* ในตัวอย่างอาหารที่ได้รับการเลี้ยงเชื้อและในตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมกระบวนการแปรรูปอาหาร

ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ใช้การเพิ่มขยายยีนแบบลูปที่อุณหภูมิเดียว (Loop-mediated isothermal amplification) เพื่อเพิ่มขยายกรดนิวคลีอิกด้วยวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงและความไวสูงผสานกับการเรืองแสงทางชีวภาพเพื่อตรวจจับการเพิ่มขยายจำนวน ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกจะได้รับการรายงานในทันที ขณะที่ผลการทดสอบที่เป็นลบจะแสดงผลภายหลังจากที่การทดสอบดังกล่าวเสร็จสมบูรณ์แล้ว ผลที่สันนิษฐานว่าเป็นบวกควรได้รับการยืนยันโดยใช้วิธีที่ท่านเห็นสมควรหรือตามที่ระบุไว้ในระเบียบข้อบังคับระดับท้องถิ่น [1,2]

Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ออกแบบมาให้ใช้ในสภาพแวดล้อมห้องปฏิบัติการโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการอบรมเทคนิคการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ Neogen ยังไม่ได้จัดทำเอกสารเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์นี้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ นอกจากอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่ม ตัวอย่างเช่น Neogen ยังไม่ได้ออกเอกสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นี้สำหรับการทดสอบตัวอย่างยา ตัวอย่างเครื่องสำอาง ตัวอย่างทางคลินิก หรือตัวอย่างเกี่ยวกับสัตว์ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ยังไม่ได้รับการประเมินกับผลิตภัณฑ์อาหาร การแปรรูปอาหาร ระเบียบการทดสอบที่เป็นไปได้ทั้งหมดหรือกับสายพันธุ์แบคทีเรียที่เป็นไปได้ทั้งหมด

เช่นเดียวกับวิธีทดสอบทั่วๆไป แหล่งที่มา สูตร และคุณภาพของอาหารสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อสามารถส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบที่ได้ นอกจากนี้ ปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีการสุ่มเก็บตัวอย่าง วิธีการทดสอบ การเตรียมตัวอย่าง การจัดการและเทคนิคที่ใช้ในห้องปฏิบัติการอาจส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบที่ได้ด้วยเช่นกัน Neogen ขอแนะนำให้ประเมินวิธีการทดสอบรวมทั้งอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อในสภาพแวดล้อมของผู้ใช้โดยใช้จำนวนตัวอย่างที่เพียงพอกับอาหารแต่ละชนิดและสภาวะที่มีความท้าทายกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการดังกล่าวเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้

Neogen ประเมิน Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ด้วย Neogen® *แคมไพโลแบคเตอร์*อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อชนิดเหลวและอาหารเลี้ยงเชื้อ Bolton ชนิดเหลวแบบไม่ใช้เลือด

เครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen® มีจุดมุ่งหมายในการใช้กับตัวอย่างที่ได้ผ่านกระบวนการให้ความร้อนในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของการทดสอบซึ่งได้รับการออกแบบมาเพื่อทำลายเชื้อที่มีในตัวอย่าง ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของชุดทดสอบอาจถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen

Neogen Food Safety ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO (องค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน) 9001 ด้านการออกแบบและการผลิต

Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* มีทั้งหมด 96 หลอดทดสอบตามที่อธิบายไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen

รายการ	การคัดแยก	จำนวน	สิ่งที่บรรจุภายใน	ความคิดเห็น
หลอดสารละลายไลซีส Neogen® (LS)	สารละลายสีชมพูในหลอดใส	96 หลอด (12 แถว แถวละ 8 หลอด)	ปริมาตร LS 580 ไมโครลิตรต่อหลอด	บรรจุอยู่ในที่วางและพร้อมใช้งาน
หลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบ Neogen® ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์*	หลอดสีม่วง	96 หลอด (3 ถุง มี 4 แถว แถวละ 8 หลอด)	ส่วนผสมสำหรับการเพิ่มขยายและการตรวจหาเชื้อโรคแบบเฉพาะเจาะจงที่ทำไลโอฟิไลซ์แล้ว	พร้อมใช้งาน
ฝาสำรอง	ฝาสีม่วง	96 ฝา (12 แถว แถวละ 8 ฝา)		พร้อมใช้งาน
Neogen® รีเอเจนต์คอนโทรล (RC)	หลอดใสชนิดเปิดฝาด้านบน	16 หลอด (2 ถุง ถุงละ 8 หลอด)	ส่วนผสมที่ทำไลโอฟิไลซ์สำหรับควบคุม DNA การเพิ่มขยายและการตรวจหา	พร้อมใช้งาน

ชุดควบคุมผลลบ (NC) ซึ่งไม่มีให้มาพร้อมชุดทดสอบเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ เช่น Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ *แคมไพโลแบคเตอร์* ห้ามใช้น้ำเป็น NC

โปรดดูคู่มือฉบับย่อที่ www.neogen.com

ความปลอดภัย

ผู้ใช้ควรอ่าน ทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามข้อมูลความปลอดภัยทั้งหมดในคำแนะนำการใช้งานระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen และ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* เก็บคำแนะนำด้านความปลอดภัยนี้ไว้สำหรับใช้อ้างอิงในอนาคต

⚠ **คำเตือน:** บ่งชี้ว่าเป็นสถานการณ์ที่เป็นอันตราย ซึ่งหากไม่มีการหลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดการเสียชีวิตหรือการบาดเจ็บรุนแรงและ/หรือความเสียหายต่อทรัพย์สินได้

ข้อสังเกต: ระบุสถานการณ์ที่อาจเป็นอันตราย หากไม่หลีกเลี่ยง อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพย์สิน

⚠ คำเตือน

ห้ามใช้ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์*ในการวินิจฉัยโรคในมนุษย์หรือสัตว์

ผู้ใช้งานต้องฝึกอบรมบุคลากรเกี่ยวกับเทคนิคการทดสอบที่ถูกต้องเหมาะสมในปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น หลักปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการที่ดี[3], ISO/IEC 17025[4] หรือ ISO 7218[5]

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับผลลบปลอมซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนไปขาย ให้ปฏิบัติดังนี้:

- ปฏิบัติตามระเบียบการและดำเนินการทดสอบดังที่ระบุไว้อย่างชัดเจนในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- เก็บ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ตามที่ระบุไว้บนบรรจุภัณฑ์และในคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ใช้ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ก่อนวันหมดอายุเสมอ
- เตรียม Neogen® อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* ตามคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์
- ห้ามนึ่งฆ่าเชื้อ Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*
- ใช้ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* กับตัวอย่างในสิ่งแวดล้อมและตัวอย่างอาหารที่ผ่านการตรวจสอบภายในหรือโดยบุคคลที่สามแล้วเท่านั้น
- ใช้ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* เฉพาะกับพื้นผิว สารฆ่าเชื้อ วิธีการและสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผ่านการตรวจสอบภายในหรือโดยบุคคลที่สามแล้วเท่านั้น
- สำหรับตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมที่มีบัฟเฟอร์สำหรับทำให้เป็นกลางโดยมีสารประกอบเชิงซ้อนของเอริลซัลโฟเนตอยู่ด้วย ให้ทำการเจือจางด้วยอัตราส่วน 1:2 ก่อนที่จะทดสอบ (เติมตัวอย่าง 1 ส่วนลงในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ส่วน) อีกหนึ่งตัวเลือกคือ ถ่ายบัฟเฟอร์ที่เป็นกลางที่มีการเพิ่มเชื้อปริมาณ 10 ไมโครลิตรเข้าไปยังหลอดสารละลายไลซีส Neogen ผลิตภัณฑ์ควบคุมตัวอย่างของ Neogen® ซึ่งประกอบด้วยบัฟเฟอร์สำหรับทำให้เป็นกลางโดยมีสารเชิงซ้อนของเอริลซัลโฟเนตมีดังนี้: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G และ HS2410NB2G

เพื่อลดความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการสัมผัสสารเคมีหรือสารอันตรายทางชีวภาพ ให้ปฏิบัติดังนี้:

- ให้ทำการทดสอบเชื้อก่อโรคในห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์อย่างเหมาะสมภายใต้การควบคุมของบุคลากรที่ได้รับการอบรม อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อที่บ่มแล้ว หรือพื้นผิวที่มีการสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อหลังเพิ่มจำนวนเชื้อที่บ่มแล้ว อาจจะมีเชื้อโรคในระดับเพียงพอที่จะก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของมนุษย์ได้
- ปฏิบัติตามแนวปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการมาตรฐานทุกครั้งโดยรวมถึงการสวมเครื่องแต่งกายเพื่อป้องกันและอุปกรณ์ปกป้องดวงตาในขณะที่ปฏิบัติงานกับรีเอเจนต์และตัวอย่างที่มีการปนเปื้อน
- หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับอาหารหลังบ่มเพิ่มจำนวนเชื้อและหลอดบรรจุรีเอเจนต์ภายหลังการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ
- กำจัดตัวอย่างหลังเพิ่มจำนวนเชื้อตามมาตรฐานระดับท้องถิ่น/ภูมิภาค/ประเทศ/ข้อบังคับในปัจจุบัน
- ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของชุดทดสอบอาจถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพและไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen

เพื่อลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนข้ามขณะเตรียมชุดทดสอบ ให้ปฏิบัติดังนี้:

- สวมถุงมือตลอดเวลา (เพื่อปกป้องผู้ใช้งานและป้องกันการเกิดนิวคลีเอส)

เพื่อเป็นการลดความเสี่ยงอันเกิดจากการสัมผัสโดนของเหลวร้อน ให้ปฏิบัติดังนี้:

- ห้ามตั้งเครื่องทำความร้อนอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิที่แนะนำไว้
- ห้ามทำความร้อนเกินเวลาที่แนะนำ
- ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่ได้รับการสอบเทียบตามมาตรฐานและเหมาะสม เพื่อยืนยันอุณหภูมิของของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen® (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน หรือเทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิทัล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) จะต้องวางเทอร์โมมิเตอร์ในบริเวณที่กำหนดไว้ของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen

ข้อสังเกต

เพื่อลดความเสี่ยงจากการปนเปื้อนข้ามขณะเตรียมชุดทดสอบ ให้ปฏิบัติดังนี้:

- เปลี่ยนถุงมือก่อนขั้นตอนการผสมสารละลายกับเม็ดรีเอเจนต์
- แนะนำให้ใช้ปิเปตทิประดับชีววิทยาโมเลกุลชนิดที่มีตัวกั้นละอองอากาศ (ชนิดกรองแล้ว) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
- ใช้ปิเปตทิปอันใหม่สำหรับการถ่ายตัวอย่างในแต่ละครั้ง
- ใช้แนวปฏิบัติที่ดีสำหรับห้องปฏิบัติการเพื่อถ่ายตัวอย่างจากอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อที่บ่มแล้วไปยังหลอดสายละลายไลซีส เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนในขั้นตอนการปิเปต ผู้ใช้อาจเพิ่มขั้นตอนระหว่างกลางของการถ่ายตัวอย่างสารละลาย ตัวอย่างเช่น ผู้ใช้อาจถ่ายแต่ละตัวอย่างอาหารที่เพิ่มจำนวนเชื้อแต่ละตัวอย่างใส่เข้าไปในหลอดที่ฆ่าเชื้อแล้ว
- ปฏิบัติการทดสอบทางชีววิทยาโมเลกุลบนโต๊ะที่มีหลอดไฟฆ่าเชื้อหากทำได้

- ลดการปนเปื้อนบนโต๊ะปฏิบัติงานและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปต เครื่องมือเปิด/ปิดฝา ฯลฯ) อย่างสม่ำเสมอด้วยน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) หรือสารละลายกำจัดดีเอ็นเอ

เพื่อลดความเสี่ยงจากผลบวกที่เป็นเท็จ ให้ปฏิบัติดังนี้

- ห้ามเปิดหลอดรีเอเจนต์ภายหลังการเพิ่มขยายจำนวนเชื้อ
- กำจัดหลอดทดลองที่ปนเปื้อนแล้วเสมอ โดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงและให้อยู่ห่างจากพื้นที่จัดเตรียมชุดทดสอบทุกครั้ง
- ห้ามนึ่งฆ่าเชื้อหลอดรีเอเจนต์ภายหลังการเพิ่มขยายจำนวน

ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในเอกสารข้อมูลความปลอดภัยและระเบียบข้อบังคับการกำจัดทิ้งในประเทศ

หากท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับการใช้งานหรือกรรมวิธีที่เฉพาะเจาะจงใดๆ โปรดเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราที่ www.neogen.com หรือติดต่อตัวแทนจำหน่ายหรือผู้จัดจำหน่ายของบริษัท Neogen ในท้องถิ่นของท่าน

ความรับผิดชอบของผู้ใช้

ผู้ใช้จะต้องทำความเข้าใจเกี่ยวกับคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์และข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ หากต้องการข้อมูลเพิ่มเติม สามารถเยี่ยมชมเว็บไซต์ของเราได้ที่ **www.neogen.com** หรือติดต่อตัวแทนหรือผู้จัดจำหน่าย Neogen ในพื้นที่ของท่าน

เมื่อเลือกวิธีทดสอบ การคำนึงถึงปัจจัยภายนอกนั้นเป็นสิ่งสำคัญ เช่น วิธีการสุ่มตัวอย่าง วิธีการทดสอบ วิธีการเตรียมตัวอย่าง การจัดการควบคุม เทคนิคของห้องปฏิบัติการรวมถึงตัวอย่างเองที่อาจส่งผลกระทบต่อผลลัพธ์ได้

ผู้ใช้งานเป็นผู้รับผิดชอบในการประเมินความเหมาะสมสำหรับการเลือกวิธีการทดสอบหรือชนิดผลิตภัณฑ์ เพื่อประเมินจำนวนเมทริกซ์ที่เหมาะสมและความสามารถในการเหลือรอดของจุลินทรีย์ เพื่อให้ผู้ใช้แน่ใจว่าวิธีการทดสอบที่เลือกนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ของผู้ใช้เอง

นอกจากนี้ ผู้ใช้จะต้องรับผิดชอบในการเลือกวิธีการทดสอบและผลลัพธ์ที่ได้ให้เป็นไปตามข้อกำหนดของลูกค้าและของซัพพลายเออร์

เช่นเดียวกับวิธีการทดสอบอื่นๆ ผลการทดสอบที่ได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดก็ตาม ไม่ได้รับประกันถึงคุณภาพของเมทริกซ์หรือขั้นตอนที่ใช้ทดสอบ

Neogen ได้พัฒนาชุดน้ำยาควบคุมเพื่อทดสอบผลของส่วนประกอบในตัวอย่างแต่ละประเภท โดยวิธี Neogen® เพื่อช่วยให้ลูกค้าประเมินวิธีการสำหรับเมทริกซ์ต่างๆ ของอาหารได้ เมื่อจำเป็น ให้ใช้ชุดน้ำยาควบคุมเพื่อทดสอบผลของส่วนประกอบในตัวอย่างแต่ละประเภท (MC) เพื่อทดสอบว่าเมทริกซ์นั้นสามารถส่งผลกระทบต่อผลการทดสอบของชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2*แคมไพโลแบคเตอร์*หรือไม่ ทดสอบตัวอย่างหลายๆ ที่ถือว่าเป็นตัวแทนของเมทริกซ์นั้นๆ เช่น ตัวอย่างที่ได้จากแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกัน ตัวอย่างในระหว่างการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบก่อนนำวิธีของ Neogen มาใช้ หรือเมื่อทำการทดสอบเมทริกซ์ใหม่หรือที่ไม่เคยทำหรือเมทริกซ์ที่ผ่านการเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบหรือการแปรรูป

สามารถให้คำจำกัดความของเมทริกซ์ได้ว่า เป็นชนิดของผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติที่มาที่แตกต่างกัน เช่น องค์ประกอบหลักและกระบวนการแปรรูปที่ต่างกัน ความแตกต่างระหว่างเมทริกซ์ต่าง ๆ อาจจะเป็นเพียงผลที่เกิดจากความแตกต่างในกระบวนการแปรรูปหรือสภาพลักษณะของเมทริกซ์ เช่น ดิบกับผ่านการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอไรซ์ สดกับแห้ง ฯลฯ

เงื่อนไขการรับประกัน/การชดเชยแบบจำกัด

NEOGEN ปฏิเสธการรับประกันทั้งหมดทั้งอย่างชัดแจ้งและโดยนัย รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการรับประกันใด ๆ ถึงความสามารถในการจำหน่าย หรือความเหมาะสมสำหรับการใช้งานโดยเฉพาะ เว้นแต่จะได้อธิบายไว้อย่างชัดแจ้งในส่วนการรับประกันแบบจำกัดว่าด้วยบรรจุภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์แต่ละชิ้น หากผลิตภัณฑ์ Neogen Food Safety ใดๆ มีตำหนิบกพร่อง บริษัท Neogen หรือผู้จัดจำหน่ายที่ได้รับอนุญาตของบริษัทจะใช้ดุลยพินิจของตนในการพิจารณาเปลี่ยนแทนผลิตภัณฑ์หรือคืนเงินค่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าว อันนี้คือการชดเชยพิเศษ หากสงสัยว่ามีข้อบกพร่องหรือความเสียหายกับสินค้า ท่านต้องแจ้ง Neogen ภายใน 60 วันหลังจากที่พบ และทำการคืนสินค้าที่เสียหายให้ทาง Neogen โปรดโทรติดต่อแผนกบริการลูกค้า (1-800-328-1671 ในสหรัฐอเมริกา) หรือตัวแทน Neogen Food Safety เพื่อขอสิทธิ์ส่งคืนผลิตภัณฑ์ Please contact your Neogen representative or authorized Neogen distributor for any further questions.

ขอบเขตความรับผิดชอบของ Neogen

NEOGEN จะไม่รับผิดชอบต่อการสูญเสียหรือความเสียหายใดๆ ทั้งโดยตรง โดยอ้อม ความเสียหายจำเพาะ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการผิดสัญญา หรือที่เป็นผลสืบเนื่อง รวมถึงแต่ไม่จำกัดเพียงการสูญเสียผลกำไร ความรับผิดชอบของทาง Neogen ในทางกฎหมายจะต้องไม่เกินราคาของผลิตภัณฑ์ที่เสียหายหรือบกพร่องไม่ว่ากรณีใดๆ ก็ตาม

การเก็บรักษาและการกำจัด

เก็บ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ที่อุณหภูมิ 2-8°C (35-47°F) ห้ามแช่แข็ง เก็บชุดอุปกรณ์ให้พ้นแสงในระหว่างการเก็บรักษา หลังจากเปิดชุดอุปกรณ์แล้ว ให้ตรวจสอบว่าถุงฟอยล์ไม่ชำรุดเสียหาย หากถุงฟอยล์ชำรุดเสียหาย ห้ามใช้ผลิตภัณฑ์นั้น หลังจากเปิดแล้ว ควรเก็บรักษาหลอดรีเอเจนต์ที่ยังไม่ได้ใช้ไว้ในถุงที่ซีลปิดซ้ำได้โดยมีสารดูดความชื้นใส่อยู่ภายในเพื่อให้รีเอเจนต์ที่ทำไลโอฟิไลซ์แล้วอยู่ในสภาวะคงตัว เก็บถุงที่ซีลปิดกลับแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C (35-47°F) เป็นเวลาไม่เกิน 90 วัน

ห้ามใช้ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ที่เลยวันหมดอายุแล้ว วันหมดอายุและหมายเลขล็อตจะแสดงไว้บนฉลากด้านนอกของกล่อง หลังใช้งาน อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อและ หลอด Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2- *แคมไพโลแบคเตอร์*อาจมีสารจากเชื้อก่อให้เกิดโรคอยู่ เมื่อการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว ให้ปฏิบัติตามมาตรฐานอุตสาหกรรมในปัจจุบันสำหรับการกำจัดและทิ้งขยะปนเปื้อน ศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมในเอกสารข้อมูลความปลอดภัยและระเบียบข้อบังคับการกำจัดทิ้งในประเทศ

คำแนะนำการใช้งาน

ปฏิบัติตามคำแนะนำทั้งหมดอย่างละเอียดรอบคอบ หากไม่ปฏิบัติเช่นนั้น อาจให้ผลที่ไม่ถูกต้องแม่นยำได้

ลดการปนเปื้อนบนโต๊ะปฏิบัติงานและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ (ปิเปต เครื่องมือเปิด/ปิดฝา ฯลฯ) อย่างสม่ำเสมอด้วยน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) หรือสารละลายกำจัดดีเอ็นเอ

ผู้ใช้ควรผ่านการฝึกอบรมคุณสมบัติสำหรับผู้ปฏิบัติงาน (OQ) ระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ตามที่ระบุในเอกสาร "แนวทางและระเบียบการด้านคุณสมบัติการติดตั้ง (IQ) / คุณสมบัติการปฏิบัติการ (OQ) สำหรับระบบการทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen"[6]

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียม Neogen® อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* (CE250) ตามคำแนะนำการใช้งานผลิตภัณฑ์ **ห้ามนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อก่อนใช้งาน** ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ภายใน 24 ชั่วโมงหลังการจัดเตรียม เก็บอาหารเหลวที่เตรียมไว้ที่อุณหภูมิ 2-8°C[7] โดยให้พ้นจากแสงหากไม่ได้ใช้ทันทีหลังจากการจัดเตรียม ตรวจดูให้แน่ใจว่าอาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิ 20-30°C ก่อนนำมาใช้

การเก็บตัวอย่าง

ไม่ควรใช้ Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*ในการล้างซากสัตว์ปีกหรือใช้ในการรักษาสภาพเชื้อระหว่างขนย้ายตัวอย่าง เก็บและขนย้ายตัวอย่างตามขั้นตอนการเก็บตัวอย่างที่กำหนด

การเพิ่มจำนวนเชื้อในตัวอย่าง

ตารางที่ 2 แสดงคำแนะนำสำหรับระเบียบการทั่วไปในการเพิ่มปริมาณเชื้อในตัวอย่างอาหารและตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม

ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการตรวจสอบระเบียบการสุ่มตัวอย่างหรืออัตราส่วนการเจือจางแบบอื่นว่าใช้ได้ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการทดสอบนี้สอดคล้องกับเกณฑ์ของผู้ใช้งาน

การเตรียมตัวอย่าง

ก. การล้างซากสัตว์และการล้างชิ้นส่วนของเนื้อสัตว์ปีกดิบ

1. ล้างซากเนื้อสัตว์ปีกดิบที่เอาเครื่องในออกแล้วด้วยสารละลาย Buffered Peptone Water (BPW) 400 มล. เป็นเวลาหนึ่งนาที หากเป็นการล้างเนื้อสัตว์ปีกดิบ ให้ล้างชิ้นส่วนเนื้อสัตว์ปีกขนาด 1.8 ถึง 2 กก. (4 ปอนด์ ± 10%) ด้วย BPW 400 มล.[1,8]
2. สำหรับซากสัตว์และชิ้นส่วนเนื้อสัตว์ปีกดิบ ปล่อยให้ของเหลวส่วนเกินหยดให้หมดก่อนล้างตัวอย่างเพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้มีของเหลวส่วนเกินจากกระบวนการเข้าไปในถุงตัวอย่าง[8]
3. สำหรับเนื้อสัตว์ปีกที่มีการใช้สารเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ (CPC) ต้องเติมโพลีซอร์เบต 80 จำนวน 5 มล. ต่อลิตร (IUPAC: สารลดแรงตึงผิวโพลีออกซิเอทิลีน (20) CAS 9005-65-6) ลงใน Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* โดยสามารถเติมโพลีซอร์เบต 80 ลงในน้ำก่อนฆ่าเชื้อเพื่อช่วยในการทำละลาย หรือสามารถเติมลงในน้ำปลอดเชื้อโดยตรงก่อนเตรียม Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*
4. ถ่ายน้ำล้าง 30 มล. แบบปลอดเชื้อลงถุงปลอดเชื้อและเติม Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* 30 มล.

ข. การใช้ฟองน้ำป้ายซากสัตว์

1. ควรให้ฟองน้ำชุ่มน้ำก่อนใช้ฟองน้ำชุบ BPW 25 มล. ก่อนป้ายตัวอย่าง[1] หากมีการขนย้ายตัวอย่าง ตรวจสอบให้แน่ใจว่าม้วนถุงลงและเก็บที่อุณหภูมิ 2-8°C
2. ใช้สวอปป้ายซากสัตว์ปีกหรือใช้ฟองน้ำเก็บตัวอย่าง
3. ใส่สวอปลงในถุงปลอดเชื้อและเติม Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* ในปริมาณ 25 มล. ตรวจสอบให้แน่ใจว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อเคลือบสวอปและฟองน้ำอยู่

ค. ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ปีกดิบ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้น้ำหนัก 325 ± 32.5 กรัมแบบปลอดเชื้อแล้วใส่ลงในถุงปลอดเชื้อ ใส่ BPW ปริมาณ 1625 ± 32.5 มล.ลงบนผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ปีกดิบ เพื่อกระจายตัวไม่ให้จับกันเป็นก้อน ควรผสมให้เข้ากันดีด้วยการใช้มือนวดเป็นระยะเวลาสั้นๆ
2. ภายหลังการผสมเข้ากันดีแล้ว ให้ใส่ส่วนผสมเนื้อสัตว์ปีกดิบที่ได้ในปริมาณ 30 มล.ลงถุงปลอดเชื้อ จากนั้น ใส่ Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ *แคมไพโลแบคเตอร์* ในปริมาณ 30 มล. และผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึง

ง. เนื้อสัตว์ดิบและเนื้อสัตว์พร้อมรับประทาน

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างขนาด 25 กรัมแบบปลอดเชื้อแล้วใส่ลงในถุงปลอดเชื้อ แนะนำให้ใช้ถุงกรองเพื่อความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง
2. เติม Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* ในปริมาณ 225 มล.
3. ใช้มือนวดเพื่อให้ส่วนที่เป็นก้อนแตกตัว หลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดฟองขณะผสม ห้ามใช้กรรมวิธีเขย่าหรือผสมกับถุง

จ. การเก็บตัวอย่างจากรองเท้าบูทในการผลิตขั้นปฐมยภูมิ

1. เก็บตัวอย่างจากรองเท้าบูทหรือถุงเท้าตามขั้นตอนการเก็บตัวอย่างที่กำหนด
2. ใส่ถุงเท้าหนึ่งข้างลงในถุงปลอดเชื้อและเติม Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* ในปริมาณ 100 มล.

ฉ. การเก็บตัวอย่างจากการป้ายด้วยสวอป

1. เก็บตัวอย่างจากอุปกรณ์สวอปตัวอย่างที่ทำให้หมาดตามขั้นตอนการเก็บตัวอย่างที่กำหนด
2. ใส่สวอปลงในถุงปลอดเชื้อและเติม Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* ในปริมาณ 100 มล.

การบ่มอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ

1. ม้วนถุงลงเพื่อลดพื้นที่ส่วนหัวและป้องกันไม่ให้อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อสัมผัสกับอากาศ นวดถุงเบาๆ ประมาณ 10 ± 2 วินาที **ห้ามใช้กรรมวิธีเขย่าหรือผสมโดยเครื่องตีหรือปั่นและหลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดฟองอากาศขณะผสม**
2. บ่มถุงแบบใช้ออกซิเจนที่ระดับอุณหภูมิ 41.5 ± 1°C ดูตารางที่ 2 สำหรับระยะเวลาการบ่ม

คำเตือน: หากคุณเลือกที่จะใช้บัฟเฟอร์สำหรับทำให้เป็นกลาง (NB) ซึ่งประกอบด้วยสารเชิงซ้อนของเอริลซัลโฟเนตเป็นสารละลายเพื่อทำให้ฟองน้ำชุ่มชื้น ต้องทำการเจือจางตัวอย่างหลังเพิ่มจำนวนเชื้อแล้วในอัตราส่วน 1:2 (ตัวอย่าง 1 ส่วนในอาหารเหลวเพิ่มจำนวนเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ส่วน) ก่อนการทดสอบเพื่อที่จะลดความเสี่ยงอันเกี่ยวข้องกับผลลบที่เป็นเท็จซึ่งนำไปสู่การปล่อยผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนออกสู่ภายนอกได้ อีกหนึ่งตัวเลือกคือถ่ายบัฟเฟอร์ที่เป็นกลางที่มีการเพิ่มเชื้อปริมาณ 10 ไมโครลิตรเข้าไปยังหลอดสารละลายไลซีส Neogen

ผู้ใช้มีหน้าที่รับผิดชอบในการพิสูจน์ยืนยันระเบียบการสุ่มตัวอย่างหรืออัตราส่วนการเจือจางแบบอื่นเพื่อให้มั่นใจว่าวิธีการทดสอบนี้สอดคล้องกับเกณฑ์ของผู้ใช้งานเอง

ตารางที่ 2 ระเบียบการของอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อทั่วไป

เมทริกซ์ตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ *แคมไพโลแบคเตอร์* (มล.)(ข)	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (±1°C)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)	ปริมาตรการวิเคราะห์ตัวอย่าง (ไมโครลิตร)(ค)
• การล้างทำความสะอาดซากสัตว์(ก) • การล้างทำความสะอาดชิ้นส่วนสัตว์ปีก(ก)	น้ำล้าง 30 มล. ใน BPW	30	41.5	22-26	20
• การใช้ฟองน้ำป้ายซากสัตว์(ก)	ฟองน้ำ 1 ชิ้นที่ชุบหมาด BPW สูงสุดถึง 25 มล.	25	41.5	22-26	20
• เนื้อสัตว์ดิบ • เนื้อสัตว์พร้อมรับประทาน	25 g	225	41.5	24-28	20
• การเก็บตัวอย่างจากรองเท้าบูทในการผลิตขั้นปฐมภูมิ	รองเท้าบูทสำหรับเก็บตัวอย่าง 1 ข้าง	100	41.5	22-26	20
• การเก็บตัวอย่างจากการกวาดสวอปในการผลิตขั้นปฐมภูมิ	อุปกรณ์ชุบหมาด 1 ชิ้น	100	41.5	22-26	20

(ก.) หากสัตว์ปีกมีการใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ (CPC) ต้องเติม(Polysorbate 80; IUPAC: Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate CAS 9005-65-6)ปริมาตร 5 มล. ต่อลิตร ลงใน Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*ที่จัดเตรียมไว้ สามารถเติมโพลีซอร์เบต 80 ลงในน้ำก่อนฆ่าเชื้อ หรือสามารถเติมลงในน้ำปลอดเชื้อก่อนเตรียม Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*

(ข.) ควรใช้ Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*ภายใน 24 ชั่วโมงหลังการจัดเตรียม อาหารเลี้ยงเชื้อควรอยู่ที่อุณหภูมิห้อง (25-30°C) ก่อนใช้งาน

(ค.) ก่อนการนำตัวอย่างอาหารหลังเพิ่มจำนวนเชื้อไปวิเคราะห์ ให้นวดก้นถุงเบาๆ **หลังจากเก็บตัวอย่าง ให้ม้วนถุงลงเพื่อป้องกันอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อไม่ให้สัมผัสกับอากาศ** อาจต้องการตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อการทดสอบซ้ำหรือสำหรับขั้นตอนการยืนยัน

คำแนะนำเฉพาะสำหรับวิธีการทดสอบที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) หมายเลข 111803

PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 111803

จากการศึกษา PTM℠ ของสถาบันวิจัย AOAC ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์*ของ Neogen พบว่าเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์* เมทริกซ์ที่ได้รับการทดสอบในการศึกษาดังกล่าวแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนเชื้อตามเอกสาร AOAC PTM[SM] หมายเลข 111803

เมทริกซ์ตัวอย่าง	ขนาดตัวอย่าง	Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ *แคมไพโลแบคเตอร์* (มล.)[ค]	อุณหภูมิในการเพิ่มจำนวนเชื้อ (±1°C)	เวลาการเพิ่มจำนวนเชื้อ (ชั่วโมง)	ปริมาตรการวิเคราะห์ตัวอย่าง (ไมโครลิตร)[ง]
ซากสัตว์ทั้งซากที่ล้างใน BPW[ก] [ข]ปริมาณ 400 มล.	น้ำล้าง 30 มล. ใน BPW	30	41.5	22-26	20
ชิ้นส่วนสัตว์ปีก (1.8 ถึง 2 กก.) ที่ล้างใน. BPW[ก] [ข]ปริมาณ 400 มล	น้ำล้าง 30 มล. ใน BPW	30	41.5	22-26	20
ฟองน้ำป้ายซากไก่งวง[ก] [ข]	ฟองน้ำ 1 ชิ้นที่ชุบหมาดด้วย BPW สูงสุดถึง 25 มล.	25	41.5	24-26	20
เนื้อสัตว์ปีกบดดิบ (325 ± 32.5 กรัม) ที่ล้างด้วย BPW ในปริมาณ 1625 ± 32.5 มล.[ข]	ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ในปริมาณ 30 มล. ใน BPW	30	41.5	24-28	20
นักเก็ตไก่	25 g	225	41.5	24-28	20

(ก.) หากสัตว์ปีกมีการใช้เซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ (CPC) ต้องเติมสาร(Polysorbate 80; IUPAC: Polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate CAS 9005-65-6) ปริมาตร 5 มล. ต่อลิตร ลงใน Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*ที่จัดเตรียมไว้ สามารถเติมโพลีซอร์เบต 80 ลงในน้ำก่อนฆ่าเชื้อ หรือสามารถเติมลงในน้ำปลอดเชื้อก่อนเตรียม Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*

(ข.) อีกทางเลือกหนึ่ง เมทริกซ์นี้สามารถเพิ่มเชื้อได้ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Bolton ชนิดเหลวแบบไม่ใช้เลือด(BF-BEB) ความเข้มข้น 2 เท่า ปริมาตร 30 มล. เป็นเวลา 48 ± 2 ชม. ที่ระดับอุณหภูมิ 42 ± 1.0°C ในสภาวะออกซิเจนน้อย ถ่ายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตรไปยังสารละลายไลซีส Neogen

(ค.) ควรใช้ Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*ภายใน 24 ชม. หลังการจัดเตรียม อาหารเลี้ยงเชื้อควรอยู่ที่อุณหภูมิห้อง (25-30°C) ก่อนใช้งาน

(ง.) ก่อนการนำตัวอย่างอาหารหลังเพิ่มจำนวนเชื้อไปวิเคราะห์ ให้นวดก้นถุงเบาๆ **หลังจากเก็บตัวอย่าง ให้ม้วนถุงลงเพื่อป้องกันอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อไม่ให้สัมผัสกับอากาศ** อาจต้องการตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อการทดสอบซ้ำหรือสำหรับขั้นตอนการยืนยัน

การเตรียมถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen®

1. ชุบผ้าหรือกระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งในน้ำยาฟอกขาว 1-5% (ผสมกับน้ำตามอัตราส่วน) และเช็ดถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen
2. ใช้น้ำล้างถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen นี้
3. ใช้กระดาษเช็ดมือแบบใช้แล้วทิ้งเช็ดถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ให้แห้ง
4. ตรวจสอบให้แน่ใจว่าถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen แห้งสนิทก่อนใช้งาน

การเตรียมชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen®

วางชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen บนโต๊ะปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการโดยตรง: ไม่ต้องใช้ถาดวางชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen ใช้บล็อคที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (20-25°C)

การเตรียมฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen®

วางฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen ในเครื่องทำความร้อนบล็อกคู่แบบแห้ง เปิดเครื่องทำความร้อนบล็อคแบบแห้งและตั้งอุณหภูมิเพื่อให้ฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึง 100 ± 1°C

หมายเหตุ: ให้ฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen มีอุณหภูมิตามที่กำหนดโดยทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการทำงานของเครื่องทำความร้อน ใช้เทอร์โมมิเตอร์ที่ได้รับการสอบเทียบอย่างเหมาะสม (เช่น เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มบางส่วน เทอร์โมมิเตอร์แบบดิจิตอล ที่ไม่ใช่เทอร์โมมิเตอร์แบบจุ่มทั้งหมด) วางไว้ในบริเวณที่กำหนด ตรวจสอบให้อุณหภูมิของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen อยู่ที่ 100 ± 1°C

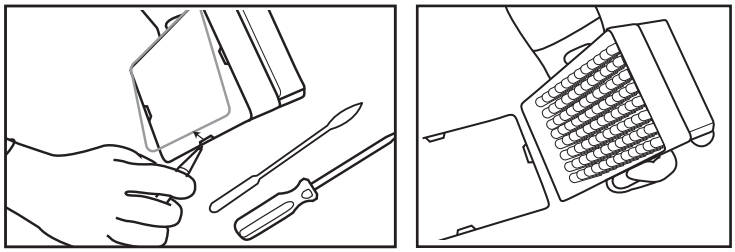
การเตรียมเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen®

1. เริ่มต้นการใช้งานซอฟต์แวร์สำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen® แล้วลงชื่อเข้าสู่ระบบ ติดต่อตัวแทนของ Neogen Food Safety ของคุณเพื่อให้แน่ใจว่าคุณมีซอฟต์แวร์เวอร์ชันที่อัปเดตล่าสุด
2. เปิดเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen
3. สร้างหรือแก้ไขชุดการทดสอบที่มีข้อมูลสำหรับแต่ละตัวอย่าง ดูรายละเอียดเพิ่มเติมในคู่มือการใช้งานระบบทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen

หมายเหตุ: ต้องรอให้เครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen มีสถานะพร้อมใช้ ก่อนที่จะใส่ถาดใส่หลอดทดสอบเข้าเครื่องทดสอบเชื้อระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ขั้นตอนของการทำความร้อนนี้ใช้เวลาประมาณ 20 นาทีและบ่งชี้ด้วยไฟสีส้มบนแถบบอกสถานะของเครื่อง เมื่อเครื่องมือพร้อมที่จะเริ่มต้นการทำงาน แถบบอกสถานะดังกล่าวจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว

การไลซีส

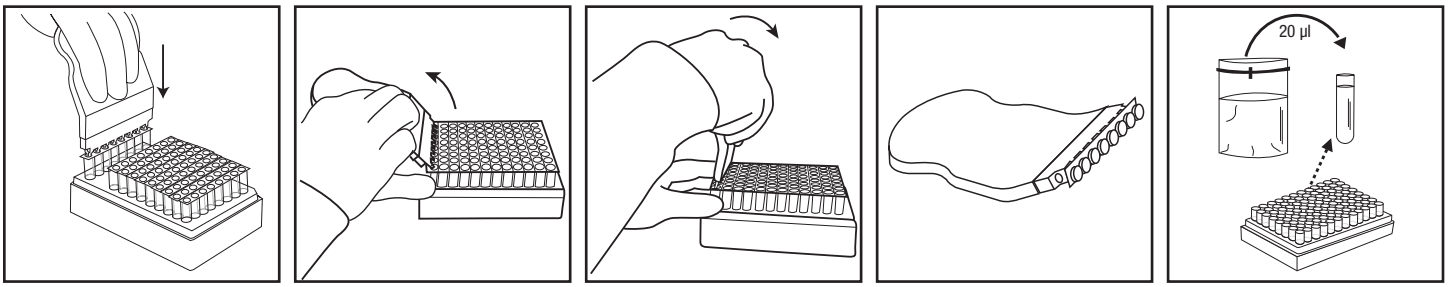
ใช้ไขควงไขส่วนด้านล่างของที่วางสารละลายไลซิส Neogen ออกก่อนวางลงบนฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen



1. รอให้หลอดสารละลายไลซีส Neogen อุ่นขึ้นโดยนำออกมาวางที่อุณหภูมิห้อง (20-25°C) ข้ามคืน (16-18 ชั่วโมง) ทางเลือกอื่นๆ นอกเหนือจากการวางหลอดสารละลายไลซีส Neogen ไว้บนโต๊ะของห้องปฏิบัติการอย่างน้อย 2 ชั่วโมง ให้นำหลอดสารละลายไลซีส Neogen ไปบ่มในที่ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ± 1°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือวางหลอดสารละลายไลซีสบนเครื่องทำความร้อนแบบแห้งเป็นเวลา 30 วินาทีที่อุณหภูมิ 100°C
2. พลิกหลอดสารละลายไลซีสที่ปิดฝาอยู่ เพื่อผสมให้เข้ากัน ดำเนินการต่อในขั้นถัดไปไปภายใน 4 ชั่วโมง หลังจากพลิกหลอดแล้ว
3. **นำตัวอย่างอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อออกจากตู้บ่มเชื้อ**
   3.1.1 นวดก้นถุงอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อเบาๆ ก่อนถ่ายตัวอย่างใส่หลอดสารละลายไลซีส Neogen
   3.1.2 อาจต้องการตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อการทดสอบซ้ำหรือสำหรับขั้นตอนการยืนยัน หลังจากเก็บตัวอย่าง ให้ม้วนถุงลงเพื่อลดพื้นที่ส่วนหัวและป้องกันไม่ให้อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อสัมผัสกับอากาศ หากต้องการยืนยันผลการทดสอบ ให้ดำเนินการขั้นตอนยืนยันผลการทดสอบทันทีที่ได้ผลการทดสอบเบื้องต้น
4. ใช้หลอดสารละลายไลซีส Neogen หนึ่งหลอดต่อตัวอย่างและต่อ NC (อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อ)
   4.1 สามารถตัดแถวของหลอดสารละลายไลซีส Neogen ออกเพื่อให้มีจำนวนหลอดตามที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดหรือทั้งแถวคือ 8 หลอดต่อแถวตามต้องการ วางหลอดสารละลายไลซีส Neogen ลงในชั้นวางที่ว่างอยู่
   4.2 เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาของหลอดสารละลายไลซีส Neogen ทั้งแถวในครั้งเดียว และใช้ปิเปตทิปอันใหม่สำหรับถ่ายตัวอย่างในแต่ละขั้นตอน
   4.3 ถ่ายตัวอย่างที่เพิ่มจำนวนเชื้อแล้วไปยังหลอดสารละลายไลซีส Neogen ตามคำอธิบายด้านล่างนี้:

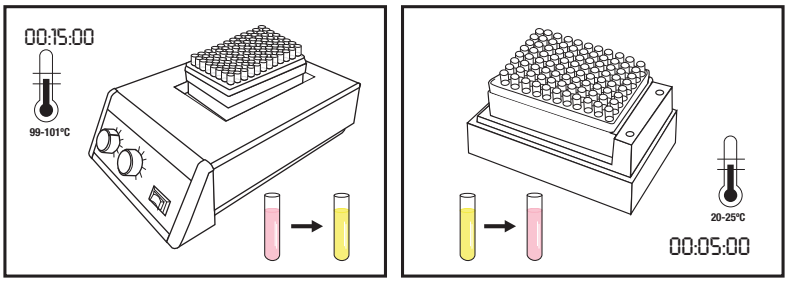
   ถ่ายตัวอย่างที่เพิ่มจำนวนเชื้อแต่ละตัวอย่างลงไปในหลอดสารละลายไลซีส Neogen แต่ละหลอด **เป็นอันดับแรก** ถ่าย NC **เป็นอันดับสุดท้าย**

   4.4 ใช้อุปกรณ์เปิด/ปิดฝาหลอดสารละลายไลซีสโดยวิธี Neogen® ในการเปิดฝาหลอดสารละลายไลซีส Neogen ทีละแถว
   4.5 ทิ้งฝาหลอดสารละลายไลซีส Neogen - หากจะเก็บไลเซตเอาไว้เพื่อทดสอบซ้ำ ให้วางฝาในภาชนะที่สะอาดเพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำ
   4.5.1 หากต้องการดูข้อมูลเกี่ยวกับการดำเนินการเก็บไลเซต โปรดดูภาคผนวก A
   4.6 ถ่ายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตรลงในหลอดสารละลายไลซีส Neogen
5. ทำซ้ำขั้นตอน 4.4 ถึง 4.6 ตามความจำเป็นสำหรับจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ



6. เมื่อถ่ายตัวอย่างทั้งหมดเสร็จแล้ว ให้ถ่าย NC (อาหารเพิ่มจำนวนเชื้อ ที่ปลอดเชื้อ เช่น BPW) ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดสารละลายไลซีส Neogen ห้ามใช้น้ำเป็น NC
7. ตรวจสอบว่าอุณหภูมิของ ของฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen อยู่ที่ 100 ± 1°C
8. วางถาดใส่หลอดสารละลายไลซีส Neogen ที่ไม่มีฝาปิด ลงในฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen และทำความร้อนเป็นเวลา 15 ± 1 นาที ระหว่างการทำให้ร้อน สารละลายในหลอดทดสอบไลซีส Neogen จะเปลี่ยนจากสีชมพู (เย็น) เป็นเหลือง (ร้อน)
   8.1 ตัวอย่างซึ่งไม่ได้รับความร้อนอย่างเหมาะสมในระหว่างขั้นตอนการไลซีสของชุดทดสอบอาจถือว่าเป็นสารที่อาจมีอันตรายทางชีวภาพ และไม่ควรใส่เข้าไปในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen

9. นำถาดวางหลอดสารละลายไลซีส Neogen ที่ไม่มีฝาปิด ออกจากฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen และปล่อยให้เย็นลงในชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen อย่างน้อย 5 นาที แต่ไม่เกิน 10 นาที ควรวางชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ที่จะใช้งานที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่มีถาดวางงชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen® ลงบนโต๊ะในห้องปฏิบัติการโดยตรง เมื่อเย็นลงแล้ว สารละลายไลซีส Neogen ก็จะเปลี่ยนกลับเป็นสีชมพู
10. นำเอาถาดวางหลอดสารละลายไลซีส Neogen ออกจาก ชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen

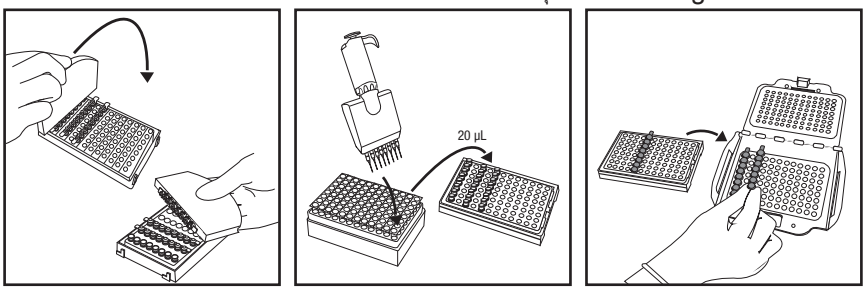


การเพิ่มขยาย

1. หลอดรีเอเจนต์ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* หนึ่งหลอดสำหรับตัวอย่างแต่ละชนิดและ NC
   1.1 สามารถตัดแถวของหลอดออก เพื่อให้มีจำนวนหลอดตามที่ต้องการได้ เลือกจำนวนหลอดรีเอเจนต์ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* แต่ละหลอด หรือแถวที่มี 8 หลอด ตามต้องการ
   1.2 วางหลอดในที่วางที่ว่างอยู่
   1.3 หลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดรีเอเจนต์ที่ก้นหลอด
2. เลือกหลอด Neogen รีเอเจ้นท์คอนโทรลหนึ่งหลอดแล้ววางลงในถาดวาง
3. เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้าม ให้เปิดฝาของหลอดรีเอเจนต์ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ทั้งแถวในครั้งเดียว และใช้ปิเปตทิปอันใหม่สำหรับถ่ายตัวอย่างในแต่ละขั้นตอน
4. ถ่ายไลเซตแต่ละตัวอย่างไปยังหลอดรีเอเจนต์และหลอด Neogen รีเอเจ้นท์คอนโทรล ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ตามคำอธิบายด้านล่าง:

ถ่ายไลเซตของแต่ละตัวอย่างไปยังหลอดรีเอเจ้นท์ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* แต่ละชุด**ก่อน** แล้วจึงถ่าย NC เติมสารละลายลงในหลอด Neogen รีเอเจนต์คอนโทรลเป็น**ลำดับสุดท้าย**

5. ใช้เครื่องมือเปิด/ปิดฝารีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen® ในการเปิดหลอดรีเอเจนต์ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ทีละแถว ทิ้งฝาปิด
   5.1 **ถ่ายไลเซตของตัวอย่างปริมาณ 20 ไมโครลิตร จากด้านบน ½ ของของเหลว (หลีกเลี่ยงตะกอน) ในหลอดสารละลายไลซีส Neogen เข้าไปในหลอดรีเอเจนต์ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ปล่อยสารละลายด้านข้างหลอด เพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดรีเอเจนต์ที่ก้นหลอด ผสมโดยใช้ปิเปต ดูดขึ้นและลงเบา ๆ 5 ครั้ง**
   5.2 ทำซ้ำขั้นตอนที่ 5.1 จนว่าจะเติมแต่ละไลเซตตัวอย่างลงไปในหลอดรีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* โดยวิธี Neogen ในแถวนั้น
   5.3 ปิดหลอดรีเอเจนต์ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* ด้วยฝาที่ให้มา และใช้ด้านมนของเครื่องมือเปิด/ปิดฝารีเอเจนต์ของชุดทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen กดซ้ำไปซ้ำมาเพื่อให้แน่ใจว่าฝาปิดสนิท
   5.4 ทำซ้ำขั้นตอน 5.1 ถึง 5.3 ตามความจำเป็นสำหรับจำนวนตัวอย่างที่จะทดสอบ
   5.5 เมื่อถ่ายไลเซตตัวอย่างทั้งหมดแล้ว ให้ทำซ้ำขั้นตอนที่ 5.1 ถึง 5.3 เพื่อถ่ายไลเซต NC ปริมาณ 20 ไมโครลิตร เข้าไปในหลอดรีเอเจนต์ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์*
   5.6 ถ่าย**<u>ไลเซต NC</u> ปริมาณ 20 ไมโครลิตร เข้าไปในหลอด Neogen รีเอเจนต์คอนโทรล** ปล่อยสารละลายด้านข้างหลอด เพื่อหลีกเลี่ยงการรบกวนเม็ดรีเอเจนต์ที่ก้นหลอด ผสมโดยใช้ปิเปต ดูดขึ้นและลงเบา ๆ 5 ครั้ง
6. บรรจุหลอดที่ปิดฝาแล้วลงในถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ที่สะอาดและขจัดการปนเปื้อนแล้ว ปิดและล็อคฝาถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen



7. พิจารณาทบทวนและยืนยันการดำเนินการที่กำหนดค่าไว้ในซอฟต์แวร์ทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen
8. คลิกปุ่ม Start ในซอฟต์แวร์ แล้วเลือกเครื่องมือที่จะใช้ทดสอบ ฝาปิดของอุปกรณ์ที่เลือกจะเปิดโดยอัตโนมัติ
9. ใส่ถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ในเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen แล้วปิดฝาเพื่อเริ่มต้นการทดสอบ ระบบจะให้ผลการทดสอบภายในเวลา 60 นาที แม้ว่าผลที่เป็นบวกอาจจะตรวจจับได้เร็วกว่านั้นก็ตาม

10. หลังจากการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว ให้นำถาดใส่หลอดทดสอบสำหรับเข้าเครื่องทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen ออกจากเครื่องมือสำหรับทดสอบเชื้อก่อโรคระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen แล้วกำจัดหลอดเหล่านั้นทิ้งโดยแช่ในน้ำยาฟอกขาวที่ใช้ในครัวเรือนที่มีความเข้มข้น 1-5% (ในน้ำที่มีปริมาตรเท่ากัน) นาน 1 ชั่วโมง และปฏิบัติให้ห่างจากพื้นที่จัดเตรียมชุดทดสอบ

ข้อสังเกต: เพื่อลดความเสี่ยงในการได้ผลบวกปลอมอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนข้าม ห้ามเปิดหลอดรีเอเจนต์ซึ่งบรรจุ DNA ที่เพิ่มขยายแล้ว ซึ่งรวมถึงหลอดรีเอเจนต์ของ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* หลอด Neogen รีเอเจนต์คอนโทรล และหลอดเมทริกซ์คอนโทรล Neogen กำจัดทิ้งหลอดรีเอเจนต์ที่ปิดฝาทุกครั้งโดยล้างในสารซักฟอกในครัวเรือนความเข้มข้น 1-5% (ต่อปริมาตรน้ำ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และห่างจากบริเวณเตรียมการทดสอบ

ผลการทดสอบและการแปลความหมาย

อัลกอริธึมจะแปลความหมายเส้นโค้งของแสงที่ส่งออกมาอันเป็นผลมาจากการตรวจพบการเพิ่มขยายของกรดนิวคลีอิก ซอฟต์แวร์จะวิเคราะห์ผลการทดสอบนี้โดยอัตโนมัติและจะมีการเข้ารหัสสีตามผลที่ได้ดังกล่าว ผลการทดสอบที่ให้ค่าเป็นบวกหรือลบจะพิจารณาตัดสินโดยการวิเคราะห์พารามิเตอร์ของเส้นโค้งที่มีลักษณะเฉพาะตัวจำนวนหนึ่ง ผลการทดสอบเบื้องต้นที่เป็นบวกจะมีการรายงานในทันที ขณะที่ผลที่เป็นลบและผลที่น่าสงสัยจะแสดงผลภายหลังการทดสอบเสร็จสมบูรณ์แล้ว

ตัวอย่างที่สันนิษฐานว่าเป็นบวกควรได้รับการยืนยันตามขั้นตอนการปฏิบัติการตามมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ หรือโดยปฏิบัติตามการยืนยันวิธีการอ้างอิงที่เหมาะสม[1,2] เริ่มต้นด้วยการถ่าย Neogen อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพิ่มจำนวนเชื้อ*แคมไพโลแบคเตอร์*ปฐมภูมิไปยังเพลทอาหารเลี้ยง*แคมไพโลแบคเตอร์*แบบจำเพาะ นำไปบ่มที่สภาวะใช้ออกซิเจนเพียงเล็กน้อย และการยืนยันการแยกเชื้อโดยใช้วิธีการทางชีวเคมี ผ่านกล้องจุลทรรศ์ และเซรุ่มวิทยาที่เหมาะสม การเก็บรักษาอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อที่ดีที่สุดคือการม้วนถุงอาหารเพิ่มจำนวนเชื้อลงหลังจากเก็บตัวอย่าง

หมายเหตุ: ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นลบค่าแสงที่อ่านได้ก็ไม่ได้มีค่าเป็นศูนย์ เนื่องจากระบบและรีเอเจนต์ในการเพิ่มขยายสำหรับ Neogen ชุดทดสอบเชื้อระดับโมเลกุล 2 - *แคมไพโลแบคเตอร์* จะมี"ค่าพื้นหลัง"ในหน่วยแสงสัมพัทธ์ (RLU)

ในบางครั้งอาจพบว่าแสงที่ได้จากปฏิกิริยานั้นมีลักษณะผิดปกติ อัลกอริธึมดังกล่าวจะถูกตีความออกมาว่าเป็นผลที่น่าสงสัย บริษัท Neogen แนะนำให้ผู้ใช้ทำการทดสอบซ้ำสำหรับตัวอย่างที่ให้ผลที่น่าสงสัย หากผลการทดสอบยังคงเป็นที่น่าสงสัย ให้ทำการทดสอบเพื่อยืนยัน โดยใช้วิธีการตามที่ต้องการหรือตามที่ระบุโดยหน่วยงานผู้ออกกฎระเบียบในประเทศ[1,2]

ภาคผนวก A การหยุดการทดสอบชั่วคราว: การเก็บรักษาและการนำไลเซตมาทดสอบซ้ำ

1. หากต้องการเก็บไลเซตที่ผ่านความร้อนมาแล้ว ให้ปิดฝาหลอดสารละลายไลซิส Neogen ด้วยฝาที่สะอาด (ดูไลซิสส่วนที่ 4.5)
2. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8°C ไม่เกิน 72 ชั่วโมง
3. เตรียมตัวอย่างที่เก็บไว้ โดยพลิกหลอดสารละลายไลซิสไปมา 2-3 ครั้งเพื่อผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
4. เปิดฝาหลอด
5. ใส่หลอดไลเซตที่ผสมตัวอย่างเข้ากันแล้วลงในฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุล โดยวิธี Neogen และให้ความร้อนที่ 100 ± 1°C เป็นเวลา 5 ± 1 นาที
6. นำที่วางหลอดสารละลายไลซิส Neogen ออกจากฮีทบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี 3 M และปล่อยให้เย็นลงในชิลบล็อคสำหรับใส่หลอดทดสอบระดับโมเลกุลโดยวิธี Neogen อย่างน้อย 5 นาทีแต่ไม่เกิน 10 นาที
7. ดำเนินการทดสอบขั้นต่อไปในส่วน**การเพิ่มขยายจำนวน**ตามรายละเอียดด้านล่าง

เอกสารอ้างอิง:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218 Microbiology of food and animal feeding stuffs – General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. โปรดติดต่อตัวแทนของ Neogen Food Safety เพื่อรับเอกสารนี้
7. ISO 11133 Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

제품 설명서

분자검출키트 2 - *캠필로박터*

제품 설명 및 용도

Neogen® 분자검출키트 2 - *캠필로박터*는 Neogen® 분자 검출 시스템을 사용하여 증균된 식품 및 식품 가공 환경 시료에서 *캠필로박터 제주니, 캠필로박터 라리*, *캠필로박터 콜리*를 신속하고 명확하게 검출합니다.

Neogen 분자검출키트는 고리 매개 등온 증폭 방식으로 증폭 감지를 위한 생체발광이 결합되어, 높은 특이성과 민감도를 가진 핵산 염기 서열을 빠르게 증폭시킵니다. 추정 양성 결과는 실시간으로 보고되는 반면, 음성 결과는 시험이 완료된 후 표시됩니다. 추정 양성 결과는 원하는 방법을 사용하거나 현지 규정에 지정된 대로 확인되어야 합니다[1,2].

Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*는 실험 기법에 대해 적절한 교육을 받은 전문가들이 실험실 환경에서 사용하도록 고안되었습니다. Neogen은 식품이나 음료가 아닌 다른 산업에서의 이 제품 사용을 문서화하지 않았습니다. 즉, Neogen은 약품, 화장품, 임상 또는 수의학 시료 시험에 대해서는 이 제품을 문서화하지 않았습니다. Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*는 가능한 모든 식품, 식품 가공, 시험 프로토콜 또는 가능한 모든 박테리아 종에 평가되지는 않았습니다.

모든 시험 방법처럼 증균 배지의 원료, 제조법 및 특성은 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. 시료 추출 방법, 검사 계획서, 시료 준비, 조작 및 실험 기법 또한 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. Neogen은 충분한 수의 특정 식품과 미생물 유발 시험을 이용하여 사용자의 환경에서 사용자의 기준을 충족하는지 확인하기 위해 증균 배지를 포함한 해당 방법의 평가를 권장합니다.

Neogen은 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*를 Neogen® *캠필로박터* 증균 배양액 및 무혈청 Bolton 증균 배양액을 통해 평가했습니다.

Neogen® 분자 검출기는 시료에 있는 유기체를 파괴하기 위한 Lysis 단계 중에 열처리를 거친 시료와 함께 사용하기 위한 것입니다. Lysis 단계 동안 적절하게 열처리가 되지 않은 시료는 잠재적인 생물학적 위험으로 간주되므로 Neogen 분자 검출기에 절대로 삽입하지 마십시오.

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

Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* 시험 키트에는 표 1에 설명된 바와 같이 96회 시험분이 포함되어 있습니다.

표 1. Neogen 분자검출키트 구성요소

항목	ID	수량	내용물	설명
Neogen® Lysis Solution(LS)	투명한 튜브의 분홍색 용액	96개(8개들이 튜브 12개 스트립)	튜브당 580µL의 LS	랙에 꽂혀 있고 바로 사용 가능함
Neogen® 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브	보라색 튜브	96개(8개들이 튜브 4개 스트립이 들어있는 파우치 3개)	동결 건조된 특정 증폭 및 검출 혼합물	사용 준비됨
예비 캡	보라색 캡	96개(8개들이 캡 12개 스트립)		사용 준비됨
Neogen® Reagent 컨트롤(RC)	투명 플립톱 튜브	16개(8개들이 개별 튜브 2개 파우치)	동결 건조된 컨트롤 DNA, 증폭 및 검출 혼합물	사용 준비됨

키트에 제공되지 않은 음성 대조군(NC)은 멸균 증균 배지(예: Neogen *캠필로박터* 증균 배양액)입니다. 물을 NC로 사용하지 마십시오.

빠른 시작 안내서는 www.neogen.com에서 확인할 수 있습니다.

안전

사용자는 Neogen 분자 검출 시스템 및 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*와 관련된 지침의 안전 정보 일체를 숙지하고 따라야 합니다. 나중에 참조할 수 있도록 안전 지침을 보관하십시오.

⚠ **경고:** 피하지 못할 경우 사망이나 심각한 부상 및/또는 재산상의 손해를 초래할 수 있는 위험 상황을 의미합니다.

주의: 피하지 못할 경우 재산상의 피해를 초래할 수 있는 잠재적으로 위험한 상황을 의미합니다.

⚠ 경고

인간 또는 동물의 상태를 진단하는 데 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*를 사용해서는 안 됩니다.

사용자는 반드시 적절한 최신 시험 기법의 적용에 있어 담당 직원의 교육을 실시해야 합니다. 예: 우수 실험실 기준[3], ISO/IEC 17025[4] 또는 ISO 7218[5].

오염된 제품의 출고를 초래하는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이려면:

- 계획서를 준수하고 제품 설명서에 명시된 대로 정확하게 시험을 수행하십시오.
- Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*를 보관할 때는 포장 및 제품 설명서에 명시된 바를 따릅니다.
- Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*는 유효 기간까지만 사용해야 합니다.
- 제품 설명서에 따라 Neogen® *캠필로박터* 증균 배양액을 준비합니다.
- Neogen *캠필로박터* 증균 배양액을 오토클레이브하지 마십시오.
- Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*는 내부 또는 제3자가 검증한 식품 및 환경 시료와 함께 사용하십시오.
- Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*에는 내부적으로 또는 제3자가 검증한 표면, 살균제, 프로토콜 및 박테리아 종만 사용하십시오.
- 아릴설포네이트 화합물이 포함된 Neutralizing Buffer를 함유하는 환경 시료의 경우 시험하기 전에 1:2로 희석하십시오 (시료 1을 동량의 멸균 증균액 1에 넣음). Neutralizing Buffer 증균액 10µL를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮기는 방법도 있습니다. 아릴설포네이트 화합물과 함께 Neutralizing Buffer를 함유하는 Neogen® 시료 채취 제품: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G 및 HS2410NB2G.

화학물질 및 생물학적 유해 물질 노출 관련 위험을 줄이려면:

- 교육을 받은 사람의 통제하에 적절하게 준비된 실험실에서 병원성균 시험을 수행하십시오. 배양된 증균 배지 및 장비 또는 배양된 증균 배지에 접촉한 표면에는 인체 건강에 위험을 초래할 수 있을 정도의 병원성균이 들어있을 수 있습니다.
- 시약 및 오염된 시료를 다룰 때는 적절한 보호복과 보안경 착용을 비롯하여 항상 표준 실험실 안전 방침을 준수하십시오.
- 증폭 후 증균 배지 및 Reagent 튜브의 내용물과 접촉하지 않도록 하십시오.
- 증균 시료는 현행 지역/국가/규제 표준에 따라 폐기하십시오.
- Lysis 단계 동안 적절하게 열처리가 되지 않은 시료는 잠재적인 생물학적 위험으로 간주되므로 Neogen 분자 검출기에 절대로 삽입하지 마십시오.

시험을 준비하는 동안 교차 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- (사용자를 보호하고 뉴클레아제의 침투를 막기 위해) 항상 장갑을 착용해야 합니다.

뜨거운 액체에 노출된 경우 가능한 위험을 줄이려면:

- 권장 가열 온도를 초과하지 마십시오.
- 권장 가열 시간을 초과하지 마십시오.
- 적절한 교정된 온도계를 사용하여 Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트 온도를 확인하십시오(예: 부분 침지 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 전체 침지 온도계는 안됨). 온도계는 반드시 Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트의 지정된 장소에 놓아야 합니다.

주의

시험을 준비하는 동안 교차 오염과 관련된 위험을 줄이려면:

- Reagent 펠릿 수화 전에 장갑을 교체하십시오.
- 미세입자를 차단하는 (필터 사용) 멸균된 분자 생물학 등급의 피펫 팁을 이용하는 것이 좋습니다.
- 각 시료 이동 시 새 피펫 팁을 사용하십시오.
- 우수 실험실 관리기준을 적용하여 증균된 시료를 Lysis 튜브로 옮기십시오. 피펫 오염을 방지하려면 중간 분주 단계를 추가해야 할 수도 있습니다. 예를 들어 사용자는 증균된 각 시료를 멸균 튜브로 옮길 수 있습니다.
- 해당되는 경우 살균 램프가 있는 분자생물학 워크스테이션을 사용하십시오.
- 주기적으로 1~5%(v:v 물) 가정용 표백용 용액 또는 DNA 제거 용액으로 실험실 벤치와 장비(피펫, 캡/디캡 도구 등)의 오염을 제거하십시오.

위양성 결과가 발생할 위험을 줄이려면:

- 증폭 후에는 절대 Reagent 튜브를 절대 열지 마십시오.
- 오염된 튜브는 항상 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액에 1시간 동안 담가두었다가 키트 준비 구역과 멀리 떨어진 위치에 폐기합니다.
- 증폭 후 Reagent 튜브는 절대 오토클레이브하지 마십시오.

폐기에 대한 추가 정보 및 현지 규정은 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오.

구체적인 용도나 절차에 대하여 궁금한 점이 있으면 당사 웹 사이트(www.neogen.com)를 방문하거나 현지 Neogen 또는 판매업체로 문의하십시오.

사용자의 책임

사용자는 제품 사용법과 정보를 숙지할 책임이 있습니다. 보다 자세한 정보는 당사의 웹사이트 **www.neogen.com**를 참고하거나 현지 Neogen이나 영업 대리점으로 문의하십시오.

시험 방법을 선택할 때, 시료 추출 방법, 시험 프로토콜, 시료 준비, 취급, 실험 기법, 시료 자체와 같은 외적 요인들이 결과에 영향을 미칠 수 있음을 인식하는 것이 중요합니다.

시험 방법이나 제품을 선택할 때 선택된 시험 방법이 사용자의 기준을 충족할 수 있도록 적합한 매트릭스와 미생물 유발 시험을 사용하여 충분한 수의 시료를 평가하는 것은 사용자의 책임입니다.

또한 사용자는 모든 시험 방법 및 결과가 고객 및 공급자의 요구사항을 충족하는지 판단할 책임이 있습니다.

다른 시험 방법과 마찬가지로 Neogen Food Safety 제품을 사용하여 얻은 결과가 시험된 매트릭스나 프로세스의 품질을 보장하는 것은 아닙니다.

Neogen에서는 다양한 식품 매트릭스 방법 평가에 도움을 드리기 위해 Neogen® 분자 검출 매트릭스 컨트롤 키트를 개발했습니다. 필요한 경우 Neogen 분자 검출 매트릭스 컨트롤(MC)을 이용하여 매트릭스가 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*의 결과에 영향을 미칠 수 있는지 확인할 수 있습니다. 매트릭스를 대표하는 여러 시료를 시험하십시오(예: Neogen 방법 적용 시 또는 원료 또는 프로세스에 변화가 있었던 신규/미상의 매트릭스 시험 시 유효성 검사를 하는 중에 다양한 원천에서 얻은 시료).

매트릭스는 구성이나 프로세스와 같은 내재적 성질이 있는 제품의 종류로 정의할 수 있습니다. 매트릭스 간의 차이점은 매트릭스의 처리 방법 또는 모양(예: 비살균 vs. 저온 살균, 생제품 vs. 건조제품 등)이 미치는 영향처럼 간단합니다.

보증의 한계 / 제한적 구제

개별 제품 포장의 제한적 보증 부분에 명시된 경우를 제외하고, NEOGEN은 상품성 또는 특정 용도 적합성에 대한 보증을 포함한 어떤 명시적이거나 암묵적인 보증도 거부합니다. Neogen Food Safety 제품에 결함이 있을 경우, Neogen이나 그의 공식 판매업체는 자체 판단에 따라 제품을 교체하거나 구매 금액을 환불해 드립니다. 다음은 귀하의 유일한 구제 방법입니다. 제품에서 의심되는 결함이 발견되면 발견일로부터 60일 이내에 Neogen으로 즉시 통지하고, 제품을 Neogen으로 반품해야 합니다. 추가 질문이 있으면 Neogen 담당자 또는 Neogen 공인 대리점에 문의하십시오.

Neogen 책임의 제한

NEOGEN은 수익의 상실을 포함하여 어떤 직접적인, 간접적인, 특별한, 부수적인, 결과적인 손해나 손실에 대해서도 책임지지 않습니다. 법 이론에 따른 Neogen의 책임은 어떤 경우에도 결함이 있다고 주장된 제품의 구매 대금을 초과하지 않습니다.

보관 및 폐기

Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*는 2~8°C(35~47°F)에서 보관하십시오. 동결시키지 마십시오. 보관 중 키트가 빛을 받지 않도록 하십시오. 키트를 열어 보고 호일 파우치가 손상되지 않았는지 확인합니다. 파우치가 손상된 경우 사용하지 마십시오. 개봉 후, 사용하지 않은 Reagent 튜브는 항상 다시 밀봉 가능한 파우치에 건조제와 함께 넣어 보관하여 건조 동결된 시약의 안정성을 유지해야 합니다. 다시 밀봉한 제품은 최대 90일 동안 2~8°C(35~47°F)에서 보관하십시오.

유효 기간이 지난 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*는 사용하지 마십시오. 유효기한과 품목 번호는 상자의 외부 라벨에 기입되어 있습니다. 사용하고 난 증균 배지와 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* 튜브에는 잠재적으로 병원성 물질이 들어 있을 수 있습니다. 시험이 완료되면 현재 업계 표준에 따라 오염 폐기물을 폐기하십시오. 폐기에 대한 추가 정보 및 현지 규정은 안전보건자료(SDS)를 참조하십시오.

사용 지침

모든 지침을 주의 깊게 준수하십시오. 그렇지 않으면 부정확한 결과가 나올 수 있습니다.

주기적으로 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액 또는 DNA 제거 용액으로 실험실 벤치와 장비(피펫, 캡/디캡 도구 등)의 오염을 제거하십시오.

사용자는 “설치 적격성 평가(IQ)/작동 적격성 평가(OQ) 프로토콜 및 Neogen 분자 검출 시스템 지침” 문서[6]에 명시된 대로 Neogen 분자 검출 시스템 작업자 적격성 평가(OQ) 교육을 완료해야 합니다.

배지 준비

제품 설명서에 따라 Neogen® *캠필로박터* 증균 배양액(CE250)을 준비합니다. **사용 전에 배지를 오토클레이브하지 마십시오.** 24시간 이내에 준비된 배지를 사용하십시오. 준비 후 즉시 사용하지 않을 경우에는 준비된 배양액을 빛을 차단한 상태에서 2~8°C[7]로 보관하십시오. 사용 전에 배지가 20~30°C인지 확인하십시오.

시료 수집

Neogen *캠필로박터* 증균 배양액은 가금류 세척 또는 운반 배지에 사용해서는 안 됩니다. 확립된 시료 수집 절차에 따라 시료를 수집하고 운반하십시오.

시료 증균

표 2는 식품 및 환경 시료용 일반 증균 프로토콜에 대한 안내입니다.

다른 시료 추출 프로토콜 또는 희석 비율을 검증하여 이 시험 방법이 사용자의 기준을 충족하도록 하는 것은 사용자의 책임입니다.

시료 준비

a. 지육 세척액 및 날 가금육 부위 세척액

1. 내장을 제거한 날 가금류 지육을 완충된 펩톤수(BPW) 400mL로 1분 동안 세척합니다. 날 가금류 부위를 세척하는 경우, 1.8~2Kg(4lb±10%)의 가금류 부위를 BPW 400mL로 세척합니다[1,8].
2. 지육과 날 가금류 부위는 시료를 세척하기 전에 과도한 액체는 흘려보내 시료 백에 과도한 처리액이 들어가지 않게 하십시오[8].
3. 염화세틸피리디늄(CPC)으로 처리한 가금류는 폴리소르베이트 80 1리터당 5mL(IUPAC: 폴리엑시에틸렌(20) 소르비탄 모노올레이트, CAS 9005-65-6)를 준비된 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액에 추가해야 합니다. 폴리소르베이트 80은 Lysis를 촉진하기 위해 멸균 전에 물에 추가할 수도 있고 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액을 준비하기 전에 증류수에 바로 추가할 수도 있습니다.
4. 멸균 백에 30mL 세척액을 무균 방식으로 옮기고 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액 30mL를 추가합니다.

b. 지육 스폰지

1. 시료를 채취하기 전에, 최대 25mL의 BPW로 시료를 채취하기 전에 시료를 수화해야 합니다[1]. 시료를 운반하는 경우 백이 펴져 있고 2~8°C로 유지되는지 확인합니다.
2. 가금류 지육을 면봉으로 닦거나 스폰지를 사용해서 시료를 수집합니다.
3. 면봉을 멸균 백에 넣고 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액 25mL를 추가합니다. 면봉이나 스폰지가 증균 배지로 덮여 있는지 확인합니다.

c. 날 가금류 제품

1. 무게 325±32.5g의 시료를 멸균 백에 무균 방식으로 넣습니다. BPW 1625±32.5mL를 날 가금류 제품에 추가합니다. 뭉친 부분을 풀어주기 위해 잠시 손으로 마사지해서 혼합물을 잘 섞습니다.
2. 혼합 후 날 가금류 제품 30mL를 멸균 백에 추가한 다음 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액 30mL를 추가하여 잘 섞습니다.

d. 날고기 및 즉석섭취 육류

1. 무게 25g의 시료를 멸균 백에 무균 방식으로 넣습니다. 시료 추출 촉진을 위해 필터 백을 권장합니다.
2. Neogen *캠필로박터* 증균 배양액 225mL를 추가합니다.
3. 손으로 마사지해서 뭉친 부분을 풀어주고 섞을 때 기포가 생기는 것을 방지합니다. 백을 스토마킹하거나 혼합하지 마십시오.

e. 1차 생산 중 신발 커버

1. 확립된 시료 수집 절차에 따라 신발 커버나 덧신을 신고 시료를 채취합니다.
2. 한쪽을 멸균 백에 넣고 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액 100mL를 추가합니다.

f. 면봉 채취

1. 확립된 시료 수집 절차에 따라 미리 적셔둔 면봉 기구로 시료를 채취합니다.
2. 면봉을 멸균 백에 넣고 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액 100mL를 추가합니다.

증균 배양

1. 백을 펴서 공간과 공기를 최소화하고 증균이 공기에 노출되는 것을 방지합니다. 약 10±2초 동안 백을 부드럽게 마사지합니다. **백을 스토마킹하거나 혼합하지 말고 섞을 때 기포가 생기는 것을 해야 합니다.**
2. 41.5±1°C에서 호기성 방식으로 백을 배양하고, 적절한 배양 시간은 표 2를 참조하십시오.

경고: 스폰지용 수화 용액으로 아릴설포네이트 화합물을 함유하는 Neutralizing Buffer를 사용하기로 선택하는 경우, 오염된 제품 출고를 초래하는 위음성 결과와 관련된 위험을 줄이려면 시험 전에 증균된 환경 시료를 1: 2로 희석해야 합니다(시료 1을 동량의 멸균 증균 배지 1에 넣음). Neutralizing Buffer 증균액 10µL를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮기는 방법도 있습니다.

다른 시료 추출 프로토콜 또는 희석 비율을 검증하여 이 시험 방법이 사용자의 기준을 충족하도록 하는 것은 사용자의 책임입니다.

표 2. 일반 증균 프로토콜.

시료 매트릭스	시료 크기	Neogen *캠필로박터* 증균 배양액(mL)[b]	증균 온도 (±1°C)	증균 시간 (hr)	시료 분석량 (µL)[c]
• 지육 세척[a] • 가금류 부위 세척[a]	BPW 세척액 30mL	30	41.5	22~26	20
• 지육 스폰지[a]	BPW 25mL로 미리 적셔둔 스폰지 1개	25	41.5	22~26	20
• 날고기 • 인스턴트 육류	25g	225	41.5	24~28	20
• 1차 생산 중 신발 커버	신발 커버 1켤레	100	41.5	22~26	20
• 1차 생산 중 면봉 채취	미리 적셔 둔 기구 1개	100	41.5	22~26	20

(a) 가금류를 염화세틸피리디늄(CPC)으로 처리한 경우, 1리터당 5mL(폴리소르베이트 80; IUPAC: 폴리엑시에틸렌(20) 소르비탄 모노올레이트, CAS 9005-65-6)를 준비된 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액에 추가해야 합니다. 폴리소르베이트 80은 멸균 전에 물에 추가할 수도 있고 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액을 준비하기 전에 증류수에 추가할 수도 있습니다.

(b) Neogen *캠필로박터* 증균 배양액은 준비하고 24시간 이내에 사용해야 합니다. 배지는 사용 전에 주변 온도(25~30°C)가 되어야 합니다.

(c) 분석을 위해 증균 시료를 수집하기 전에 백의 하단을 부드럽게 마사지합니다. **시료를 수집한 후 백을 펴서 증균이 공기에 노출되는 것을 방지합니다.** 재시험 또는 확인 단계를 위해 추가 시료가 필요할 수 있습니다.

검증 방법 관련 상세 설명

AOAC® Performance Tested℠(PTM) 인증서 #111803



AOAC Research Institute PTM℠ 연구에서, Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터*는 *캠필로박터* 검출에 효과적인 방법이라는 점이 밝혀졌습니다. 이 연구에서 실험된 매트릭스는 표 3에 나와 있습니다.

표 3. AOAC PTM℠ 인증서 #111803에 따른 증균 프로토콜.

시료 매트릭스	시료 크기	Neogen *캠필로박터* 증균 배양액(mL)[C]	증균 온도 (±1°C)	증균 시간 (hr)	시료 분석량 (µL)[d]
BPW 400mL로 세척한 전체 지육[a] [b]	BPW 세척액 30mL	30	41.5	22~26	20
BPW 400mL로 세척한 가금류 부위(1.8~2kg)[a] [b]	BPW 세척액 30mL	30	41.5	22~26	20
칠면조 지육 스폰지[a] [b]	BPW 25mL로 미리 적셔둔 스폰지 1개	25	41.5	24~26	20
BPW 1625±32.5mL로 세척한 날 가금류 간 것 (325±32.5g)[b]	BPW 제품 혼합물 30mL	30	41.5	24~28	20
치킨 너겟	25g	225	41.5	24~28	20

(a) 가금류를 염화세틸피리디늄(CPC)으로 처리한 경우, 1리터당 5mL(폴리소르베이트 80; IUPAC: 폴리엑시에틸렌(20) 소르비탄 모노올레이트, CAS 9005-65-6)를 준비된 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액에 추가해야 합니다. 폴리소르베이트 80은 멸균 전에 물에 추가할 수도 있고 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액을 준비하기 전에 증류수에 추가할 수도 있습니다.

(b) 또는, 이 매트릭스를 미호기성 조건에서 2X 무혈청 Bolton 증균 배양액(BF-BEB) 30mL로 48±2h 동안 42±1.0°C에서 증균할 수도 있습니다. 시료 20µL를 Neogen Lysis Solution으로 옮깁니다.

(c) Neogen *캠필로박터* 증균 배양액은 준비하고 24시간 이내에 사용해야 합니다. 배지는 사용 전에 주변 온도(25~30°C)가 되어야 합니다.

(d) 분석을 위해 증균 시료를 수집하기 전에 백의 하단을 부드럽게 마사지합니다. **시료를 수집한 후 백을 펴서 증균이 공기에 노출되는 것을 방지합니다.** 재시험 또는 확인 단계를 위해 추가 시료가 필요할 수 있습니다.

Neogen® 분자 검출 간편 장착 트레이 준비

1. 1~5%(v:v 물) 가정용 표백 용액을 천 또는 1회용 타월에 적셔 Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이를 닦습니다.
2. 물로 Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이를 헹굽니다.
3. 1회용 타월을 사용하여 Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이를 닦아서 말립니다.
4. 사용하기 전에 Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이가 마른 상태인지 확인하십시오.

Neogen® 분자 검출 냉각 블록 인서트 준비

Neogen 분자 검출 냉각 블록 인서트를 바로 실험실 벤치에 놓아야 합니다. Neogen 분자 검출 냉각 블록 트레이를 사용하지 않습니다. 주변 실험실 온도(20~25°C)에서 블록을 사용합니다.

Neogen® 분자 검출 히팅 블록 인서트 준비

건조 이중 블록 히터 장치에 Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트를 놓습니다. 건조 블록 히터 장치를 켜고 Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트가 100±1°C를 유지할 수 있도록 합니다.

참고: 히터 장치에 따라, Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트가 온도에 도달하는 데 약 30분이 걸릴 수 있습니다. 적절한 교정된 온도계(예: 부분 침지 온도계 또는 디지털 열전대 온도계. 전체 침지 온도계는 아님)를 지정된 위치에 놓아 Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트의 온도가 100±1°C인지 확인합니다.

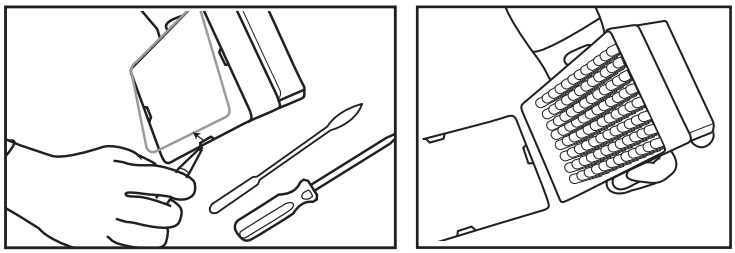
Neogen® 분자 검출기 준비

1. Neogen® 분자 검출 소프트웨어를 실행하고 로그인합니다. Neogen Food Safety 담당자에게 문의하여 이 소프트웨어가 최신 버전인지 확인하십시오.
2. Neogen 분자 검출기를 켭니다.
3. 각 시료에 대한 데이터를 포함하는 실행을 만들거나 편집합니다. 자세한 내용은 Neogen 분자 검출 시스템 사용 설명서를 참조하십시오.

참고: 반응 튜브를 포함한 Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이를 삽입하기 전에 Neogen 분자 검출기가 준비 상태에 도달해야 합니다. 이 가열 단계는 약 20분이 걸리며 완료되면 기기의 상태 표시줄에 주황색 등이 켜집니다. 기기가 실행할 준비가 되면 상태 표시줄이 녹색으로 바뀝니다.

Lysis

Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트에 부착하기 전에 스크루드라이버로 Neogen Lysis Solution 랙의 하단을 제거합니다.



1. 랙을 주변 온도(20~25°C)에서 하룻밤 동안(16~18시간) 두어 Neogen Lysis Solution 튜브를 예열합니다. Neogen Lysis Solution 튜브를 주변 온도로 평형시키는 또 다른 방법은 최소 2시간 동안 실험실 벤치에 Neogen Lysis Solution 튜브를 두거나, 37±1°C 배양기에 1시간 동안 Neogen Lysis Solution 튜브를 배양하거나 100°C의 건조한 이중 블록 히터에 30초간 두는 것입니다.
2. 캡을 씌운 튜브를 뒤집어 섞습니다. 뒤집은 다음 4시간 이내에 다음 단계를 진행하십시오.
3. **배양기에서 증균된 시료를 꺼냅니다.**
   3.1.1 시료를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮기기 전에 증균 백의 하단을 부드럽게 마사지합니다.
   3.1.2 재시험 또는 확인 단계를 위해 추가 시료가 필요할 수 있습니다. 시료를 수집한 후 백을 펴서 공간과 공기를 최소화하고 증균이 공기에 노출되는 것을 방지합니다. 추정 결과의 확정이 필요한 경우, 추정 결과를 확인하는 즉시 확정 단계를 진행합니다.
4. 각 시료와 NC 시료(멸균 증균 배지)에 Neogen Lysis Solution 튜브 1개가 필요합니다.
   4.1 Neogen Lysis Solution 튜브 스트립을 원하는 튜브 수로 자를 수 있습니다. 필요한 튜브 또는 8개들이 튜브 스트립 수를 선택합니다. Neogen Lysis Solution 튜브를 빈 랙에 놓습니다.
   4.2 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 하나씩 Neogen Lysis Solution 튜브 스트립의 캡을 벗기고 각 분주 단계에 새 피펫 팁을 사용합니다.

4.3 아래 설명된 대로, 증균된 시료를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮깁니다.

각 증균된 시료를 개별 Neogen Lysis Solution 튜브로 **먼저** 옮깁니다. NC를 **마지막**으로 옮깁니다.

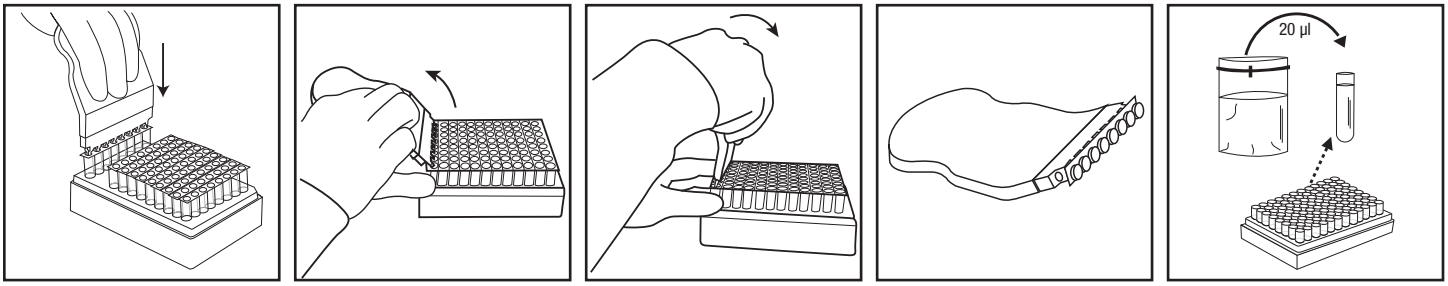
4.4 Neogen® 분자 검출 Lysis Cap/Decap Tool을 사용하여 한 번에 스트립 하나씩, Neogen Lysis Solution 튜브 스트립 1개의 캡을 벗깁니다.

4.5 Neogen Lysis Solution 튜브 캡 폐기 – 재시험을 위해 Lysate을 그대로 둘 경우 캡을 깨끗한 용기에 두어 Lysis 후 다시 사용할 수 있도록 합니다.

4.5.1 보존된 Lysate 처리에 대해서는 부록 A를 참조하십시오.

4.6 시료 20µL를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮깁니다.

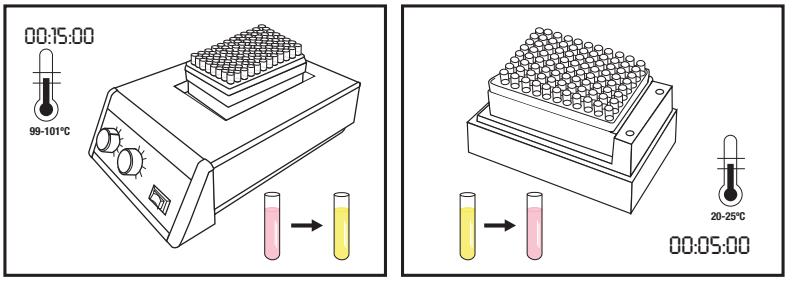
5. 시험할 시료 수에 대해, 필요한 만큼 4.4~4.6단계를 반복합니다.



6. 모든 시료를 옮겼을 때 NC(멸균 증균 배지, 예: BPW) 20µL를 Neogen Lysis Solution 튜브로 옮깁니다. 물을 NC로 사용하지 마십시오.
7. Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트의 온도가 100±1°C인지 확인합니다.
8. 덮개를 씌우지 않은 Neogen Lysis Solution 튜브의 랙을 Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트에 놓고 15±1분 동안 가열합니다. 가열 중 Neogen Lysis Solution 용액은 분홍색(차가움)에서 노란색(뜨거움)으로 바뀝니다.

8.1 Lysis 단계 동안 적절하게 열처리가 되지 않은 시료는 잠재적인 생물학적 위험으로 간주되어 Neogen 분자 검출기에 절대로 삽입하지 마십시오.

9. 덮개를 씌우지 않은 Neogen Lysis Solution 튜브의 랙을 Neogen 분자 검출 히팅 블록에서 제거하고 Neogen 분자 검출 냉각 블록 인서트에 최소 5분, 최대 10분 냉각시킵니다. Neogen 분자 검출 냉각 블록 인서트는 Neogen® 분자 검출 냉각 블록 트레이 없이 상온에서 바로 실험실 벤치에 놓아야 합니다. 식었으면 Neogen Lysis Solution이 분홍색으로 다시 바뀝니다.
10. Neogen Lysis Solution 튜브의 랙을 Neogen 분자 검출 냉각 블록 인서트에서 제거합니다.



증폭

1. 각 시료와 NC를 위해 1개의 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브가 필요합니다.

1.1 튜브 스트립을 원하는 튜브 개수로 자를 수 있습니다. 개별 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브 또는 필요한 8개들이 튜브 스트립 수를 선택합니다.

1.2 튜브를 빈 랙에 놓습니다.

1.3 튜브 맨 아래 시약 알갱이를 휘젓지 마십시오.

2. 하나의 Neogen Reagent 컨트롤 튜브를 선택하고 랙에 놓습니다.
3. 교차 오염을 방지하기 위해 한 번에 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브 스트립 1개의 캡을 벗기고 각 분주 단계마다 새 피펫 팁을 사용합니다.
4. 아래 설명된 대로 각 Lysate을 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브 및 Neogen Reagent 컨트롤 튜브로 옮깁니다.

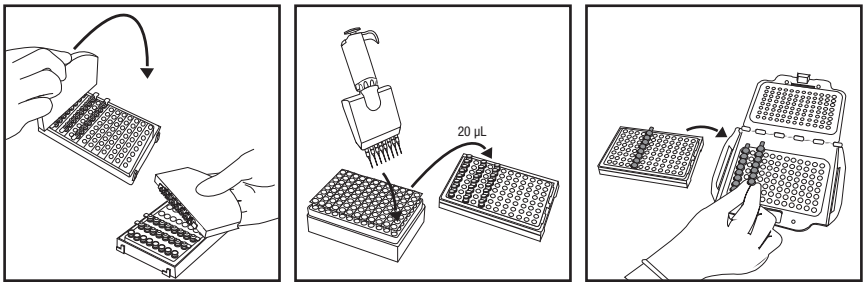
각 시료 Lysate을 개별 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브로 **먼저** 옮긴 뒤 NC를 옮기십시오. **마지막**에 Neogen Reagent 컨트롤 튜브를 수화합니다.

5. Neogen® 분자 검출 Reagent Cap/Decap Tool를 사용하여 한 번에 스트립 하나씩 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브의 캡을 벗깁니다. 캡을 버리십시오.

5.1 **Neogen Lysis Solution 튜브에서 용액의 상부 ½에서 시료 Lysate 20µL를 침전되지 않도록 하여 해당 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브로 옮깁니다. 알갱이가 휘저어져 섞이지 않도록 기울여 붓습니다. 위아래로 가볍게 5번을 피펫팅하여 섞습니다.**

5.2 개별 시료 Lysate이 스트립의 해당 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브에 추가될 때까지 5.1단계를 반복합니다.
5.3 제공된 여분의 마개로 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브를 덮고, Neogen 분자 검출 Reagent Cap/Decap Tool의 둥근 면을 사용하여 앞뒤로 압력을 가하여 캡이 단단히 닫혀 있는지 확인하십시오.
5.4 시험할 시료 수에 대해, 필요한 만큼 5.1~5.3단계를 반복합니다.
5.5 모든 시료 Lysate을 옮긴 후 5.1~5.3단계를 반복하여 NC Lysate 20µL를 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent 튜브로 옮깁니다.
5.6 **NC Lysate 20µL**를 **Neogen Reagent 컨트롤 튜브**로 옮깁니다. 알갱이가 휘저어져 섞이지 않도록 기울여 붓습니다. 위아래로 가볍게 5번을 피펫팅하여 섞습니다.

6. 캡이 씌워진 튜브를 깨끗하고 오염되지 않은 Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이에 내려놓습니다. Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이 뚜껑을 닫고 걸쇠로 잠급니다.



7. Neogen 분자 검출 소프트웨어에서 구성된 실행을 검토하고 확인합니다.
8. 소프트웨어에서 시작 버튼을 클릭하고 사용할 기기를 선택합니다. 선택한 기기의 뚜껑이 자동으로 열립니다.
9. Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이를 Neogen 분자 검출기에 놓고 뚜껑을 닫으면 시험이 시작됩니다. 결과는 60분 이내에 제공되지만 양성 여부는 더 일찍 검출할 수 있습니다.
10. 시험이 완료되었으면 Neogen 분자 검출기에서 Neogen 분자 검출 간편 장착 트레이를 꺼내고 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액에 1시간 동안 담갔다가 분석 준비 영역에서 떨어진 곳에 폐기하십시오.

주의: 교차 오염으로 인한 위양성의 위험을 최소화하려면 증폭된 DNA를 함유한 Reagent 튜브를 절대 열지 마십시오. 여기에는 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* Reagent, Neogen Reagent 컨트롤 및 Neogen 매트릭스 컨트롤 튜브가 포함됩니다. 밀봉된 Reagent 튜브는 1~5%(v:v 물)의 가정용 표백 용액에 1시간 동안 담가 두었다가 키트 준비 구역과 멀리 떨어진 위치에 폐기합니다.

결과 및 해석

알고리즘은 핵산 증폭을 탐지할 때 생성되는 빛 출력 곡선을 해석합니다. 결과는 소프트웨어에 의해 자동으로 분석되고 결과에 기반하여 색상으로 구분됩니다. 양성 또는 음성 결과는 다양한 고유 곡선 매개변수의 분석으로 판별됩니다. 추정 양성 결과는 실시간으로 보고되는 반면, 음성 결과는 실행이 완료된 후 표시됩니다.

양성으로 추정되는 시료는 1차 Neogen *캠필로박터* 증균 배양액 증균에서 미호기성 배양을 통해 선택적 *캠필로박터* 플레이트로 이전하는 것에서 시작하여 적절한 생화학적, 현미경 이용 및 혈청학적 방법으로 분리균 확인을 실시하는 등 실험실 표준 운영 절차 또는 적절한 참고 방법 확인[1,2]을 통해 확인해야 합니다. 최상의 증균 유지를 위해 시료를 수집한 후 증균 백을 펴 주십시오.

참고: 시스템과 Neogen 분자검출키트 2 - *캠필로박터* 증폭 시약은 "배경" RLU 를 가지므로 음성 시료도 0을 기록값으로 제공하지 않습니다.

이례적인 빛 출력이 나타나는 경우, 알고리즘은 이를 검사(Inspect)로 분류합니다. Neogen은 모든 검사 시료에 대해 분석을 반복하는 것을 권장합니다. 결과가 계속 검사인 경우, 기본 설정한 방법을 사용하거나 현지 규정에 따라 확정 시험을 진행하십시오[1,2].

부록 A. 시험 계획서 중단: 열처리된 Lysate 보관 및 재시험

1. 열처리된 Lysate를 보관하려면 깨끗한 캡으로 Neogen Lysis Solution 튜브를 다시 씌웁니다(Lysis 섹션, 4.5 참조).
2. 2~8°C에서 최대 72시간 동안 보관합니다.
3. 2~3번 뒤집어서 혼합하여 보관된 시료를 증폭하도록 준비합니다.
4. 튜브의 캡을 벗깁니다.
5. Neogen 분자 검출 히팅 블록 인서트에 혼합된 Lysate 튜브를 놓고 100±1°C에서 5±1분간 가열합니다.
6. Neogen Lysis Solution 튜브의 랙을 Neogen 분자 검출 히팅 블록에서 제거하고 Neogen 분자 검출 냉각 블록 인서트에 최소 5분, 최대 10분 냉각시킵니다.
7. 위에서 상세히 설명한 **증폭** 섹션의 프로토콜을 계속합니다.

참고자료:

1. 미생물학 실험실 가이드북. 미국 농림부(USDA) 식품안전검사국(FSIS) 미생물학 실험실 가이드북 41.04. 가금류 헹굼제, 스폰지 및 미가공 제품 시료에서 *캠필로박터 제주니/콜리/라리* 분리 및 식별. 2016년 8월 1일.
2. ISO 10272-1. 먹이 사슬의 미생물학 – *캠필로박터 spp*의 검출 및 계수를 위한 수평 방법. 파트 1. 검출 방법.
3. 미국식품의약국. 미연방 규정, 제 21조, 파트 58. 비임상 실험 연구에 대한 우수 실험실 기준.
4. ISO/IEC 17025. 시험 및 검정 실험실 역량에 대한 일반 요구 사항.
5. ISO 7218. 식품 및 동물 사료류의 미생물학 – 미생물학적 시험 관련 일반 규칙.
6. Neogen 설치 적격성 평가(IQ)/작동 적격성 평가(OQ) 프로토콜 및 Neogen 분자 검출 시스템 지침. 본 문서의 사본을 얻으려면 Neogen Food Safety 담당자에게 문의하십시오.
7. ISO 11133. 식품, 동물 사료 및 물의 미생물학 - 배지의 준비, 생산, 보관 및 성능 시험.
8. 미국 농림부(USDA). 식품안전검사국(FSIS) 지침 10, 250.1. 날고기 및 가금류 제품에 대한 *살모넬라* 및 *캠필로박터* 검사 프로그램. 2013년 9월 20일

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A

NEOGEN

Petunjuk Produk

Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter*

Deskripsi Produk dan Maksud Penggunaan

Neogen® Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* digunakan dengan Sistem Deteksi Molekuler Neogen® untuk mendeteksi *Campylobacter jejuni, Campylobacter lari,* dan *Campylobacter coli* secara cepat dan spesifik, dalam sampel makanan yang diperkaya dan di lingkungan pengolahan makanan.

Neogen Deteksi Molekuler untuk Pengujian menggunakan amplifikasi isotermal termediasi loop untuk menguatkan secara cepat rangkaian asam nukleat dengan kekhususan dan kepekaan tinggi, dikombinasikan dengan bioluminesens untuk mendeteksi amplifikasi. Hasil yang dianggap positif dilaporkan secara aktual, sedangkan hasil yang negatif akan ditampilkan setelah pengujian selesai. Hasil yang diduga positif harus dikonfirmasi menggunakan metode pilihan atau yang sesuai dengan peraturan setempat [1,2].

Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* ditujukan untuk penggunaan di lingkungan laboratorium oleh tenaga profesional yang terlatih dalam teknik laboratorium. Neogen tidak mendokumentasikan penggunaan produk ini dalam industri selain makanan atau minuman. Contohnya, Neogen belum mendokumentasikan produk ini untuk menguji sampel farmasi, kosmetik, klinis, atau veterinari. Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* belum dievaluasi untuk semua produk makanan, pengolahan makanan, protokol pengujian, atau semua strain bakteri yang mungkin ada.

Seperti semua metode uji, sumber, formulasi dan kualitas medium pengayaan bisa memengaruhi hasil. Faktor seperti metode pengambilan sampel, protokol pengujian, persiapan sampel, penanganan, dan teknik laboratorium juga dapat memengaruhi hasil. Neogen merekomendasikan untuk melakukan evaluasi metode, termasuk medium pengayaan, dalam lingkungan pengguna dengan menggunakan sejumlah sampel yang memadai dengan uji makanan dan mikroba tertentu untuk memastikan bahwa metode memenuhi kriteria pengguna.

Neogen telah mengevaluasi Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* dengan Neogen® Larutan/Media Cair Pengayaan *Campylobacter* dan Larutan/Media Cair Pengayaan Bolton bebas gula.

Instrumen Deteksi Molekuler Neogen® dimaksudkan untuk digunakan pada sampel yang telah dipanaskan selama tahap pengujian lisis, yang dirancang untuk mematikan organisme yang ada di dalam sampel tersebut. Sampel yang belum dipanaskan dengan benar selama tahap pengujian lisis dapat dianggap sebagai potensi bahaya biologis dan TIDAK BOLEH dimasukkan ke dalam Instrumen Deteksi Molekuler Neogen.

Penguji Keamanan Makanan Neogen sesuai dengan sertifikasi ISO (International Organization for Standardization) 9001 dalam hal desain dan manufaktur.

Kit uji Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk Pengujian *Campylobacter* berisi 96 tes, yang diuraikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Neogen Deteksi Molekuler untuk Pengujian

Alat	Identifikasi	Jumlah	Isi	Komentar
Larutan Lisis Neogen® (LS)	Larutan merah muda dalam tabung transparan	96 (12 strip kali 8 tabung)	580 µL LS per tabung	Tersusun dalam rak dan siap digunakan
Tabung Reagen Neogen® Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter*	Tabung ungu	96 (3 kantong; berisi 4 strip kali 8 tabung)	Campuran amplifikasi dan deteksi spesifik terliofilisasi	Siap digunakan
Kapsul tambahan	Tutup ungu	96 (12 strip kali 8 kapsul)		Siap digunakan
Kontrol Reagen Neogen® (RC)	Tabung flip-top transparan	16 (2 kantung dari 8 tabung tersendiri)	Campuran kontrol DNA, amplifikasi, dan deteksi terliofilisasi	Siap digunakan

Kontrol Negatif (NC), tidak disediakan dalam kit, adalah media pengayaan steril, misalnya Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*. Jangan gunakan air sebagai NC.

Panduan singkat untuk memulai tersedia di www.neogen.com

Keselamatan

Pengguna harus membaca, memahami, dan mematuhi semua informasi keselamatan dalam petunjuk untuk Sistem Deteksi Molekuler Neogen dan Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk Pengujian *Campylobacter*. Simpanlah petunjuk keselamatan tersebut untuk referensi pada masa mendatang.

⚠ **PERINGATAN:** Menandakan situasi berbahaya, yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan kematian atau cedera serius dan/atau kerusakan harta benda.

PERHATIAN: Menandakan situasi yang berpotensi bahaya yang, apabila tidak dihindari, dapat menyebabkan kerusakan harta benda.

⚠ PERINGATAN

Jangan gunakan Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* untuk mendiagnosis kondisi manusia atau hewan.

Pengguna harus melatih personelnya dalam teknik pengujian yang tepat saat ini; misalnya, Praktik Laboratorium yang Baik[3], ISO/IEC 17025[4], atau ISO 7218[5].

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil negatif palsu yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi:

- Patuhi protokol dan lakukan pengujian dengan tepat seperti yang tercantum dalam petunjuk produk.
- Simpan Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* sesuai yang tercantum pada kemasan dan petunjuk produk.
- Selalu gunakan Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* sebelum tanggal kedaluwarsa.
- Siapkan Neogen® Larutan/Media Cair Pengayaan *Campylobacter* dengan mengikuti petunjuk produk
- Jangan sterilkan Neogen Larutan/Media Cair Pengayaan *Campylobacter* menggunakan autoklaf
- Gunakan Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* dengan sampel makanan dan lingkungan yang telah divalidasi secara internal atau oleh pihak ketiga.
- Gunakan Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* hanya dengan permukaan, sanitiser, protokol, dan strain bakteri yang telah divalidasi secara internal atau oleh pihak ketiga.
- Untuk sampel lingkungan yang berisi Penyangga Penetral dengan kompleks aril sulfonat, lakukan pelarutan 1:2 sebelum pengujian (1 bagian sampel dilarutkan dengan 1 bagian larutan/media cair pengayaan steril). Opsi lain adalah dengan memindahkan 10 µL pengayaan penyangga penetral ke dalam tabung Larutan Lisis Neogen. Produk Penanganan Sampel Neogen® yang berisi Penyangga Penetral dengan senyawa aril sulfonat: RS96010NB, RS9604NB, SSL10NB, SSL10NB2G, HS10NB, HS10NB2G, dan HS2410NB2G.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan paparan terhadap bahan kimia dan bahaya biologis:

- Lakukan pengujian patogen di laboratorium yang memiliki peralatan lengkap di bawah kontrol personel yang telah terlatih. Media dan perlengkapan pengayaan terinkubasi atau permukaan yang telah bersentuhan dengan media pengayaan terinkubasi dapat mengandung patogen pada tingkat yang cukup untuk menimbulkan risiko bagi kesehatan manusia.
- Selalu patuhi praktik keselamatan standar laboratorium, termasuk memakai peralatan pelindung yang benar dan pelindung mata saat menangani reagen dan sampel yang terkontaminasi.
- Hindari kontak dengan isi media pengayaan dan tabung reagen setelah amplifikasi.
- Buang sampel yang telah diperkaya sesuai dengan standar peraturan lokal/regional/nasional yang berlaku.
- Sampel yang belum dipanaskan dengan benar selama tahap pengujian lisis dapat dianggap sebagai potensi bahaya biologis dan TIDAK BOLEH dimasukkan ke dalam Instrumen Deteksi Molekuler Neogen.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan kontaminasi silang saat persiapan pengujian:

- Selalu gunakan sarung tangan (untuk melindungi pengguna dan mencegah timbulnya nuklease).

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan paparan terhadap cairan panas:

- Jangan mengatur suhu pada alat pemanas melebihi batas yang direkomendasikan.
- Jangan melebihi waktu pemanasan yang direkomendasikan.
- Gunakan termometer yang dikalibrasi dan sesuai untuk memverifikasi suhu Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen® (misalnya, termometer yang dimasukkan sebagian atau termometer digital ganda, bukan termometer yang dimasukkan keseluruhan). Termometer harus ditempatkan pada lokasi yang ditentukan dalam Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen.

PERHATIAN

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan kontaminasi silang saat persiapan pengujian:

- Ganti sarung tangan sebelum hidrasi pelet reagen.
- Dianjurkan menggunakan ujung pipet halang aerosol ujung runcing (berfilter) dengan derajat molekuler biologi yang steril.
- Gunakan ujung pipet yang baru setiap kali memindahkan sampel.
- Gunakan Praktik Laboratorium yang Baik untuk memindahkan sampel dari tabung pengayaan ke tabung lisis. Untuk mencegah kontaminasi pipet, pengguna dapat memilih menambahkan langkah perantara dalam proses pemindahan. Misalnya, pengguna dapat memindahkan setiap sampel yang diperkaya ke dalam tabung steril.
- Gunakan stasiun kerja biologi molekuler yang memiliki lampu germisida, jika tersedia.
- Secara berkala bersihkan kontaminasi pada meja dan peralatan laboratorium (pipet, alat pembuka/penutup, dsb.) dengan larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) atau larutan penghilang DNA.

Untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil yang positif salah:

- Jangan sekali-kali membuka tabung reagen setelah amplifikasi.
- Buang tabung yang terkontaminasi dengan merendamnya ke dalam larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) selama 1 jam dan jauhkan dari tempat persiapan pengujian.
- Jangan sterilkan tabung reagen dengan autoklaf setelah amplifikasi.

Baca Lembar Data Keselamatan untuk informasi lain dan peraturan setempat tentang pembuangan.

Apabila Anda memiliki pertanyaan yang spesifik tentang penerapan atau prosedur, silakan kunjungi situs web kami di www.neogen.com atau hubungi perwakilan atau distributor Neogen setempat.

Tanggung Jawab Pengguna

Pengguna wajib memahami petunjuk produk dan informasi. Kunjungi situs web kami di **www.neogen.com** atau hubungi perwakilan atau distributor Neogen setempat untuk mendapatkan informasi selengkapnya.

Saat memilih metode pengujian, penting untuk diketahui bahwa faktor eksternal seperti metode pengambilan sampel, protokol pengujian, persiapan sampel, penanganan, dan teknik laboratorium dapat memengaruhi hasilnya.

Pengguna bertanggung jawab memilih metode atau produk pengujian untuk mengevaluasi sejumlah sampel yang memadai dengan matriks dan ketentuan mikrobial yang tepat untuk memastikan bahwa metode pengujian memenuhi kriteria pengguna.

Pengguna juga wajib menentukan bahwa semua metode dan hasil pengujian memenuhi persyaratan pelanggan dan pemasok.

Seperti halnya semua metode pengujian, hasil yang diperoleh dari penggunaan produk Neogen Food Safety apa pun bukan merupakan jaminan kualitas terhadap matriks atau proses yang diuji.

Untuk membantu pelanggan mengevaluasi metode untuk berbagai matriks makanan, Neogen telah mengembangkan kit Kontrol Matriks Deteksi Molekuler Neogen®. Jika diperlukan, gunakan Kontrol Matriks Deteksi Molekuler Neogen (MC) untuk menentukan apakah matriks memengaruhi hasil Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter*. Uji beberapa Sampel, yang mewakili matriks, yaitu sampel yang diperoleh dari sumber yang berbeda, selama periode validasi mana pun bila mengadopsi metode Neogen atau bila menguji matriks baru atau tidak dikenal atau matriks yang sudah mengalami perubahan bahan mentah atau perubahan proses.

Matriks dapat didefinisikan sebagai suatu tipe produk dengan properti intrinsik seperti komposisi dan proses. Perbedaan antara matriks bisa sama sederhananya dengan dampak yang ditimbulkan karena perbedaan tersebut dalam pemrosesan atau presentasi, misalnya mentah vs. dipasteurisasi; segar vs. dikeringkan, dll.

Batasan Garansi/Penggantian Terbatas

KECUALI SEBAGAIMANA YANG DITENTUKAN DI BAGIAN JAMINAN TERBATAS UNTUK SETIAP KEMASAN PRODUK, NEOGEN TIDAK BERTANGGUNG JAWAB TERHADAP SEMUA GARANSI SECARA TERSURAT MAUPUN TERSIRAT, TERMASUK TETAPI TIDAK TERBATAS PADA, JAMINAN KELAYAKAN JUAL ATAU KESESUAIAN UNTUK PENGGUNAAN TERTENTU. Apabila ada Produk Neogen Food Safety yang cacat, Neogen atau distributor resminya, sesuai kebijakannya, akan mengganti atau mengembalikan uang senilai harga pembelian produk. Hal-hal yang disebutkan di atas merupakan sarana pemulihan hak yang tersedia bagi Anda. Anda harus segera memberitahu Neogen dalam waktu enam puluh hari sejak menemukan adanya dugaan cacat pada produk dan wajib mengembalikannya kepada Neogen. Silakan hubungi perwakilan Neogen Anda atau distributor resmi Neogen untuk pertanyaan lebih lanjut.

Batasan Pertanggungjawaban Neogen

NEOGEN TIDAK BERTANGGUNG JAWAB ATAS SEGALA BENTUK KEHILANGAN ATAU KERUSAKAN, BAIK KERUSAKAN SECARA LANGSUNG, TIDAK LANGSUNG, KHUSUS, INSIDENTAL, MAUPUN KONSEKUENSIAL, TERMASUK TETAPI TIDAK TERBATAS PADA HILANGNYA KEUNTUNGAN. Bagaimanapun juga, sesuai teori hukum mana pun, Neogen tidak akan memberikan penggantian melebihi harga pembelian produk yang diduga cacat.

Penyimpanan dan Pembuangan

Simpan Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* pada suhu 2-8°C (35-47°F). Jangan dibekukan. Jauhkan kit dari cahaya selama penyimpanan. Setelah membuka kit, periksa apakah kantung foil masih utuh. Jangan digunakan jika kantung tersebut rusak. Setelah dibuka, tabung reagen yang tidak digunakan harus selalu disimpan dalam kantung yang dapat direkatkan kembali dan diberi desikan untuk menjaga stabilitas reagen terliofilisasi. Simpan kantong yang telah dibuka pada suhu 2-8°C (35-47°F), selama tidak lebih dari 90 hari.

Jangan gunakan Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* setelah tanggal kedaluwarsa. Tanggal kedaluwarsa dan nomor lot tercantum pada label di bagian luar kotak. Setelah penggunaan, medium pengayaan dan tabung Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* berpotensi mengandung bahan patogen. Setelah pengujian selesai, patuhi standar industri pembuangan limbah yang terkontaminasi yang berlaku saat ini. Baca Lembar Data Keselamatan untuk informasi lain dan peraturan setempat tentang pembuangan.

Petunjuk Penggunaan

Patuhi semua petunjuk dengan saksama. Karena jika tidak, hasilnya mungkin tidak akurat.

Secara berkala, bersihkan kontaminasi pada meja dan peralatan laboratorium (pipet, alat pembuka/penutup, dsb.) dengan larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) atau larutan penghilang DNA.

Pengguna harus menyelesaikan pelatihan kualifikasi operator (OQ) Sistem Deteksi Molekuler Neogen, sebagaimana dijelaskan dalam dokumen “Protokol dan Petunjuk Kualifikasi Pemasangan (IQ)/Kualifikasi Operasional (OQ) untuk Sistem Deteksi Molekuler Neogen”[6].

Persiapan Media

Siapkan Neogen® Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* (CE250) dengan mengikuti petunjuk produk. **Jangan sterilkan media dengan autoklaf sebelum digunakan.** Gunakan media yang telah dipersiapkan dalam waktu 24 jam sejak dipersiapkan. Simpan larutan/media cair yang telah disiapkan pada suhu 2-8°C[7] dan terlindung dari cahaya jika tidak akan segera digunakan sejak dipersiapkan. Pastikan suhu media antara 20-30°C sebelum digunakan.

Pengumpulan Sampel

Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* tidak boleh digunakan untuk memandikan burung atau sebagai media pemindahan. Kumpulkan dan angkut sampel dengan mengikuti prosedur pengumpulan sampel yang telah ditetapkan.

Pengayaan Sampel

Tabel 2 berisi panduan protokol pengayaan umum untuk sampel makanan dan lingkungan.

Pengguna bertanggung jawab memvalidasi protokol pengambilan sampel atau rasio pengenceran alternatif guna memastikan metode pengujian ini memenuhi kriteria pengguna.

Persiapan Sampel

a. Bilasan karkas dan bilasan bagian unggas mentah

1. Bilas satu karkas unggas yang telah dipotong-potong dengan 400 mL air pepton berpenyangga (BPW) selama satu menit. Jika membilas bagian unggas mentah, bilas 1,8 hingga 2 Kg (4 lb ± 10%) bagian unggas dengan 400 mL BPW[1,8].
2. Untuk karkas dan bagian unggas mentah, biarkan sisa cairan menetes sebelum membilas sampel untuk menghindari perpindahan sisa cairan pengolahan ke dalam kantong sampel[8].
3. Untuk unggas yang telah diproses dengan Cetylpyridinium klorida (CPC), Anda perlu menambahkan 5 mL per L Polisorbat 80 (IUPAC: Polioksietilena (20) sorbitan monooleat; CAS 9005-65-6) ke Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* yang telah dipersiapkan. Polisorbat 80 dapat ditambahkan ke air sebelum pensterilan untuk memfasilitasi pelarutan atau dapat ditambahkan langsung ke air steril sebelum menyiapkan Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*.
4. Pindahkan secara aseptis 30 mL bilasan ke kantong steril lalu tambahkan 30 mL Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*.

b. Spons karkas

1. Sebelum pengambilan sampel, spons harus dibasahi dengan BPW sebanyak 25 mL[1]. Jika sampel diangkut, pastikan bahwa kantong digulung dan dijaga pada suhu 2-8°C.
2. Ambil apusan karkas unggas dengan swab atau kumpulkan sampel dengan spons.
3. Masukkan swab ke dalam kantong steril lalu tambahkan 25 mL Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*. Pastikan bahwa swab atau spons tertutup oleh media pengayaan.

c. Produk unggas mentah

1. Timbang 325 ± 32,5 g sampel secara aseptis lalu masukkan ke kantong steril. Tambahkan 1625 ± 32,5 mL BPW ke produk unggas mentah. Untuk mendispersikan gumpalan, aduk merata dengan pijatan tangan secara singkat.
2. Setelah mencampur, tambahkan 30 mL campuran produk unggas mentah ke kantong steril, kemudian tambahkan 30 mL Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* lalu aduk merata.

d. Daging mentah dan siap makan

1. Timbang 25 g sampel secara aseptis lalu masukkan ke kantong steril. Untuk memfasilitasi pengambilan sampel, disarankan menggunakan kantong filter.
2. Tambahkan 225 mL Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*.
3. Pijat dengan tangan untuk memecahkan gumpalan, jangan sampai muncul gelembung ketika mencampur. Jangan proses kantong dengan stomacher atau blender.

e. Swab boot produksi primer

1. Kumpulkan sampel dengan swab atau kaus kaki boot sesuai prosedur pengambilan sampel yang telah ditetapkan.
2. Masukkan SATU kaus kaki ke dalam kantong steril lalu tambahkan 100 mL Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*.

f. Swab seret

1. Kumpulkan sampel dengan perangkat swab yang telah dilembapkan dengan mengikuti prosedur pengambilan sampel yang telah ditetapkan.
2. Masukkan swab ke dalam kantong steril lalu tambahkan 100 mL Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*.

Inkubasi Pengayaan

1. Gulung kantong untuk meminimalkan ruang di atas kantong dan mencegah pengayaan terpapar udara. Pijat kantong dengan lembut selama sekitar 10 ± 2 detik. **Jangan proses kantong dengan stomacher atau blender, dan jangan sampai gelembung terbentuk saat mencampur.**
2. Inkubasi kantong secara aerobik pada suhu 41,5 ± 1°C, lihat tabel 2 untuk waktu inkubasi yang sesuai.

PERINGATAN: Apabila Anda memilih menggunakan penyangga penetral yang mengandung kompleks aril sulfonat sebagai larutan hidrasi untuk spons, diperlukan pelarutan 1:2 (1 bagian sampel dilarutkan dengan 1 bagian larutan/media cair pengayaan steril) pada sampel lingkungan yang diperkaya sebelum pengujian untuk memperkecil risiko dalam kaitannya dengan hasil negatif palsu yang dapat menyebabkan pelepasan produk yang terkontaminasi. Opsi lain adalah dengan memindahkan 10 µL pengayaan Penyangga Penetral ke dalam tabung Larutan Lisis Neogen.

Pengguna bertanggung jawab memvalidasi protokol pengambilan sampel atau rasio pengenceran alternatif guna memastikan metode pengujian ini memenuhi kriteria pengguna.

Tabel 2. Protokol Pengayaan Umum.

Matriks Sampel	Ukuran Sampel	Neogen Larutan/ Media Cair pengayaan *Campylobacter* (mL)[b]	Suhu Pengayaan (± 1°C)	Waktu Pengayaan (jam)	Volume Analisis Sampel (µL)[c]
• Bilasan karkas[a] • Bilasan bagian unggas[a]	30 mL bilasan dalam BPW	30	41,5	22-26	20
• Spons karkas[a]	1 spons yang telah dilembapkan dengan BPW sebanyak 25 mL	25	41,5	22-26	20
• Daging mentah • Daging siap makan	25 g	225	41,5	24-28	20
• Swab boot dari produksi primer	1 swab boot	100	41,5	22-26	20
• Swab seret dari produksi primer	1 perangkat yang telah dilembapkan	100	41,5	22-26	20

(a) Jika unggas diproses dengan Cetylpyridinium klorida (CPC), Anda perlu menambahkan 5 mL per 1 liter (Polisorbat 80; IUPAC: Polioksietilena (20) sorbitan monooleat CAS 9005-65-6) ke Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* yang telah dipersiapkan. Polisorbat 80 dapat ditambahkan ke air sebelum pensterilan atau dapat ditambahkan langsung ke air steril sebelum menyiapkan Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*.

(b) Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* harus digunakan dalam waktu 24 jam sejak dipersiapkan. Media harus berada pada suhu sekitar (25-30°C) sebelum digunakan.

(c) Sebelum mengumpulkan sampel pengayaan untuk analisis, pijat bagian bawah kantong dengan lembut. **Setelah mengumpulkan sampel, gulung kantong untuk mencegah pengayaan terpapar udara.** Sampel tambahan mungkin diperlukan untuk langkah pengujian ulang atau konfirmasi.

Instruksi Spesifik untuk Metode Tervalidasi

AOAC® Performance Tested℠ (PTM) Certificate #111803

PERFORMANCE TESTED AOAC RESEARCH INSTITUTE LICENSE NUMBER 111803

Dalam program AOAC Research Institute PTM℠, Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* diketahui sebagai metode yang efektif untuk mendeteksi *Campylobacter*. Matriks yang diuji dalam kajian ditunjukkan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Protokol Pengayaan Sesuai AOAC PTM℠ Certificate #111803.

Matriks Sampel	Ukuran Sampel	Neogen Larutan/ Media Cair pengayaan *Campylobacter* (mL)[c]	Suhu Pengayaan (± 1°C)	Waktu Pengayaan (jam)	Volume Analisis Sampel (µL)[d]
Karkas utuh dibilas dalam 400 mL BPW[a] [b]	30 mL bilasan dalam BPW	30	41,5	22-26	20
Bagian unggas (1,8 hingga 2 kg) utuh dibilas dalam 400 mL BPW[a] [b]	30 mL bilasan dalam BPW	30	41,5	22-26	20
Karkas kalkun spons[a] [b]	1 spons yang telah dilembapkan dengan BPW sebanyak 25 mL	25	41,5	24-26	20
Unggas giling mentah (325 ± 32,5 g) dibilas dalam 1625 ± 32,5 mL BPW[b]	30 mL campuran produk dalam BPW	30	41,5	24-28	20
Nugget ayam	25 g	225	41,5	24-28	20

(a) Jika unggas diproses dengan Cetylpyridinium klorida (CPC), Anda perlu menambahkan 5 mL per 1 liter (Polisorbat 80; IUPAC: Polioksietilena (20) sorbitan monooleat CAS 9005-65-6) ke Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* yang telah dipersiapkan. Polisorbat 80 dapat ditambahkan ke air sebelum pensterilan atau dapat ditambahkan langsung ke air steril sebelum menyiapkan Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter*.

(b) Sebagai alternatif, matriks ini dapat diperkaya dengan 30 mL 2X Larutan/Media Cair Bolton bebas darah (BF-BEB) selama 48 ± 2 jam pada 42 ± 1,0°C dalam kondisi mikroaerobik. Pindahkan 20 µL sampel ke dalam Larutan Lisis Neogen.

(c) Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* harus digunakan dalam waktu 24 jam sejak dipersiapkan. Media harus berada pada suhu sekitar (25-30°C) sebelum digunakan.

(d) Sebelum mengumpulkan sampel pengayaan untuk analisis, pijat bagian bawah kantong dengan lembut. **Setelah mengumpulkan sampel, gulung kantong untuk mencegah pengayaan terpapar udara.** Sampel tambahan mungkin diperlukan untuk langkah pengujian ulang atau konfirmasi.

Persiapan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen®

1. Basahi kain atau handuk sekali pakai dengan larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) dan seka Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen.
2. Bilas Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen dengan air.
3. Gunakan handuk sekali pakai untuk menyeka Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen hingga kering.
4. Pastikan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen dalam kondisi kering sebelum digunakan.

Persiapan Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler Neogen®

Tempatkan Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler Neogen langsung pada meja laboratorium: Baki Blok Pendingin Deteksi Molekuler Neogen tidak digunakan. Gunakan blok pada suhu ruangan laboratorium (20-25°C).

Persiapan Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen®

Letakkan Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen dalam unit pemanas blok ganda kering. Nyalakan unit pemanas blok kering dan atur suhu agar Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen dapat mencapai dan mempertahankan suhu 100 ± 1°C.

CATATAN: Tergantung pada unit pemanas, tunggu selama sekitar 30 menit hingga Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen mencapai suhu yang diinginkan. Gunakan termometer yang dikalibrasi dan sesuai (misalnya, termometer yang dimasukkan sebagian, termometer digital ganda, bukan termometer yang dimasukkan keseluruhan) yang diletakkan di lokasi yang ditentukan, lakukan verifikasi bahwa Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen berada pada 100 ± 1°C.

Persiapan Instrumen Deteksi Molekuler Neogen®

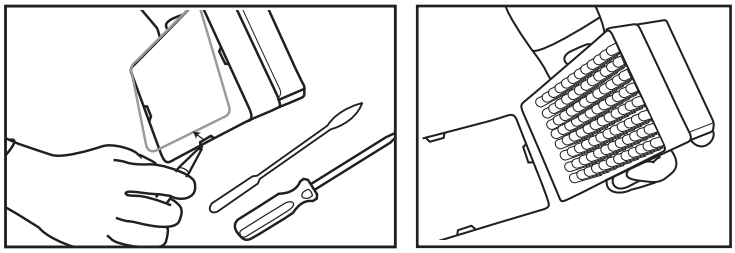
1. Buka Perangkat Lunak Deteksi Molekuler Neogen® kemudian login. Hubungi perwakilan Neogen Food Safety Anda guna memastikan Anda memiliki versi perangkat lunak paling mutakhir.
2. Nyalakan Instrumen Deteksi Molekuler Neogen.

3. Buat atau edit proses dengan data untuk setiap sampel. Baca Panduan Pengguna Sistem Deteksi Molekuler Neogen untuk keterangan lengkap.

CATATAN: Instrumen Deteksi Molekuler Neogen harus berada pada status Siaga sebelum Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen dimasukkan dengan tabung reaksi. Tahap pemanasan ini memerlukan waktu sekitar 20 menit dan ditandai dengan nyala lampu ORANYE pada bilah status instrumen. Setelah instrumen siap digunakan, bilah status akan berubah menjadi HIJAU.

Lisis

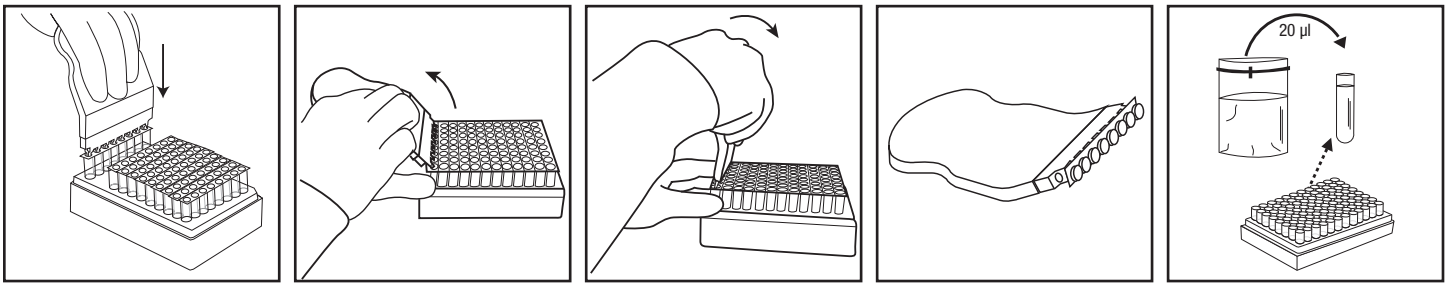
Lepaskan bagian bawah Rak Larutan Lisis Neogen dengan obeng sebelum meletakkannya dalam Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen.



1. Biarkan tabung Larutan Lisis Neogen hangat dengan menyetel rak pada suhu kamar (20-25°C) semalam (16-18 jam). Alternatif untuk menyeimbangkan tabung Larutan Lisis Neogen pada suhu kamar adalah meletakkan tabung Larutan Lisis Neogen di meja laboratorium sedikitnya selama 2 jam, inkubasi tabung Larutan Lisis Neogen dalam inkubator 37 ± 1°C selama 1 jam atau letakkan di dalam pemanas blok ganda kering selama 30 detik pada suhu 100°C.
2. Balikkan tabung dalam kondisi tertutup agar isinya tercampur. Lanjutkan ke langkah berikutnya dalam waktu 4 jam setelah dibalik.
3. **Buang sampel pengayaan dari inkubator.**
   3.1.1 Pijat bagian bawah kantong pengayaan sebelum memindahkan sampel ke tabung Larutan Lisis Neogen.
   3.1.2 Sampel tambahan mungkin diperlukan untuk langkah pengujian ulang atau konfirmasi. Setelah mengumpulkan sampel, gulung kantong untuk meminimalkan ruang di atas kantong dan mencegah pengayaan terpapar udara. Jika konfirmasi dugaan hasil diperlukan, lanjutkan dengan langkah konfirmasi segera setelah dugaan hasil diperoleh.
4. Satu tabung Larutan Lisis Neogen dibutuhkan untuk setiap sampel dan sampel NC (media pengayaan steril).
   4.1 Strip tabung Larutan Lisis Neogen dapat dipotong sesuai jumlah tabung yang diinginkan. Pilih jumlah tabung atau strip 8 tabung yang dibutuhkan. Letakkan tabung Larutan Lisis Neogen pada rak kosong.
   4.2 Untuk menghindari kontaminasi silang, buka tutup satu strip tabung Larutan Lisis Neogen satu per satu dan gunakan ujung pipet baru untuk setiap tahap pemindahan.
   4.3 Pindahkan sampel yang diperkaya ke tabung Larutan Lisis Neogen sesuai petunjuk di bawah ini:

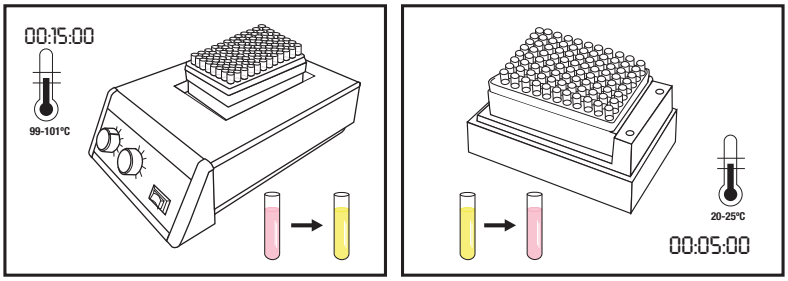
   Pindahkan setiap sampel yang diperkaya ke tabung Larutan Lisis Neogen tersendiri **terlebih dahulu**. Pindahkan NC **paling akhir**.

   4.4 Gunakan Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler Neogen® - Lisis untuk membuka tabung Larutan Lisis Neogen - satu per satu strip.
   4.5 Buang penutup tabung Larutan Lisis Neogen – Jika lisat akan disimpan untuk pengujian ulang, letakkan penutup ke dalam wadah bersih untuk penggunaan ulang setelah lisis.
   4.5.1 Untuk memproses lisat yang disimpan, lihat Apendiks A.
   4.6 Pindahkan 20 µL sampel ke dalam tabung Larutan Lisis Neogen.
5. Ulangi langkah 4.4 hingga 4.6 sesuai keperluan, sesuai jumlah sampel yang akan diuji.



6. Setelah memindahkan semua sampel, pindahkan 20 µL NC (media pengayaan steril, misalnya BPW) ke dalam tabung Larutan Lisis Neogen. Jangan gunakan air sebagai NC.

7. Pastikan bahwa suhu Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen berada pada 100 ± 1°C.
8. Letakkan rak tabung Larutan Lisis Neogen yang tidak tertutup di dalam Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen lalu panaskan selama 15 ± 1 menit. Selama pemanasan, Larutan Lisis Neogen akan berubah dari merah muda (dingin) menjadi kuning (panas).
   8.1 Sampel yang belum dipanaskan dengan benar selama tahap pengujian lisis dapat dianggap sebagai potensi bahaya biologis dan TIDAK BOLEH dimasukkan ke dalam Instrumen Deteksi Molekuler Neogen.
9. Keluarkan rak tabung Larutan Lisis Neogen yang tidak tertutup dari Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen lalu biarkan sampai dingin di dalam Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler Neogen selama minimal 5 menit dan maksimal 10 menit. Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler Neogen, yang digunakan pada suhu kamar tanpa Baki Blok Pendingin Deteksi Molekuler Neogen®, harus diletakkan langsung di meja laboratorium. Ketika dingin, Larutan Lisis Neogen akan kembali berwarna merah muda.
10. Keluarkan rak tabung Larutan Lisis Neogen dari Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler Neogen.



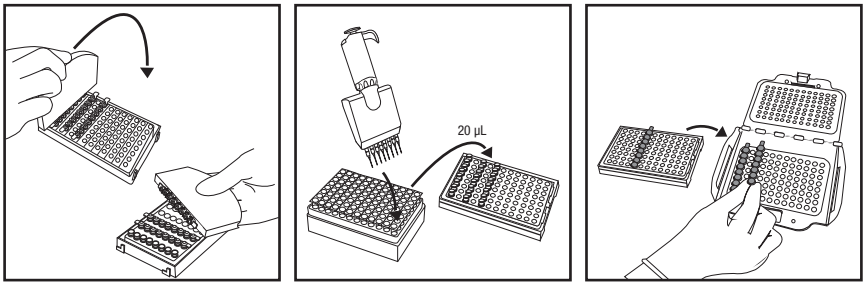
Amplifikasi

1. Satu Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* diperlukan untuk setiap sampel dan NC.
   1.1 Strip tabung SR dapat dipotong sesuai jumlah tabung yang diinginkan. Pilih jumlah Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* atau strip 8 tabung yang dibutuhkan.
   1.2 Letakkan tabung di rak yang kosong.
   1.3 Jangan sampai mengguncang pelet reagen di bagian bawah tabung.
2. Pilih satu Tabung Kontrol Reagen Neogen lalu letakkan di rak.
3. Untuk menghindari kontaminasi silang, buka tutup satu strip Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* satu demi satu dan gunakan ujung pipet baru untuk setiap tahap pemindahan.
4. Pindahkan setiap lisat ke Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* dan Tabung Kontrol Reagen Neogen sebagaimana dijelaskan di bawah:

Pindahkan setiap sampel lisat ke setiap Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* **terlebih dahulu,** diikuti dengan NC. Basahi Tabung Kontrol Reagen Neogen **paling akhir**.

5. Gunakan Reagen-Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler Neogen® untuk membuka Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* strip demi strip. Buang penutup.
   5.1 **Pindahkan 20 µL sampel lisat dari ½ atas cairan (hindari pengendapan) dalam Tabung Larutan Lisis Neogen ke dalam Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* yang terkait. Semprotkan dengan kemiringan tertentu sehingga tidak mengganggu pelet. Campurkan dengan cara menyedot dan menyemprotkan perlahan-lahan sebanyak 5 kali.**
   5.2 Ulangi langkah 5.1 sampai setiap sampel lisat telah ditambahkan ke Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk Pengujian *Campylobacter* dalam strip.
   5.3 Tutup Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* dengan tutup tambahan yang tersedia dan gunakan sisi bulat pada Alat Penutup/Pembuka Deteksi Molekuler Neogen - Reagen untuk memberikan tekanan dengan bergerak maju-mundur guna memastikan bahwa tutup sudah terpasang rapat.
   5.4 Ulangi langkah 5.1 hingga 5.3 sesuai keperluan, sesuai jumlah sampel yang akan diuji.
   5.5 Setelah semua sampel lisat dipindahkan, ulangi langkah 5.1 sampai 5.3 untuk memindahkan 20 µL lisat NC ke dalam Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk Pengujian *Campylobacter*.
   5.6 Pindahkan **20 µL lisat NC ke dalam Tabung Kontrol Reagen Neogen.** Semprotkan dengan kemiringan tertentu sehingga tidak mengganggu pelet. Campurkan dengan cara menyedot dan menyemprotkan perlahan-lahan sebanyak 5 kali.

6. Masukkan tabung tertutup ke dalam Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen yang bersih dan yang telah didekontaminasi. Tutup dan segel tutup Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen.



7. Periksa dan konfirmasi proses yang telah dikonfigurasi di Perangkat Lunak Deteksi Molekuler Neogen.
8. Klik tombol Start di perangkat lunak dan pilih instrumen yang akan digunakan. Tutup instrumen yang dipilih akan membuka secara otomatis.
9. Masukkan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen ke Instrumen Deteksi Molekuler Neogen dan tutup dengan rapat untuk memulai pengujian. Hasilnya akan ditampilkan setelah 60 menit, meskipun hasil positif dapat terdeteksi lebih cepat.
10. Setelah pengujian selesai, keluarkan Baki Pemuat Kecepatan Deteksi Molekuler Neogen dari Instrumen Deteksi Molekuler Neogen dan buang tabung dengan merendamnya ke dalam larutan pemutih rumah tangga 1-5% (v:v dalam air) selama 1 jam dan jauhkan dari area persiapan pengujian.

PERHATIAN: Untuk meminimalkan risiko munculnya hasil positif palsu karena kontaminasi silang, jangan membuka tabung reagen yang berisi DNA hasil amplifikasi. Ini termasuk Tabung Reagen Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter*, Tabung Kontrol Reagen Neogen, dan Tabung Kontrol Matriks Neogen. Selalu buang tabung reagen bersegel dengan merendamnya dalam 1-5% (v:v dalam air) larutan pemutih rumah tangga selama 1 jam dan jauhkan dari area persiapan pengujian.

Hasil dan Interpretasi

Terdapat suatu algoritme yang menginterpretasikan kurva keluaran cahaya yang dihasilkan dari deteksi amplifikasi asam nukleat. Hasil dianalisis secara otomatis oleh perangkat lunak dan diberi kode warna berdasarkan hasil tersebut. Hasil yang Positif atau Negatif ditentukan dari analisis sejumlah parameter kurva khusus. Hasil yang dianggap Positif dilaporkan secara aktual sedangkan hasil Negatif dan Perlu Pemeriksaan akan ditampilkan setelah pengujian selesai.

Sampel yang dianggap positif harus dikonfirmasi sesuai dengan standar prosedur pengoperasian laboratorium atau dengan mematuhi metode konfirmasi rujukan yang sesuai[1,2], dimulai dengan memindahkan dari pengayaan primer Neogen Larutan/Media Cair pengayaan *Campylobacter* ke piring *Campylobacter* tertentu dengan inkubasi mikroaerofilik, konfirmasi isolat menggunakan metode biokimia, mikroskopik, dan serologis yang sesuai. Untuk perawatan pengayaan yang terbaik, gulung kantong pengayaan setelah mengumpulkan sampel.

CATATAN: Sampel yang negatif tidak akan memberikan hasil pembacaan nihil karena sistem dan reagen amplifikasi Neogen Deteksi Molekuler 2 - untuk pengujian *Campylobacter* memiliki pembacaan unit cahaya relatif (RLU) "latar belakang".

Meskipun jarang terjadi, jika output cahaya tidak normal, algoritme akan memberi label Perlu Pemeriksaan. Neogen menyarankan pengguna mengulang pengujian untuk sampel yang berstatus Perlu Pemeriksaan. Jika hasil tetap menunjukkan Perlu Pemeriksaan, lanjutkan ke pengujian konfirmasi dengan menggunakan metode pilihan Anda atau sebagaimana ditentukan oleh peraturan setempat[1,2].

Apendiks A. Interupsi Protokol: Penyimpanan dan pengujian ulang lisat yang dipanaskan

1. Untuk menyimpan lisat yang dipanaskan, tutup kembali Tabung Larutan Lisis Neogen dengan penutup bersih (lihat bagian Lisis, 4.5)
2. Simpan pada suhu 2 hingga 8°C sampai 72 jam.
3. Siapkan sampel yang disimpan untuk amplifikasi dengan membalik 2-3 kali agar tercampur.
4. Lepas penutup tabung.
5. Letakkan tabung lisat campuran pada Sisipan Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen dan panaskan pada suhu 100 ± 1°C selama 5 ± 1 menit.
6. Keluarkan rak tabung Larutan Lisis Neogen dari Blok Pemanas Deteksi Molekuler Neogen lalu biarkan mendingin di dalam Sisipan Blok Pendingin Deteksi Molekuler Neogen selama minimal 5 menit dan maksimal 10 menit.
7. Lanjutkan protokol pada bagian **Amplifikasi** yang dijelaskan di atas.

Referensi:

1. Microbiology Laboratory Guidebook. U. S. Department of Agriculture (USDA) Food Safety and Inspection Service (FSIS) Microbiology Laboratory guidebook 41.04. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from poultry rinse, sponge and raw product samples. August 1, 2016.
2. ISO 10272-1. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter spp*. Part 1. Detection method.
3. U.S. Food and Drug Administration. Code of Federal Regulations, Title 21, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
4. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
5. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examination.
6. Neogen Installation Qualification (IQ) / Operational Qualification (OQ) Protocols and Instructions for Neogen Molecular Detection System. Hubungi perwakilan Neogen Food Safety Anda untuk mendapatkan kopi dokumen ini.
7. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
8. U. S. Department of Agriculture (USDA). Food Safety and Inspection Service (FSIS) Directive 10, 250.1. *Salmonella* and *Campylobacter* verification program for raw meat and poultry products. September 20, 2013.

Penjelasan Simbol

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
620 Lesher Place Lansing, MI 48912 USA
www.neogen.com

© Neogen Corporation 2024. All rights reserved.
Neogen and Petrifilm are registered trademarks of Neogen Corporation.
FS00881A